

บทบาทของอัตราส่วนซีไอดีต่อไนเตรดต่อความหลากหลาย
ของประชากรจุลินทรีย์ในระบบยูเอเอสบี

นางสาววลัยภรณ์ วุฒิเมธา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2551
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE ROLE OF COD/NITRATE RATIO ON MICROBIAL DIVERSITY IN UASB PROCESS

Miss Walaiporn Vuthimatha

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 2008
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	บทบาทของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตต่อความหลากหลายของ
	ประชากรจุลินทรีย์ในระบบยูเอเอสบี
โดย	นางสาววลัยภรณ์ วุฒิเมธา
สาขาวิชา	วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ลักษณ์ ฟุ้งรัมย์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ ดร. สาโรช บุญยกิจสมบัติ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. บุญสม เลิศหิรัญวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุธา ขาวเขียว)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ลักษณ์ ฟุ้งรัมย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(อาจารย์ ดร. สาโรช บุญยกิจสมบัติ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิชญ รัชฎาวงศ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรัณย์ เตชะเสน)

วลัยภรณ์ วุฒิเมธา: บทบาทของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตต่อความหลากหลายของประชากร
จุลินทรีย์ในระบบยูเอเอสบี (THE ROLE OF COD/NITRATE RATIO ON MICROBIAL
DIVERSITY IN UASB PROCESS) อ. ที่ปรึกษา: ผศ.ดร. วิบูลย์ลักษณ์ ฟิ่งรัมย์,
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: อ.ดร. สาโรช บุญยกิจสมบัติ, 124 หน้า.

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ควบคุมไปกับการศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์
ยูเอเอสบี โดยในการทดลองช่วงแรกทำการทดสอบประสิทธิภาพของระบบและสถานะที่เหมาะสมในการบำบัดไนเตรตในน้ำ
เสียสังเคราะห์ด้วยกระบวนการดีไนตริฟิเคชันภายใต้สภาวะไร้อากาศ ถึงปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลองมีปริมาตรทำงานขนาด 5
ลิตร จำนวน 3 ถัง ทำการทดลองพร้อมกันที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้การควบคุมความเข้มข้นของไนเตรตคงที่เท่ากับ 100 มก./ล.
ความเร็วไหลขึ้นเท่ากับ 0.25 เมตร/ชม. และระยะเวลาพักเก็บน้ำเท่ากับ 24 ชม. ในทุกถังปฏิกรณ์ ทำการแปรค่าอัตราส่วน
ระหว่างซีโอดีต่อไนเตรตไนโตรเจน (COD: Nitrate-N ratio) ในถังปฏิกรณ์ทั้งสามออกเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 2:1 5:1 และ 8:1
โดยคิดเป็นสัดส่วนที่น้อย เพียงพอ และมากเกินไปต่อการเกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันตามทฤษฎีเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน
ผลการทดลองพบว่าถังปฏิกรณ์ทั้งสามมีประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีใกล้เคียงกันคือมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ แต่ประสิทธิภาพ
การบำบัดไนเตรตและไนไตรต์จะเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์เมื่อสัดส่วนดังกล่าวมีค่าสูงขึ้น โดยแสดงค่าเท่ากับ 58.00 96.62 และ
99.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทำการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาพักเก็บน้ำและภาวะบรรทุไนเตรตไนโตรเจนที่มีผลต่อการ
เดินระบบ โดยแปรค่าระยะเวลาพักเก็บน้ำเสียเป็น 3 ระดับคือ 12 8 และ 4 ชม. ผลการศึกษาพบว่าสถานะที่เหมาะสมสำหรับการ
บำบัดไนเตรตในระบบยูเอเอสบีคือ อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตในช่วง 5:1 – 8:1 และระยะเวลาพักเก็บน้ำเสียที่ 4 ชม. ซึ่งแสดง
ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีและไนเตรตได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการศึกษาความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ในถัง
ปฏิกรณ์ที่สภาวะต่างๆ จากการตรวจสอบเบื้องต้นด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าเมื่อดตะกอนมีความแตกต่างกันอย่าง
ชัดเจนทั้งความสมบูรณ์ ลักษณะการจับตัว และกลุ่มจุลินทรีย์ โดยหัวข้อจากถังปฏิกรณ์ทุกอัตราส่วนจะมีการจับตัวเป็นเม็ด
ตะกอนสัจจอีกครึ่งภายหลังสิ้นสุดการเดินระบบ ผลการศึกษากลุ่มจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคการเพิ่มจำนวนในช่วงสายของยีน 16S
rDNA ร่วมกับ PCR-DGGE พบว่าทั้งระยะเวลาพักเก็บและภาวะบรรทุอินทรีย์คาร์บอนและไนเตรตไนโตรเจนมีผลต่อการ
เปลี่ยนแปลงปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์ในระบบโดยจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบในถังปฏิกรณ์คือ *Bacteroidetes*, *Firmicutes* และ
Thermomicrobia ซึ่งมีการกระจายตัวอยู่ในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นและในทุกอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ระยะเวลาพักเก็บ
น้ำ 24 และ 4 ชม. ส่วนจุลินทรีย์กลุ่มย่อยที่พบคือ *Nitrospira*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Deltaproteobacteria*,
Chlorobi, *Betaproteobacteria* และ *OP8* ซึ่งจัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มไร้อากาศทั้งสิ้น

ภาควิชา.....วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม.....ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา.....วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา.....2551.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4770663321: MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEY WORD: UASB/ NITRATE/ COD:NITRATE RATIO/ DENITRIFICATION/ MICROBIAL DIVERSITY

WALAIORN VUTHIMATHA: THE ROLE OF COD/ NITRATE RATIO ON MICROBIL DIVERSITY IN UASB PROCESS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. WIBOONLUK PUNGRASMI, Ph.D.
 THESIS COADVISOR: SAROCH BOONYAKITSOMBUT, Ph.D.124 pp.

This research investigated the effects of COD/Nitrate-N ratio and the diversities of microbial in the Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB). In the first state, three 5-liter UASB reactors were used to study the efficiency and the proper conditions for treating nitrate by denitrification process under anoxic condition at room temperature (25 °C). Nitrate concentration was fixed at 100 mg/l in all reactors. The upflow velocity of 0.25 m/hour and the hydraulic retention time (HRT) of 24 hours were used. The COD/nitrate-N ratios were varied at 2:1, 5:1 and 8:1 (insufficient, sufficient and excess levels for complete denitrification of glucose as carbon source, respectively). The results showed that the COD removal of each test was more than 90%. However, nitrate removal efficiencies were increased (58.00, 96.62 and 99.82%, respectively) when increasing the COD/Nitrate-N ratios. Three HRT conditions were set to investigate at 12, 8 and 4 hours. It was found that the optimum conditions were the COD/Nitrate-N ratio between 5:1 to 8:1 and the HRT of 4 hours, which produced more than 90 % removal of both COD and nitrate. In this experiment, the sludge from all reactors was primarily tested by SEM. The results showed that they all were difference in complexity, floc size and microbial diversities. Seed of all ratios from the reactors indicated floc formation at the end of experiment. Furthermore, result from Denaturing Gradient Gel Electrophoresis of Polymerase Chain Reaction amplified 16S rDNA partial sequence (PCR-DGGE) clarified that HRT and organic loading rate of both carbon and nitrate-nitrogen affected on quantity and type of microorganisms in this system. *Bacteroidetes*, *Firmicutes* and *Thermomicrobia* were dominant group of microorganism which was dispersive in the seed and all COD/Nitrate-N ratios at hydraulic retention time 24 and 4 hours, while *Nitrospira*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Chlorobi*, *Betaproteobacteria* and *OP8* were minor group of microorganism that all they were anaerobic microorganisms.

Department.....Environment Engineering.....	Student's signature.....
Field of study...Environment Engineering.....	Advisor's signature.....
Academic year.....2008.....	Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ลักษณะ ฝั่งรัมย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ ดร.สาโรช บุญยกิจสมบัติ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ซึ่งให้ความรู้ คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ตลอดจนให้การสนับสนุน และช่วยเหลือในด้านต่างๆ

ขอขอบคุณพระคุณอาจารย์ ดร.ตะวัน ลิมปิยากร ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้มอบความรู้ และคำแนะนำในด้านการศึกษากลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบยูเอสบีตลอดระยะเวลาการวิจัย

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำ รวมทั้งตรวจทานวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมทุกท่านที่ได้มอบความรู้ซึ่งเป็นประโยชน์กับตัวผู้วิจัย และทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้

ขอขอบพระคุณศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ในการติดตั้งอุปกรณ์และเดินระบบ

ขอขอบพระคุณ คุณจงกลณี คุณบุหพันธ์ คุณกัมพล รวมทั้งเพื่อนๆและน้องๆ ที่ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ที่ช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ นิสิตปริญญาโท พี่ๆน้องๆที่ศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและของเสียอันตราย และภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำ ให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ด้วยดีตลอดมา

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยอบรมสั่งสอน และเป็นกำลังใจที่สำคัญที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 สารประกอบไนโตรเจนในน้ำ.....	3
2.2 ความสำคัญของไนเตรตและผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม.....	4
2.3 กระบวนการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนในน้ำ.....	5
2.4 การบำบัดไนเตรตในน้ำด้วยกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน.....	6
2.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน.....	8
2.6 ชนิดของแหล่งอินทรีย์คาร์บอนต่อค่า C/N ในกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน.....	12
2.7 ลักษณะทางชีวเคมีของกระบวนการไร้ออกซิเจน.....	13
2.8 ขั้นตอนของปฏิกิริยาชีวเคมีของการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน.....	16
2.9 หลักการทำงานของระบบยูเอเอสบี.....	19
2.10 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของระบบยูเอเอสบี.....	25
2.11 การศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ.....	29
2.12 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	34

บทที่ 3 แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย.....	36
3.1 แผนการทดลอง.....	36
3.2 การเตรียมน้ำเสีย.....	39
3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง.....	40
3.4 การติดตั้งเครื่องมือและหลักการทำงาน.....	42
3.5 จุดเก็บตัวอย่าง.....	43
3.6 พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์.....	44
3.7 ขั้นตอนการวิเคราะห์การวิเคราะห์ความหลากหลาย	
ของกลุ่มจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี.....	44
3.8 ขั้นตอนการวิเคราะห์ 16S rDNA ด้วยวิธี PCR-DGGE.....	48
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล.....	54
4.1 การดำเนินการทดลอง.....	54
4.2 สภาวะแวดล้อมที่เกิดขึ้นภายในถังปฏิกรณ์.....	55
4.3 สมรรถนะของระบบ.....	61
4.4 การศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบยูเอเอสบี.....	70
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	85
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	85
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	86
รายการอ้างอิง.....	87
ภาคผนวก	93
ภาคผนวก ก.....	94
ภาคผนวก ข.....	99
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	124

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงกระบวนการและประสิทธิภาพในการ บำบัดไนโตรเจนแบบต่างๆ.....	7
ตารางที่ 2.2 ข้อดีข้อเสียของระบบยูเอเอสบี.....	21
ตารางที่ 2.3 แสดงค่าความเข้มข้นของอ็อกซิเจนที่กระตุ้นและยับยั้ง กระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน.....	27
ตารางที่ 2.4 แสดงความเข้มข้นของโลหะหนักที่มีผลยับยั้ง 50% ของแบคทีเรียสร้างมีเทน.....	28
ตารางที่ 2.5 แสดงความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยที่มีผลยับยั้ง 50% ของแบคทีเรียสร้างมีเทน.....	28
ตารางที่ 2.6 แสดงผลของความเข้มข้นของแอมโมเนียในโตรเจน ที่มีต่อระบบไร้ออกซิเจน.....	29
ตารางที่ 2.7 ตัวอย่างของ DNA primer ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์แบคทีเรีย โดยวิธี PCR-DGGE.....	32
ตารางที่ 2.8 ตัวอย่างของงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความหลากหลายของแบคทีเรีย ในระบบแอโรบิก/แอนอกซิกโดยวิธี PCR-DGGE.....	33
ตารางที่ 3.1 แสดงแผนการทดลองระบบยูเอเอสบีตามอัตราส่วน ซีโอดีต่อในทรตต่างๆ ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 ชั่วโมง.....	37
ตารางที่ 3.2 แสดงแผนการทดลองระบบยูเอเอสบีที่ทำการแปรผันระยะเวลา พักเก็บน้ำต่างๆ.....	37
ตารางที่ 3.3 สูตรอาหารเสริมสำหรับกระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ.....	40
ตารางที่ 3.4 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ต้องทำการวิเคราะห์ ความถี่ จุดเก็บตัวอย่าง และวิธีวิเคราะห์ในการทดลองช่วงที่ 1, 2 และ 3.....	44
ตารางที่ 3.5 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์.....	45
ตารางที่ 3.6 แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์.....	45
ตารางที่ 3.7 แสดงชุด Primer สำหรับ 16S rDNA ในการทดลอง.....	51
ตารางที่ 4.1 แสดงผลค่า SMA และ NRB ในช่วงระยะเวลาพักเก็บน้ำต่างๆ.....	69

ตารางที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงชนิดของจุลินทรีย์เริ่มต้นและจุลินทรีย์ ในถังปฏิกรณ์ยูเอสบีของอัตราส่วนซีไอดีต่อไนเตรดต่างๆ ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 และ 4 ชม.....	78
ตารางที่ 4.3 ผลการเปรียบเทียบกับลำดับเบสของจุลินทรีย์ที่ได้แยกจาก การทดลองฐานข้อมูลลำดับเบสของจุลินทรีย์ที่มีการ เก็บรวบรวมไว้และการจำแนกกลุ่มจุลินทรีย์.....	80
ตารางที่ 4.4 แสดงการแจกแจงของจำนวนแถบที่เกิดขึ้นใน Phylogenetic tree.....	83
ตารางที่ 4.5 ตัวอย่างผลการศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบยูเอสบี....	84

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
รูปที่ 2.1 แสดงผลของพีเอชต่ออัตราดีเอ็นเอในตรีฟิเคชันสูงสุด.....	9
รูปที่ 2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพดีเอ็นเอในตรีฟิเคชันที่พีเอชต่างกัน.....	9
รูปที่ 2.3 อัตราดีเอ็นเอในตรีฟิเคชันจำเพาะที่อุณหภูมิต่างๆ เมื่อใช้สารอาหารต่างกัน.....	10
รูปที่ 2.4 ปฏิกริยารีดอกซ์ในการบำบัดน้ำเสีย.....	13
รูปที่ 2.5 ลักษณะที่เป็นขั้นตอนของปฏิกริยาไร้ออกซิเจน.....	15
รูปที่ 2.6 แสดงขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ด้วยกระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน.....	17
รูปที่ 2.7 ปฏิกริยาสร้างกรดไขมันระเหยได้สภาวะที่ความดันพาร์เซียล ของไฮโดรเจนสูงและต่ำ.....	18
รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะทั่วไปของถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี.....	20
รูปที่ 2.9 แสดงการเพิ่มขึ้นของปริมาณตะกอนจุลินทรีย์และอัตรา การบรรทุกอินทรีย์ระหว่างขั้นตอนการเกิดตะกอนจุลินทรีย์ในถังยูเอเอสบี.....	23
รูปที่ 2.10 แสดงรูปแบบโครงสร้างของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์.....	23
รูปที่ 2.11 แสดงตัวอย่างของการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์.....	25
รูปที่ 2.12 ไลอะแกรมแสดงการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอที่มี ลำดับเบสต่างกันบนโพลีอะครีลาไมด์เจล.....	31
รูปที่ 3.1 แผนภาพสรุปการทดลองชุดที่ 1 และ 2.....	38
รูปที่ 3.2 แผนภาพสรุปการทดลองชุดที่ 3.....	39
รูปที่ 3.3 แบบแสดงรายละเอียดถึงปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่ใช้ในการทดลอง.....	41
รูปที่ 3.4 แสดงแผนผังการไหลของระบบยูเอเอสบีที่ใช้ในการทดลอง.....	42
รูปที่ 3.5 แสดงรายละเอียดจุดเก็บตัวอย่างในการทดลองนี้.....	43
รูปที่ 3.6 แสดงเครื่องมือต่างๆที่ใช้ในการศึกษาดีเอ็นเอระดับโมเลกุล.....	46
รูปที่ 3.7 แสดงอุปกรณ์และเทคนิคระดับโมเลกุลในการศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์.....	47
รูปที่ 3.8 ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอรวมจากตะกอนด้วย FastDNA SPIN kits.....	49
รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชตลอดการทดลอง.....	57
รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าไออาร์พีตลอดการทดลอง.....	58
รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงภาพต่างตลอดการทดลอง.....	60
รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าซีไอดี ในเทรตและในไทรต และประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีที่อัตราส่วนซีไอดีต่อไนเทรต 2:1 ตลอดการทดลอง.....	63

รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงค่าซีไอดี ในเทรตและไนไทรต์
และประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีที่อัตราส่วนซีไอดีต่อไนเทรต
5:1 ตลอดจนการทดลอง..... 64

รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่าซีไอดีในเทรตและไนไทรต์
และประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดีที่อัตราส่วนซีไอดีต่อไนเทรต
8:1 ตลอดจนการทดลอง..... 65

รูปที่ 4.7 ค่าแอมโมเนียที่อัตราส่วนซีไอดีต่อไนเทรต
2:1 5:1 และ 8:1 ตลอดจนการทดลอง..... 67

รูปที่ 4.8 ค่า SS และ VSS ที่อัตราส่วนซีไอดีต่อไนเทรต
2:1 5:1 และ 8:1 ตลอดจนการทดลอง..... 68

รูปที่ 4.9 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น..... 71

รูปที่ 4.10 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์
จากถังปฏิกรณ์ที่มีค่าซีไอดีต่อไนเทรต 2:1..... 72

รูปที่ 4.11 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์
จากถังปฏิกรณ์ที่มีค่าซีไอดีต่อไนเทรต 5:1..... 73

รูปที่ 4.12 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์
จากถังปฏิกรณ์ที่มีค่าซีไอดีต่อไนเทรต 8:1..... 74

รูปที่ 4.13 การเคลื่อนที่ของแถบดีเอ็นเอบน DGGE ของจุลินทรีย์
ในตัวอย่างตะกอนเริ่มต้นและตัวอย่างจากถังปฏิกรณ์ยูเอสบี
อัตราส่วนซีไอดีต่อไนเทรต 2:1 5:1 และ 8:1 ที่ระยะเวลาพักเก็บ
24 และ 4 ชม. เมื่อใช้ความเข้มข้นอะคริลาไมด์ 8%
และมีความเข้มข้นยูเรียในช่วง 20-60%..... 76

รูปที่ 4.14 จุดแสดงแถบดีเอ็นเอบนเจล DGGE ของจุลินทรีย์ในตัวอย่างตะกอนเม็ด
และตัวอย่างจากถังปฏิกรณ์ยูเอสบีที่คัดเลือกเพื่อนำไปหาลำดับเบส
โดยแต่ละจุดแสดงระบุด้วยลักษณะของ UASB-No.-COD:NO₃⁻ - HRT..... 77

รูปที่ 4.15 ต้นไม้แห่งวิวัฒนาการจากการเปรียบเทียบลำดับเบสของจุลินทรีย์
ที่แยกได้จากถังปฏิกรณ์ยูเอสบีที่สภาวะต่างๆ กับฐานข้อมูลลำดับเบส
เมื่อใช้ความยาวลำดับเบสเท่ากับ 100 bp..... 82

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สารประกอบไนโตรเจนพบได้ในรูปแบบต่างๆคือ ไนโตรเจน แอมโมเนีย ไนไตรต์และไนเตรต ซึ่งสารต่างๆเหล่านี้มีความสำคัญในบรรยากาศและวัฏจักรชีวิตของพืชและสัตว์ แต่ในขณะเดียวกันก็ทำให้เกิดผลเสียได้เช่นกัน ดังเช่นสารประกอบไนเตรตที่มีความสำคัญ ในฐานะเป็นแหล่งไนโตรเจนในดิน แต่เนื่องจากไนเตรตสามารถละลายน้ำได้ จึงมักซึมลงดินหรือถูกชะล้างไปกับน้ำที่ไหลลงสู่แหล่งน้ำต่างๆ ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาการเจริญเติบโตของสาหร่ายและพืชน้ำตลอดจนทำให้เกิดโรคเมทฮีโมโกลบินในเด็กที่มีอายุต่ำกว่า 6 เดือน ที่ได้รับสารประกอบไนเตรต

การกำจัดสารประกอบไนเตรตทางชีวภาพโดยทั่วไป จะใช้กระบวนการไนตริฟิเคชันในการเปลี่ยนสารประกอบไนโตรเจนเป็นไนไตรต์และไนเตรตตามลำดับ จากนั้นใช้กระบวนการดีไนตริฟิเคชันในการเปลี่ยนสารไนเตรตเป็นไนโตรเจนก๊าซ โดยกระบวนการทั้งคู่จะเกิดในสภาวะของการใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนตามลำดับ

ในปัจจุบันการกำจัดไนเตรตในน้ำเสียมักนิยมใช้กระบวนการดีไนตริฟิเคชันที่เกิดในระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ ซึ่งเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศที่นิยมใช้กันมากที่สุด แต่สำหรับงานวิจัยนี้สนใจที่จะศึกษาการกำจัดไนเตรตด้วยปฏิกิริยาดังกล่าวที่เกิดขึ้นในระบบยูเอเอสบี ซึ่งเป็นระบบไร้ออกซิเจนที่มีแบคทีเรียจับตัวกันเป็นเม็ดสามารถบำบัดน้ำเสียได้ในปริมาณภาระบรรทุกอินทรีย์ที่สูงกว่าระบบเอเอสแมก โดยงานวิจัยนี้จะศึกษาถึงอิทธิพลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตและภาระบรรทุกไนเตรตใน ไนโตรเจนที่มีผลต่อการเดินระบบยูเอเอสบี ตลอดจนศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ ประชากรจุลินทรีย์กลุ่มเด่นและการเปลี่ยนแปลงของประชากรจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกันในเม็ดตะกอนยูเอเอสบีที่มีผลในการบำบัดซีโอดีร่วมกับไนเตรตในน้ำเสีย โดยองค์ความรู้ที่ได้รับจะทำให้วิศวกรได้เข้าใจกระบวนการย่อยสลายที่เกิดขึ้นในระบบสามารถบ่งชี้ประสิทธิภาพและประยุกต์ใช้ในการควบคุมระบบยูเอเอสบีให้มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาถึงอัตราส่วนระหว่างซีโอดีต่อไนเตรตในโตรเจนต่อการเกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน
- 1.2.2 เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของภาระบรรทุกไนเตรตในโตรเจนที่มีผลต่อการเดินระบบยูเอเอสบี
- 1.2.3 เพื่อศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในเมล็ดตะกอนยูเอเอสบีที่มีผลในการบำบัดซีโอดีร่วมกับไนเตรตในน้ำเสียที่สภาวะต่างๆ

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการดำเนินการ ณ.อุณหภูมิจากห้อง ที่ห้องปฏิบัติการวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี โดยเป็นการทดลองเปรียบเทียบกันระหว่างถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่มีขนาดและปริมาตรที่เท่ากันจำนวน 3 ชุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ซม. สูง 120 ม. และมีปริมาตร 5000 ลบ.ซม.

หัวเชื้อที่ใช้ในการทดลองเป็นเมล็ดตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ (ยูเอเอสบี) จากบริษัทเสริมสุข จำกัด โรงงานปทุมธานี และน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้น้ำตาลทรายเป็นแหล่งคาร์บอน และโซเดียมไนเตรตเป็นแหล่งไนเตรต

การทดลองทั้งหมดในงานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 3 ชุด โดยในชุดแรกจะทำการแปรค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 3 ค่า ได้แก่ 2:1 5:1 และ 8:1 โดยคงระยะเวลาพักเก็บน้ำเท่ากับ 24 ชม. ในการทดลองชุดที่สองจะแปรผันระยะเวลากักเก็บน้ำในถังปฏิกรณ์ทั้งสาม คือ 12 8 และ 4 ชม. ตามลำดับ จากนั้นเมื่อสิ้นสุดการทดลองทั้งสองแล้ว การทดลองชุดสุดท้ายจะเป็นการนำตัวอย่างตะกอนสลัดจ์ที่เก็บจากการทดลองดังกล่าวมาทำการวิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์โดยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมศาสตร์

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารประกอบไนโตรเจนในน้ำ

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญสำหรับโปรตีนและกรดนิวคลีอิกในเซลล์จุลชีพและพืช รวมทั้งสัตว์ ไนโตรเจนจึงมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตทุกรูปแบบ แม้ว่าไนโตรเจนจะมีมากถึงร้อยละ 79 ในบรรยากาศ แต่ไนโตรเจนกลับเป็นธาตุที่มีอยู่อย่างจำกัดในดินและในน้ำ เนื่องจากไนโตรเจนเป็นธาตุที่คงตัวและเปลี่ยนรูปได้ยาก ยกเว้นบางกรณี เช่น ฟ้าผ่า หรือมีอุณหภูมิที่สูง และมีความดันสูง ทำให้จุลินทรีย์จะมีบทบาทมากในการเปลี่ยนรูปไนโตรเจนเป็นแอมโมเนีย และแอมโมเนียจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นไนไตรต์และไนเตรต ซึ่งจะถูกนำไปใช้ต่อไปโดยพืชและสัตว์

สารประกอบไนโตรเจนในแหล่งน้ำที่พบทั่วไปมี 4 ชนิดคือ

2.1.1 สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน (Organic-nitrogen compounds)

เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ในโครงสร้างของพืชและสัตว์ สิ่งขับถ่ายจากสัตว์ และสารจากการย่อยสลายของสิ่งมีชีวิต ได้แก่ โปรตีน คลอโรฟิลล์ กรดอะมิโน กรดยูริก และยูเรีย เป็นต้น

2.1.2 สารประกอบแอมโมเนียไนโตรเจน (Ammonia-nitrogen compounds)

เป็นสารไนโตรเจนที่อยู่ในรูปแอมโมเนีย หรือสารประกอบแอมโมเนีย ซึ่งส่วนใหญ่จะพบในรูปของแอมโมเนีย (NH_3) และแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) ซึ่งเกิดจากกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนรูปของสารประกอบไนโตรเจนจากอินทรีย์สารเป็นอนินทรีย์สาร

2.1.3 สารประกอบไนไตรต์ (Nitrite-nitrogen compounds)

เป็นสารประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ไม่สมบูรณ์ของสารประกอบไนโตรเจนอื่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการไนตริฟิเคชัน (Nitrification) โดยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินและน้ำ

2.1.4 สารประกอบไนเตรต (Nitrate-nitrogen compounds)

เป็นสารประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สมบูรณ์ของสารประกอบไนโตรเจนอื่น และหากมีออกซิเจนในปริมาณมากพอแล้ว สารประกอบไนเตรตจะเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่มีความเสถียรมากที่สุด และยังเป็นสารอาหารที่สำคัญของพืชน้ำและสาหร่ายอีกด้วย

2.2 ความสำคัญของไนเตรตและผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

ไนเตรตเป็นสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน ซึ่งมีสูตรโครงสร้าง คือ NO_3^- แต่เนื่องจากไนเตรตสามารถละลายน้ำได้ดี จึงมักซึมลงดินหรือถูกละลายไปกับน้ำที่ไหลลงสู่ทะเล ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาดังนี้

2.2.1 โรคเมทฮีโมโกลบินีเมีย (Methaemoglobinaemia)

ไนเตรตเป็นสาเหตุของโรคเมทฮีโมโกลบินีเมีย หรือ Blue babies ในเด็กทารก โดยเด็กทารกจะมีโอกาสเป็นโรคนี้นี้สูงเนื่องจากมีค่าพีเอชในกระเพาะอาหารสูงกว่าทำให้เกิดการรีดักชันของไนเตรตไปเป็นไนไตรต์โดยแบคทีเรียกลุ่มรีดิวซ์ไนเตรต (nitrate-reducing bacteria) ได้มากกว่า (Bitton, 1994) และอาจเสียชีวิตได้หากร้อยละ 45-65 ของฮีโมโกลบินถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นเมทฮีโมโกลบิน ด้วยเหตุนี้องค์การอนามัยโลก (WHO) จึงกำหนดค่ามาตรฐานของไนเตรตในน้ำดื่มไว้ไม่เกิน 10 มก./ไนเตรต-ไนโตรเจน/ล. (ธีระ เกรอต, 2539)

2.2.2 ยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication)

ในแหล่งน้ำที่มีปริมาณไนเตรตมากจะทำให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายและพืชน้ำสูงขึ้น ทำให้มีความต้องการออกซิเจนมากขึ้น โดยเฉพาะในเวลากลางคืน ซึ่งจะมีผลต่อปลาและสิ่งมีชีวิตในน้ำชนิดอื่นๆ รวมถึงส่งผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์จากแหล่งน้ำสำหรับบริโภคหรือการพักผ่อน เนื่องจากแบคทีเรียจำพวกไนตริฟายเออร์ (Nitrifier) ต้องการออกซิเจนถึง 4.6 มิลลิกรัมในการออกซิไดซ์แอมโมเนียไนโตรเจน 1 มิลลิกรัม ซึ่งเรียกว่า Nitrogenous oxygen demand (NOD) ของแหล่งน้ำ (Bitton, 1994)

2.3 กระบวนการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนในน้ำ (สมเพลิน คำศรี, 2542)

กระบวนการบำบัดสารประกอบไนโตรเจนในน้ำเสียสามารถทำได้หลายวิธีทั้งวิธีทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ซึ่งให้ผลและประสิทธิภาพการบำบัดต่างกันดังแสดงสรุปในตารางที่ 2.1 ในที่นี้จะกล่าวโดยพอสังเขปเฉพาะบางวิธีดังนี้

2.3.1 วิธีทางกายภาพ เช่น

2.3.1.1 การใช้อากาศเป่าไล่เพื่อบำบัดก๊าซระเหยง่าย (Air Stripping) เช่น ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ และแอมโมเนีย เป็นกระบวนการที่เปลี่ยนสารประกอบในรูปของเหลวให้เป็นก๊าซเท่านั้น ซึ่งเหมาะสำหรับน้ำเสียจากอุตสาหกรรมที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียสูง

2.3.1.2 กระบวนการเยื่อแผ่น (Membrane Process) เช่น Electrodialysis Reverse Osmosis และ Ultrafiltration ปัจจุบันกระบวนการเหล่านี้ยังมีข้อจำกัดในการใช้งานอยู่มาก

2.3.2 วิธีทางเคมี เช่น

2.3.2.1 การเติมคลอรีน (Break-Point Chlorination) เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอมโมเนียและเปลี่ยนรูปเป็นก๊าซไนโตรเจนปล่อยสู่บรรยากาศในทางปฏิบัติต้องใช้คลอรีน 9-10 มก./ลิตร ต่อแอมโมเนีย 1 มก./ลิตร ซึ่งมีข้อดีคือ ถ้าใช้คลอรีนเพียงพอจะลดปริมาณแอมโมเนียหมดได้ (0 มก./ลิตร) แต่ข้อเสียคือไม่สามารถบำบัดไนไตรต์ ไนเตรต และสารอินทรีย์ไนโตรเจนได้

2.3.2.2 การตกตะกอนเคมี เป็นการตกตะกอนสารประกอบที่อยู่ในรูปสารละลายด้วยสารเคมีแล้วแยกตะกอนออกไป วิธีนี้มีค่าใช้จ่ายสูงและบำบัดได้เฉพาะไนโตรเจนที่อยู่ในรูปโปรตีนและแอมโมเนียเท่านั้น

2.3.2.3 การแลกเปลี่ยนไอออน (Ion Exchange) โดยใช้ไอออนที่มีเรซินตรงข้ามจับกับไอออนที่เราต้องการบำบัด ซึ่งต้องมีการฟื้นฟูสภาพเรซินเมื่อจับประจุเต็มและการจัดการสารที่ใช้ฟื้นฟูสภาพเรซิน (Regenerant) ปัจจุบันได้มีการทดลองใช้สำหรับการบำบัดไนเตรตในน้ำบาดาลซึ่งได้ผลดีเช่นเดียวกับกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน

2.3.3 วิธีทางชีวภาพ เช่น

2.3.3.1 บ่อออกซิเดชัน โดยการใช้ออกซิเจนทำให้เกิดปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน คือการเปลี่ยนรูปแอมโมเนียเป็นไนเตรต และในส่วนที่ลึกลงไปในบ่อจะอยู่ในสภาวะไร้อากาศทำให้เกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน คือการเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนโตรเจนก๊าซออกสู่บรรยากาศ

2.3.3.2 การใช้สาหร่าย คือกระบวนการธรรมชาติที่ให้สาหร่ายใช้ในโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโต จากนั้นจึงแยกสาหร่ายไปบำบัดอีกครั้ง

2.3.3.3 กระบวนการไนตริฟิเคชันและดีไนตริฟิเคชัน โดยกระบวนการไนตริฟิเคชัน เป็นกลไกการเปลี่ยนรูปของแอมโมเนียเป็นไนเตรต แบคทีเรียจะดึงพลังงาน เพื่อใช้สำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์จากการออกซิเดชันของสารประกอบไนโตรเจน ซึ่งเป็นการทำงานของแบคทีเรียชนิด ออโตโทรฟ (Autotrop) 2 กลุ่มคือ Nitrosomonas ที่เปลี่ยนแอมโมเนียเป็นไนไตรต์ และ Nitrobacter ที่เปลี่ยนไนไตรต์เป็นไนเตรต ส่วนกระบวนการดีไนตริฟิเคชันจะเกิดในสภาวะไร้อากาศและเป็นการทำงานของแบคทีเรียชนิด ออโตโทรฟ หรือ เฮเทอโรโทรฟ โดยที่กระบวนการดีไนตริฟิเคชันได้รับความสนใจเนื่องจากเป็นกระบวนการที่ใช้บำบัดไนเตรตในน้ำใต้ดินและในน้ำเสียโดยการเปลี่ยนรูปไนเตรตให้อยู่ในรูปของก๊าซไนโตรเจน ในขณะที่กระบวนการไนตริฟิเคชันเป็นเพียงการเปลี่ยนรูปแอมโมเนียให้อยู่ในรูปของไนเตรตเท่านั้น

2.4 การบำบัดไนเตรตในน้ำด้วยกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน (Denitrification)

กระบวนการดีไนตริฟิเคชันคือ การรีดักชันของไนเตรตใน ไตรเจน โดยไนเตรตจะทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย สำหรับการหายใจของจุลชีพในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เรียกว่า การหายใจแบบแอนแอโรบิก โดยเป็นแบคทีเรียในกลุ่มแฟคัลเททีฟ (Facultative anaerobe) ได้แก่ *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Hypomicrobium*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Paracoccus*, *Propionibacterium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum* และ *Vibrio* เป็นต้น (Parker และคณะ, 1975; Christensen และ Harremoos, 1977; Payne, 1981 อ้างถึงใน ชีวะ เกรออด, 2539) เกือบทั้งหมดของแบคทีเรียพวกนี้สามารถใช้ออกซิเจนเช่นเดียวกับไนเตรต และบางชนิดสามารถทำการหมักได้เมื่อไม่มีไนเตรตหรือออกซิเจนภายใต้สภาวะออโตโทรฟิเคชันดีไนตริฟิเคชัน โดยแบคทีเรียจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์หรือไบคาร์บอเนตเป็นแหล่งคาร์บอนแทนคาร์บอนอินทรีย์ นอกจากนี้แบคทีเรียหลายชนิดในกลุ่มเหล่านี้ยังสามารถพบได้ในระบบบำบัดน้ำเสียทั่วไป ดังนั้น จึงทำให้การสร้างกลุ่มดีไนตริไฟอิงเกิดได้ค่อนข้างง่าย

ตารางที่ 2.1 แสดงสรุปกระบวนการและประสิทธิภาพในการบำบัดไนโตรเจนแบบต่างๆ (Tchobanoglous และคณะ, 1991 อ้างถึงใน สมเพลิน คำศรี, 2542)

กระบวนการบำบัด	สารประกอบไนโตรเจน			% การบำบัดทั้งหมด**
	Organic-N	$\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$	$\text{NO}_3^- \text{-N}$	
1.การบำบัดแบบเดิม				
ขั้นต้น	บำบัดได้ 10-20%	ไม่มีผล	ไม่มีผล	5-10
ขั้นที่สอง	$\text{Urea} \rightarrow \text{NH}_3\text{-NH}_4^+$	บำบัดได้ <10%	มีผลเล็กน้อย	10-30
2. วิธีทางชีวภาพ				
Bacterial Assimilation	ไม่มีผล	บำบัดได้ 40-70%	บำบัดได้เล็กน้อย	30-70
Denitrification	ไม่มีผล	ไม่มีผล	บำบัดได้ 80-90%	70-95
สาหร่าย	มีบางส่วนเปลี่ยนเป็น $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$	เปลี่ยนเป็นเซลล์	เปลี่ยนเป็นเซลล์	50-80
Nitrification	มีผลจำกัด	เปลี่ยนเป็นไนเตรต	ไม่มีผล	5-20
บ่อออกซิเดชัน	มีบางส่วนเปลี่ยนเป็น $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$	ส่วนหนึ่งถูกบำบัดโดย Stripping	บางส่วนถูกบำบัดโดย Nitrification-Denitrification	20-90
3.วิธีทางเคมี				
Break-Point Chlorination	ไม่แน่นอน	บำบัดได้ 90-100%	ไม่มีผล	5-20
การตกตะกอนเคมี	บำบัดได้ 50-70%	มีผลเล็กน้อย	มีผลเล็กน้อย	20-30
การดูดซับด้วยคาร์บอน	บำบัดได้ 30-50%	มีผลเล็กน้อย	มีผลเล็กน้อย	10-20
การแลกเปลี่ยนไอออนสำหรับแอมโมเนีย	ไม่แน่นอน	บำบัดได้ 80-97%	ไม่มีผล	70-90
การแลกเปลี่ยนไอออนสำหรับไนเตรต	มีผลเล็กน้อย	มีผลเล็กน้อย	บำบัดได้ 75-90%	70-90
4.วิธีทางกายภาพ				
การกรอง	บำบัดได้ 30-90% ของส่วนที่ไม่ละลาย	มีผลเล็กน้อย	มีผลเล็กน้อย	20-40
Air Stripping	ไม่มีผล	บำบัดได้ 60-95%	ไม่มีผล	50-90
Electrodialysis	บำบัดได้ 100% ของส่วนที่ไม่ละลาย	บำบัดได้ 30-50%	บำบัดได้ 30-50%	40-50
Reverse Osmosis	บำบัดได้ 60-90%	บำบัดได้ 60-90%	บำบัดได้ 60-90%	80-90

* แอมโมเนียไนโตรเจน ประกอบด้วย NH_3 และ NH_4^+ ถ้า pH ต่ำจะอยู่ในรูป NH_4^+ ถ้า pH สูงจะอยู่ในรูป NH_3

** คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การบำบัดไนโตรเจนทุกรูปที่เข้ากระบวนการ

ระบบเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการรีดักชันของไนเตรตมีอยู่สองแบบคือ

2.4.1 วิธีแอสสิมิเลชัน (Assimilatory denitrification)

ในวิธีนี้ไนเตรตจะถูกดีไนตริฟายด์และลดรูปไปเป็นแอมโมเนียมด้วยเอนไซม์ไนเตรตรีดักเทสหลายชนิด ก่อนจะถูกจุลินทรีย์นำไปใช้ในการสังเคราะห์หรือสร้างเซลล์ ขึ้นตอนนี้จึงเรียกว่าดีไนตริฟิเคชันแบบแอสสิมิเลชัน

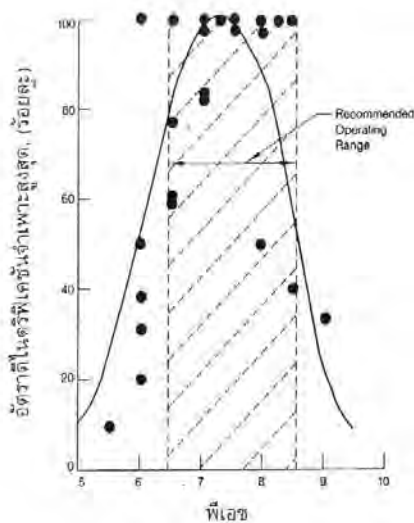
2.4.2 วิธีดิสสิมิเลชัน (Dissimilatory denitrification)

ในกระบวนการดีไนตริฟิเคชันแบบนี้ จุลินทรีย์ดีไนตริฟายเออร์ซึ่งเป็นที่ตั้งชนิดเฮเทอโรโทรฟและออโตโทรฟเหมือนกับในขั้นตอนไนตริฟิเคชัน แต่ต่างกันตรงที่ภาวะนี้ต้องเป็นแบบแอนอกซิก (Anoxic) คือมีไนเตรตแต่ไม่มีออกซิเจนอิสระ และในขั้นตอนนี้จุลินทรีย์ชนิดเฮเทอโรโทรฟจะมีบทบาทมากกว่าออโตโทรฟอย่างมาก แต่เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มนี้ต้องการสารอินทรีย์คาร์บอนเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและใช้ในเทรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการเติมสารอินทรีย์คาร์บอนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย เพื่อใช้ในการลดรูปสารประกอบไนโตรเจนให้เป็นไนโตรเจนก๊าซ ซึ่งไนโตรเจนก๊าซที่เกิดขึ้นจะละลายน้ำได้น้อยมาก ทำให้สามารถขับออกจากมวลของน้ำได้ง่าย

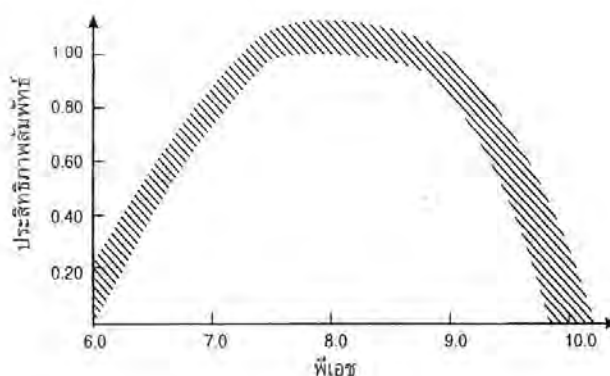
2.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน

2.5.1 พีเอช

ในกระบวนการดีไนตริฟิเคชันจะมีการผลิต 1 สมมูลของสภาพต่างต่อ 1 สมมูลของไนเตรตที่ลดลงมีผลทำให้ค่าพีเอชเพิ่มขึ้น (Delwiche, 1981) ดังนั้นพีเอชที่เหมาะสมสำหรับดีไนตริฟายอิงแบคทีเรียคือ 6.5-8.5 (ดังรูปที่ 2.1) แต่ในปี 1997 Henze และคณะ (อ้างถึงใน ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544) ระบุว่าช่วงพีเอชที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการนี้คือ 7-9 (ดังรูปที่ 2.2) โดยค่าถ้าพีเอชลดลงต่ำ เช่นต่ำกว่า 7 จะเกิดการสะสมไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ซึ่งเป็นผลสุดท้ายของกระบวนการดีไนตริฟิเคชันแทนที่จะเป็นก๊าซไนโตรเจน ซึ่งผลเสียของก๊าซไนตรัสออกไซด์คือเป็นภัยต่อสิ่งแวดล้อมโดยรวม แต่ถ้าพีเอชค่อนข้างไปทางค่าที่เป็นค่าไนตรัสออกไซด์จะถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซไนโตรเจนได้ดี (Bremner และ Shaw, 1958, Nommick, 1956, Wilij และ Delwiche, 1954 อ้างถึงใน ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544) ส่วนก๊าซไนตริกออกไซด์ (NO) ซึ่งเป็นก๊าซพิษชนิดรุนแรงมักไม่เกิดขึ้นในระบบบำบัดน้ำเสียจริง (Pichinoty และคณะ, 1977 อ้างถึงใน ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544)



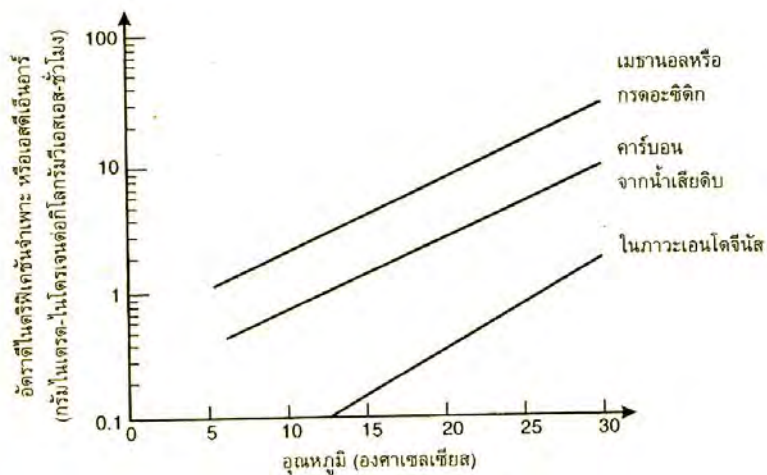
รูปที่ 2.1 แสดงผลของพีเอชต่ออัตราตีไนไตรฟิเคชันสูงสุด (WEF, 1998b อ้างถึงใน
ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544)



รูปที่ 2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพฟลายน์พาร์ทไนไตรฟิเคชันที่พีเอชต่างกัน (HenZen และคณะ, 1997
อ้างถึงใน ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544)

2.5.2 อุณหภูมิ

ดีไนไตรฟายเออร์มีความไวต่ออุณหภูมิ และแม้ว่าจะโตได้ดีที่อุณหภูมิในช่วง 5-25 องศาเซลเซียส (WEF, 1998a อ้างถึงใน ธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544) แต่ก็ทำงานได้ดีกว่าเมื่ออุณหภูมิเท่ากับหรือมากกว่า 20 องศาเซลเซียส (ดังรูปที่ 2.3) ซึ่งอัตราสูงสุดของดีไนไตรฟิเคชันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิด้วย โดยมีค่าเพิ่มขึ้นประมาณหนึ่งเท่าทุกๆ 10 องศาเซลเซียสที่เพิ่มขึ้นในช่วง 5-25 องศาเซลเซียส



รูปที่ 2.3 อัตราดีไนโตรเจนที่เคชันจำเพาะอุณหภูมิต่างๆ เมื่อใช้สารอาหารต่างกัน (Henzen และคณะ, 1997 อ้างถึงใน ชงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544)

2.5.3 ความเข้มข้นของไนเตรต

ไนเตรตถูกใช้เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในปฏิกิริยาดีไนโตริฟิเคชัน ดังนั้นไนเตรตจึงมีผลกระทบต่ออัตราการเกิดและอัตราเร็วของปฏิกิริยา โดยจะเกิดขึ้นในอัตราเร็วสูงสุดเมื่อมีความเข้มข้นของไนเตรตอยู่ในระดับสูงอย่างเกินพอ (มันสิน ตันทุลเวศม์, 2538)

2.5.4 ออกซิเจน

ปฏิกิริยารีดอกซ์ของสารอาหารในเซลล์ เมื่อมีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน จะให้พลังงานสูงกว่าเมื่อมีไนเตรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ดังนั้นหากมีออกซิเจนคู่กับไนเตรตแบคทีเรียจะเลือกใช้ออกซิเจนก่อนการใช้ไนเตรต ทำให้สิ้นเปลืองคาร์บอนอินทรีย์ไปจนอาจเหลือไม่เพียงพอสำหรับกระบวนการดีไนโตริฟิเคชันที่สมบูรณ์ ซึ่งค่าออกซิเจนละลายน้ำหรือค่าดีไอเมื่อมีค่าสูงกว่า 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสามารถยับยั้งกระบวนการดีไนโตริฟิเคชันของ *Pseudomonas* (Skerman และ MacRac, 1972; Terai และ Mori, 1975 อ้างถึงใน ชงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544) และของแอกติเวตเต็ดสลัดจ์ได้ (Dawsen และ Murphy, 1972 อ้างถึงใน ชงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544) ซึ่งค่าดีไอที่กล่าวถึงนี้คือค่าดีไอในมวลของน้ำ ไม่ใช่ในตะกอนจุลินทรีย์ แต่ถ้าค่าดีไอลดลงเมื่อผ่านเข้าไปในตะกอนจุลินทรีย์และลดลงจนเกิดภาวะแอนอกซิกในตะกอนจุลินทรีย์กระบวนการดีไนโตริฟิเคชันก็สามารถเกิดขึ้นได้โดยไม่ถูกยับยั้งจากออกซิเจนในน้ำ

2.5.5 ไนไตรต์

ไนไตรต์ในรูปของกรดไนตริก (HNO_2) อีสระ กล่าวคือ ไม่แตกตัวเป็นไอออน สามารถยับยั้งดีไนตริฟิเคชันได้ที่มีความเข้มข้นเพียง 0.13 มก./ล. แต่ที่ความเข้มข้นนี้และพีเอช ในช่วง 6-8 จะเทียบเท่าเป็น ไนไตรต์ในรูปแตกตัวเป็นไอออนถึง 100 มก. ไนไตรต์/ล. ทำให้ผลกระทบของไนไตรต์ต่อดีไนตริฟายอิงแบคทีเรียจึงมีไม่มากในการปฏิบัติงานภาคสนามจริง แต่ถ้ามีสารพิษอื่นๆ มาทำให้ไนโตรแบคทีเรียไม่ทำงานหรือทำงานช้าลง ก็อาจมีไนไตรต์สะสมมากขึ้นจนเป็นอันตรายต่อระบบบำบัดน้ำเสียได้

2.5.6 ค่าศักย์ออกซิเดชัน-รีดักชัน (ORP)

ค่าศักย์ออกซิเดชัน-รีดักชัน (ORP) เป็นปริมาณความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เกิดจากการถ่ายเทอิเล็กตรอนในน้ำ ค่า ORP ที่วัดได้อาจเป็นบวกหรือลบก็ได้ โดยทั่วไปจะวัดค่า ORP ได้ค่าบวกในน้ำที่มีออกซิเจนหรือไนเตรต และวัดค่า ORP ได้ค่าลบในน้ำเสียที่ปราศจากออกซิเจน เช่น ถ้าวัดค่า ORP เป็นค่าบวกมากๆ เช่น +300 มิลลิโวลต์ แสดงว่าสารละลายนี้สามารถรับอิเล็กตรอนได้เป็นอย่างดี เช่น มีออกซิเจนละลายน้ำ เป็นต้น แต่ถ้าวัดค่า ORP ได้ค่าลบ เช่น -300 มิลลิโวลต์ แสดงว่าสารละลายมีความสามารถในการรับอิเล็กตรอนได้น้อย หรือมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนได้ดี เป็นต้น

เนื่องจากปฏิกิริยาในสารเคมีเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน ปฏิกิริยาแต่ละประเภทจึงแสดงค่า ORP ประจำตัวออกมาแตกต่างกัน เช่น ปฏิกิริยาแอโรบิกออกซิเดชันจะมีค่า ORP เป็น +300 มิลลิโวลต์ ปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันมีค่า ORP เป็น +100 มิลลิโวลต์ ปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันมีค่า ORP เป็นศูนย์ และในการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจนจะมีค่า ORP แบ่งออกเป็น 2 ช่วง โดยช่วงการสร้างกรดอินทรีย์มีค่า ORP เป็น -300 มิลลิโวลต์ และการสร้างมีเทนมีค่า ORP เป็น -500 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ

2.5.7 อัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน

ในกระบวนการดีไนตริฟิเคชันแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นเฮเทอโรโทรฟที่จำเป็นต้องใช้คาร์บอนเป็นองค์ประกอบหรือเป็นแหล่งพลังงานในการทำงาน อัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนจึงมีความสำคัญต่อกระบวนการนี้ โดยทางทฤษฎีแล้วอัตราส่วนนี้เท่ากับ 5-10 สำหรับน้ำเสียยุโรปหรืออเมริกา ในทางปฏิบัติแล้วอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนควรเท่ากับ 3-7 เป็นอย่างน้อย โดยวิศวกรมักให้ความสนใจเป็นพิเศษกับการใช้สารอินทรีย์ในสลัดจ์และน้ำเสียโดยเฉพาะอย่างยิ่งจากโรงงานผลิตสุราหรือเบียร์ เนื่องจากค่าใช้จ่ายไม่สูงนัก หรืออาจใช้เมธานอลหรือกรดอะซิติกเป็นแหล่งคาร์บอนเสริมจากภายนอก อนึ่งแม้ว่าค่าเฉลี่ยของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนจะอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ก็ตาม แต่อัตรส่วนนี้มีค่าไม่แน่นอนตลอดเวลา โดยสามารถแปรผันตามเวลาใน

แต่ละวันหรือตามวันในแต่ละสัปดาห์ ซึ่งทำให้น้ำทิ้งไม่ได้มาตรฐานในบางขณะได้ ดังนั้นหากต้องการผลิตน้ำทิ้งให้มีคุณภาพดีตลอดเวลา ก็จำเป็นต้องมีการเติมสารอาหารแหล่งคาร์บอนจากภายนอกด้วย (Lie และ Wilander, 1994; Isaacs, 1994 อ้างถึงในธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2544)

2.6 ชนิดของแหล่งอินทรีย์คาร์บอนต่อค่า C/N ในกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน

(กรรณิกา ศรีปัญญา, 2545)

สารอินทรีย์คาร์บอนที่ใช้ในกระบวนการดีไนตริฟิเคชันเพื่อเป็นแหล่งให้อิเล็กตรอนนั้นมาจากหลายแหล่ง เช่น เมทานอล เอทานอล และกลูโคส เป็นต้น ซึ่งการใช้แหล่งอินทรีย์คาร์บอนที่แตกต่างกันจะมีผลให้ค่า C/N สำหรับกระบวนการดีไนตริฟิเคชันแตกต่างกันด้วย ดังตัวอย่างสมการของกระบวนการดีไนตริฟิเคชันที่ใช้แหล่งคาร์บอนเป็น เมทานอล และกลูโคส ในหัวข้อดังต่อไปนี้

2.6.1 เมื่อใช้เมทานอลเป็นแหล่งคาร์บอน กระบวนการดีไนตริฟิเคชันจะมีสองขั้นตอนดังแสดงในสมการที่ (1) (McCarty และคณะ, 1969)



จากสมการที่ (1) จะได้ว่าเมทานอลที่ต้องใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเท่ากับ 2.47 มิลลิกรัมเมทานอล/มิลลิกรัมไนเตรตไนโตรเจน หรือ C/N เท่ากับ 2.47

2.6.2 เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนกระบวนการดีไนตริฟิเคชันสามารถแดงได้ดังสมการที่ (2)

สำหรับกลูโคสนี้ ถ้าสูตรโมเลกุลของเซลล์จุลินทรีย์เป็น $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$ (ศิริวัฒน์ กุเจริญ ไพบูลย์, 2544) นำสมการการใช้เมทานอลเป็นแหล่งคาร์บอน ที่กล่าวโดย (McCarty และคณะ, 1969) และกล่าวมาแล้วข้างต้นในสมการที่ (1) มาเปลี่ยนแหล่งคาร์บอนจากเมทานอลเป็นกลูโคส จะได้สมการที่มีการสังเคราะห์เซลล์ดังสมการ ที่ (2)

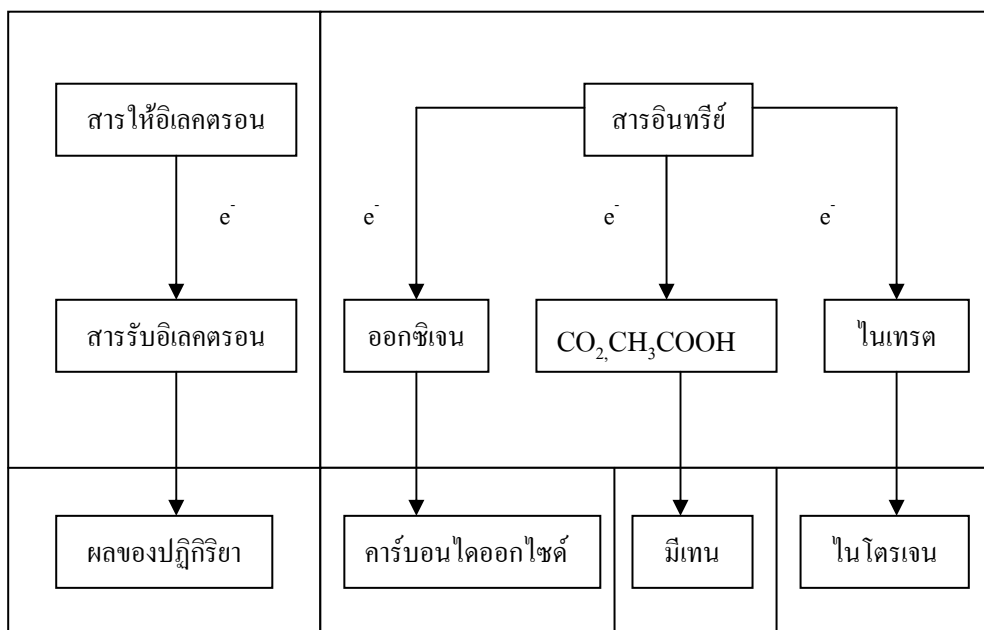


ในกรณีนี้สามารถคำนวณได้ว่ากลูโคสที่ต้องใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ในการบำบัดไนเตรตไนโตรเจน มีค่าเท่ากับ 4.29 มิลลิกรัมกลูโคส/มิลลิกรัมไนเตรตไนโตรเจน

จากสมการดังกล่าวข้างต้นเมื่อคิดเป็นอัตราส่วน C/N จากมิลลิกรัมเมฆานอล/มิลลิกรัมไนเตรตในโตรเจน และมิลลิกรัมกลูโคส/มิลลิกรัมไนเตรตในโตรเจน แสดงว่าแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันจะมีผลทำให้ค่า C/N ที่ใช้ในกระบวนการดีไนตริฟิเคชันแตกต่างกันด้วย เนื่องจากความแตกต่างของสูตร โครงสร้างของแหล่งคาร์บอนเหล่านี้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสัดส่วน C/N สำหรับการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชันจึงขึ้นกับชนิดของแหล่งคาร์บอนที่ใช้

2.7 ลักษณะทางชีวเคมีของกระบวนการไร้ออกซิเจน

ปฏิกิริยาการบำบัดน้ำเสียไม่ว่าจะเป็นแบบใช้ออกซิเจนหรือไม่ใช้ออกซิเจน ล้วนแต่มีกลไกพื้นฐานร่วมกัน กล่าวคือทั้งคู่เป็นปฏิกิริยาเคมีแบบออกซิเดชัน-รีดักชันหรือปฏิกิริยารีดอกซ์ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนเกิดขึ้นระหว่างสารให้และสารรับอิเล็กตรอน ซึ่งโดยส่วนใหญ่สารอินทรีย์หรือมลสารในน้ำเสียจะเป็นสารให้อิเล็กตรอนเนื่องจากมีพลังงานอยู่ในตัวสูง และสารอย่างอื่นที่อยู่ในน้ำเป็นสารรับอิเล็กตรอน ความแตกต่างระหว่างปฏิกิริยาแบบใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนจะอยู่ที่ประเภทของสารรับอิเล็กตรอน โดยถ้าสารรับอิเล็กตรอนเป็นออกซิเจน ปฏิกิริยาจะเป็นแบบใช้ออกซิเจนหรือแอโรบิก ถ้าสารรับอิเล็กตรอนไม่ใช้ออกซิเจน แต่เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ในเตรตหรือซัลเฟต ปฏิกิริยาจะเป็นแบบไร้ออกซิเจน ดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยารีดอกซ์ในการบำบัดน้ำเสีย (มันลีน ตันทูลเวสม์, 2542)

โดยกระบวนการแบบไร้ออกซิเจนจะมีลักษณะเฉพาะตัว ซึ่งแตกต่างจากกระบวนการแบบใช้ออกซิเจนหลายประการ ดังนี้

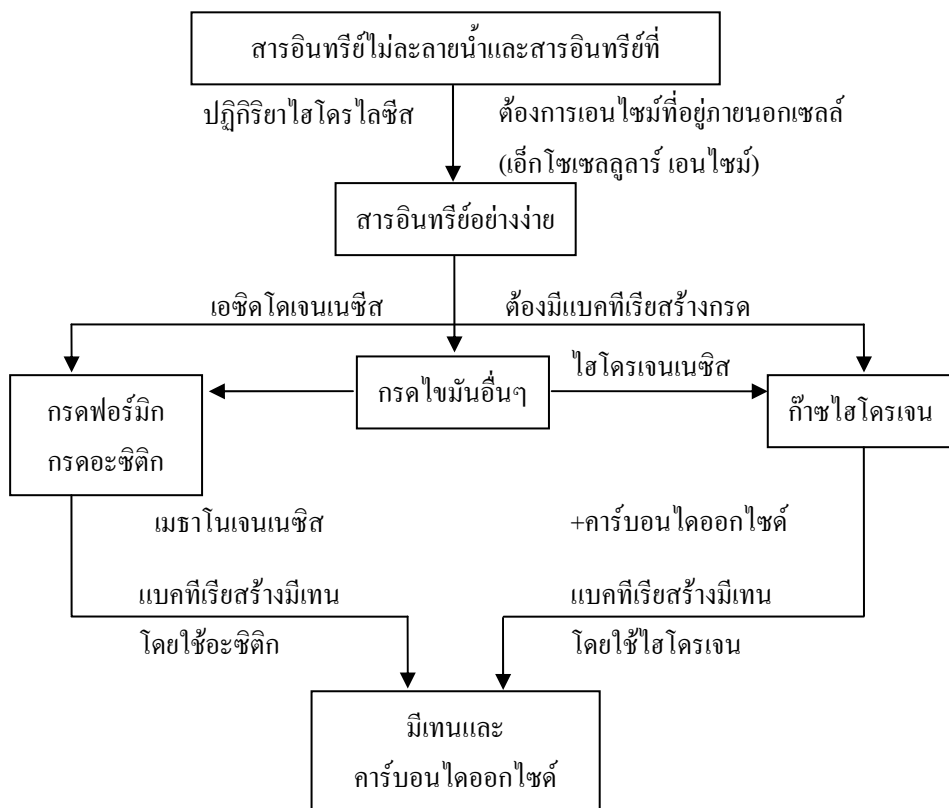
- ไม่มีออกซิเจนอิสระ ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนเข้ามาเกี่ยวข้องในปฏิกิริยา
- ได้ก๊าซมีเทนเป็นผลสุดท้ายของปฏิกิริยา
- มีอัตราการสร้างตะกอนจุลินทรีย์ที่ต่ำมาก
- ต้องการไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่ำ
- ไม่สามารถลดความเข้มข้นของสารอินทรีย์ให้เหลือต่ำมากได้จึงต้องบำบัดด้วย

กระบวนการแบบใช้ออกซิเจนเสมอ

2.7.1 ลักษณะทั่วไปของกระบวนการแบบไร้ออกซิเจน

ภายในถังปฏิกิริยาแบบไร้ออกซิเจน สารประกอบอินทรีย์ขนาดเล็กจะถูกส่งผ่านเข้าเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรียได้โดยตรง ส่วนสารประกอบอินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ให้มีขนาดเล็กจนสามารถถูกส่งผ่านเข้าไปในเซลล์แบคทีเรียได้ เมื่อสารอินทรีย์อยู่ในเซลล์จะถูกออกซิไดซ์หลายครั้ง จนกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และมีเทน ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการลดขนาดของสารอินทรีย์เพื่อให้สามารถนำไปในเซลล์ได้มักเป็นปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ซึ่งจะใช้อิทธิพลที่แบคทีเรียปล่อยออกมาจากเซลล์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา โมเลกุลขนาดเล็กที่เกิดขึ้นจะถูกใช้เป็นที่ตั้งคาร์บอนและแหล่งพลังงานของแบคทีเรีย โดยผ่านกระบวนการหมัก (Fermentation) ซึ่งผลผลิตสุดท้ายจะมีทั้งสารที่อยู่ในรูปออกซิไดซ์และรูปรีดิวซ์ ผลผลิตที่อยู่ในรูปออกซิไดซ์ส่วนใหญ่ได้แก่ กรดอินทรีย์ระเหย (Volatile Acids) ที่มีคาร์บอนไม่เกิน 5 อะตอม ปฏิกิริยาในการสร้างกรดอินทรีย์เหล่านี้เรียกว่า Acidogenesis โดยแบคทีเรียที่ทำหน้าที่สร้างกรดอินทรีย์ระเหยเหล่านี้เรียกว่า แบคทีเรียสร้างกรด (Acidogenic Bacteria) ส่วนผลผลิตที่อยู่ในรูปรีดิวซ์จะเป็นสารอินทรีย์หลายประเภทที่มีปริมาณแตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียและสภาวะแวดล้อมของถังปฏิกิริยา

นอกจากนี้แบคทีเรียบางชนิดจะสามารถใช้กรดอินทรีย์ขนาดใหญ่ หรือสารอินทรีย์อื่นๆ ในการสร้างกรดอะซิติก คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจนได้ดังรูปที่ 2.5 โดยปฏิกิริยาการสร้างไฮโดรเจนจากกรดอินทรีย์ขนาดใหญ่จะ เรียกว่าไฮโดรจีโนเจเนซิส (Hydrogenesis) เนื่องจากแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนมักสามารถสร้างกรดอินทรีย์ได้ แต่แบคทีเรียที่สร้างกรดอินทรีย์ไม่สามารถสร้างไฮโดรเจนได้จึงถือว่าแบคทีเรียสร้างไฮโดรเจนเป็นชนิดหนึ่งของแบคทีเรียสร้างกรด โดยแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้อาจรวมเรียกได้ว่า เป็นแบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทน (Non-Methanogenic Bacteria) และยังมีแบคทีเรียอีกชนิดหนึ่งสามารถย่อยสลายไฮโดรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ กรดฟอร์มิก และกรดอะซิติก เพื่อใช้ในการสร้างมีเทน แบคทีเรียชนิดหลังนี้เรียกว่า แบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenic Bacteria)



รูปที่ 2.5 ลักษณะที่เป็นขั้นตอนของปฏิกิริยารีดอกซิเจน (มันสิน ตันกุลเวศม์, 2542)

2.7.2 แบคทีเรียในกระบวนการแบบไร้ออกซิเจน

2.7.2.1 แบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทน

แบคทีเรียประเภทนี้จะประกอบไปด้วยเซลล์ที่ไม่ต้องการออกซิเจนอย่างเด็ดขาด (Obligate Anaerobes) และพวกที่ใช้ ออกซิเจนได้บ้าง (Facultative Bacteria) แต่พบว่าแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนอย่างเด็ดขาดจะมีจำนวนมากกว่าแบคทีเรียที่ใช้ ออกซิเจนได้บ้างมากกว่าหลายสิบเท่า เนื่องจากการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียชนิดที่ไม่สร้างมีเทนมีได้หลายแบบ

ในปัจจุบันพบว่า แบคทีเรียชนิดที่ไม่สร้างมีเทนที่สามารถสร้างไฮโดรเจนได้จากกรดอินทรีย์ขนาดใหญ่ จะมีบทบาทที่สำคัญในการเชื่อมต้อปฏิกิริยาระหว่างแบคทีเรียที่สร้างกรดแบบธรรมดาและแบคทีเรียที่สร้างมีเทน ทั้งนี้ เนื่องจากปฏิกิริยาที่สร้างมีเทนสามารถสร้างกรดอะซิติกได้จากสารอินทรีย์ชนิดอื่นได้ด้วย เช่น ปฏิกิริยาฟอสฟอโรคลาสติก (Phosphoroclastic) นักวิจัยพบว่าไฮโดรเจนที่ถูกสร้างขึ้นหากสะสมตัวอยู่ในถังปฏิกิริยาจะเป็นพิษต่อแบคทีเรียที่สร้างไฮโดรเจนขึ้นมา แต่ไฮโดรเจนจะถูกแบคทีเรียที่สร้างมีเทนใช้ในการรีดิวซ์คาร์บอนไดออกไซด์ให้กลายเป็นมีเทน ลักษณะการดำรงชีวิตของแบคทีเรียสองชนิดดังกล่าว คือการที่แบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทนมอบกรดอะซิติก และสารอินทรีย์อย่างง่ายให้เป็นสารอาหารแบคทีเรียที่สร้างมีเทน โดยแบคทีเรียสร้างมีเทนช่วยทำลายไฮโดรเจนที่เป็นพิษให้กับแบคทีเรียที่ไม่สร้างมีเทน เรียกว่า Syntrophic growth

2.7.2.2 แบคทีเรียสร้างมีเทน

แบคทีเรียชนิดนี้เจริญได้ช้ามาก และยังเป็นเซลล์ที่เลือกชนิดของสารอาหาร รวมทั้งบอบบางต่อสภาวะแวดล้อมมาก เช่น ไม่อาจทนต่อออกซิเจนได้แม้มีปริมาณเพียงเล็กน้อย หรือไม่อาจเจริญได้ดีเมื่ออยู่ภายนอกช่วงพีเอชระหว่าง 6.8-7.2 เป็นต้น การที่แบคทีเรียชนิดนี้ต้องการสารอาหารที่จำเพาะเจาะจงมาก ทำให้มีสารอินทรีย์ตกค้างอยู่ในถังปฏิกริยาจำนวนมาก ส่งผลให้ระบบไร้ออกซิเจนไม่สามารถลดซีโอดีของน้ำเสียให้เหลือต่ำเท่ากับระบบใช้ออกซิเจนได้

2.8 ขั้นตอนของปฏิกริยาชีวเคมีของการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน

ขั้นตอนของปฏิกริยาชีวเคมีที่ใช้ในการย่อยสลายอินทรีย์โดยกระบวนการไร้ออกซิเจนสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

ขั้นตอนที่ 2 การสร้างกรด (Acidogenesis)

ขั้นตอนที่ 3 การสร้างอะซิเตท (Acetogenesis)

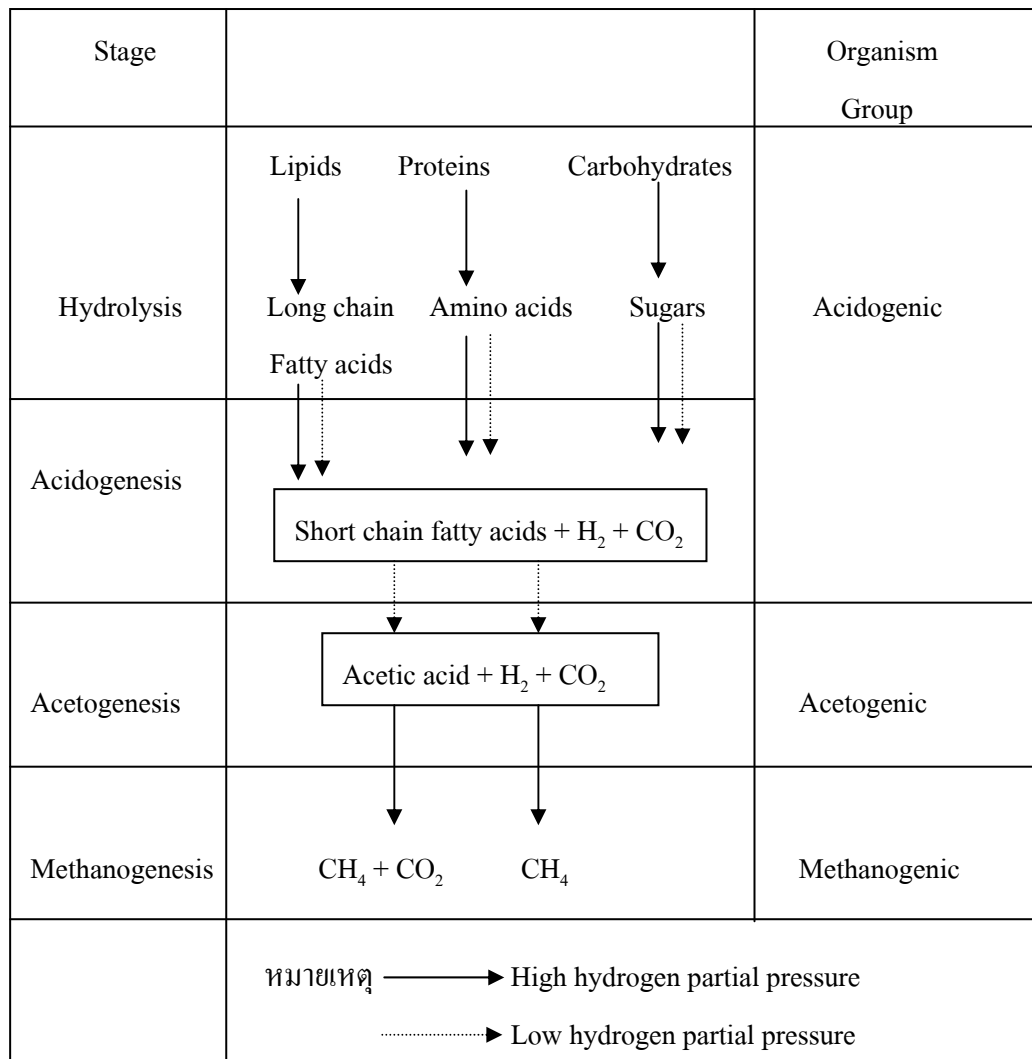
ขั้นตอนที่ 4 การสร้างมีเทน (Methanogenesis)

โดยขั้นตอนของปฏิกริยาชีวเคมีในการย่อยสลายของกระบวนการไร้ออกซิเจนทั้ง 4 ขั้นตอน ต้องอาศัยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียสร้างกรด แบคทีเรียสร้างอะซิเตท และแบคทีเรียสร้างมีเทนดังแสดงขั้นตอนการทำงานโดยสรุปในรูปที่ 2.6

ขั้นตอนที่ 1 ไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)

ขั้นตอนนี้เป็นการย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ให้กลายเป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดเล็กลง เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน และกรดไขมันชนิดยาว ตามลำดับ ซึ่งขั้นตอนนี้เกิดขึ้นภายนอกเซลล์จุลินทรีย์จำพวกสร้างกรด โดยอาศัยเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ชนิดดังกล่าวปล่อยออกมาใช้ในการย่อยสลาย

การย่อยสลายในขั้นตอนนี้จะเกิดค่อนข้างช้า เพราะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ค่าพีเอช ระยะเวลาพักเซลล์ และอัตราส่วนของพื้นที่ผิวสัมผัสต่อปริมาตรของสารอินทรีย์ โดยถ้าสารอินทรีย์ชนิดนั้นมีอัตราส่วนพื้นที่ผิวสัมผัสต่อปริมาตรต่ำ จะต้องใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายนานกว่าจะได้สารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ดังนั้นในการย่อยสลายแป้ง โปรตีน และเซลลูโลส จะต้องใช้ระยะเวลาแตกต่างกันไป อันเนื่องมาจากเหตุผลดังกล่าว

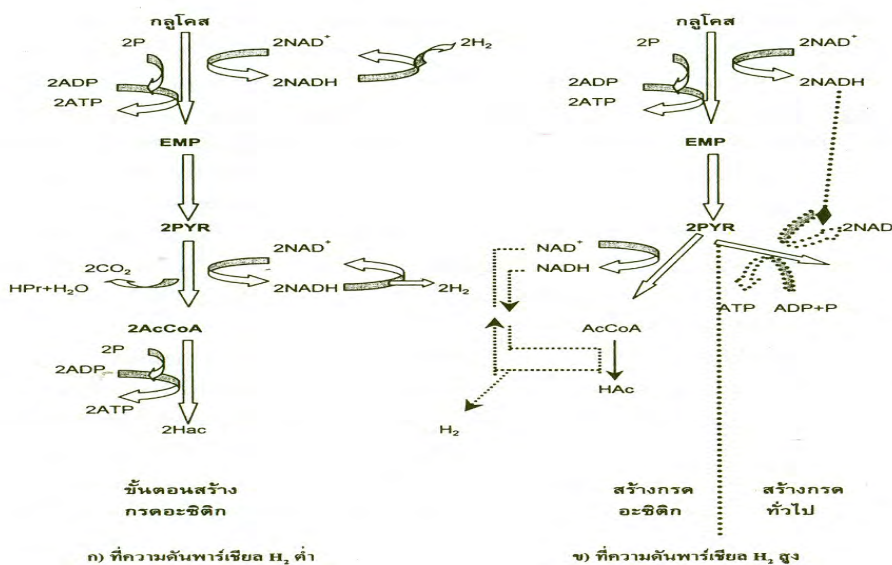


รูปที่ 2.6 แสดงขั้นตอนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียโดยกระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Sam-soon และคณะ, 1987 อ้างถึงในภูค้ำ พิมจักร, 2546)

ขั้นตอนที่ 2 การสร้างกรด (Acidogenesis)

ในขั้นตอนนี้ผลผลิตของขั้นตอนที่ 1 จะถูกแบคทีเรียสร้างกรดดูดซึมเข้าไปภายในเซลล์ เพื่อใช้เป็นอาหารและถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันระเหย เช่น อะซิติก โพรไพโอนิก และบิวไทริก เป็นต้น และผลิตไฮโดรเจนกับคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาด้วยกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยสลายสารประกอบโมเลกุลเล็กและชนิดของผลผลิตที่ได้ขึ้นอยู่กับปัจจัย 2 ประการ คือ ชนิดของสารอาหาร และความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจน ตัวอย่างเช่น กรดไขมันชนิดย่อยยากจะถูกย่อยสลายกลายเป็นกรดอะซิติกและไฮโดรเจนภายใต้สภาวะความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนต่ำ แต่กรดไขมันชนิดดังกล่าวจะถูกย่อยสลายกลายเป็นกรดโพรไพโอนิก และกรดบิวไทริกที่สภาวะความดันพาร์เชียลของไฮโดรเจนมีค่าสูง ในขณะที่น้ำตาลจะถูกย่อยสลาย

กลายเป็นกรดอะซิติก ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยผ่านขั้นตอนไกลโคไลซิส (Glycolysis) ที่ภายใต้สภาวะความดันพาร์เซิลของไฮโดรเจนมีค่าต่ำ แต่น้ำตาลชนิดดังกล่าวจะถูกย่อยสลายกลายเป็นกรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิก กรดบิวไทริก ไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ที่ภายใต้สภาวะความดันพาร์เซิลของไฮโดรเจนมีค่าสูง ดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ปฏิกิริยาสร้างกรดไขมันระเหยได้สภาวะที่ความดันพาร์เซิลของไฮโดรเจนสูงและต่ำ (มันสิน ตัณฑุลเวสม์, 2542)

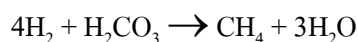
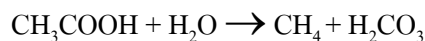
ขั้นตอนที่ 3 การสร้างอะซิเตท (Acetogenesis)

ในขั้นตอนนี้ แบคทีเรียสร้างอะซิเตทจะมีบทบาทสำคัญในการเป็นตัวเชื่อมระหว่างขั้นตอนการสร้างกรดและขั้นตอนการสร้างมีเทน การผลิตมีเทนโดยแบคทีเรียสร้างมีเทนนั้นต้องการสารอาหารที่มีความจำเพาะเจาะจงมาก ได้แก่ กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก ไฮโดรเจน เมทานอล และเมทิลามีน โดยกรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอม ไม่อาจใช้เป็นสารอาหารในการผลิตมีเทนได้ แบคทีเรียสร้างอะซิเตทมีความสามารถในการย่อยสลายกรดไขมันระเหยที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอมให้กลายเป็นกรดอะซิติก คาร์บอนไดออกไซด์และไฮโดรเจน

ขั้นตอนที่ 3 นี้จะเกิดขึ้นได้เฉพาะสภาวะที่มีความดันพาร์เซิลของไฮโดรเจนมีค่าต่ำเท่านั้น กรดไขมันระเหยจะไม่สามารถถูกย่อยสลายกลายเป็นกรดอะซิติกภายใต้สภาวะที่มีความดันพาร์เซิลของไฮโดรเจนมีค่าสูงได้

ขั้นตอนที่ 4 การสร้างมีเทน (Methanogenesis)

ในขั้นตอนนี้ กรดอะซิติกและไฮโดรเจนจะถูกแบคทีเรียใช้สร้างก๊าซมีเทนภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนอย่างเด็ดขาด โดยสมการที่เกิดขึ้นสามารถแสดงได้ดังนี้

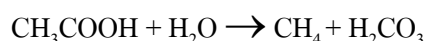


กรดอินทรีย์ระเหยที่มีคาร์บอนมากกว่า 2 อะตอม ไม่สามารถถูกเปลี่ยนเป็นมีเทนได้โดยตรงแบบที่เรียดจะต้องเปลี่ยนกรดอินทรีย์ระเหยต่างๆ ให้เป็นกรดอะซิติกหรือไฮโดรเจนเสียก่อนจึงจะใช้ผลิตมีเทนได้ นอกจากกรดอะซิติกและไฮโดรเจนแล้วแบคทีเรียอาจใช้สับสเตรตอย่างง่ายอีกเพียงไม่กี่ชนิดในการผลิตมีเทน เช่น เมทานอล และกรดฟอร์มิก ดังสมการ

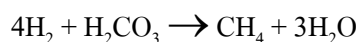


แบคทีเรียสร้างมีเทนแบ่งได้เป็น 3 ชนิดดังนี้

- Obligate Acetoclastic Methanogen แบคทีเรียกลุ่มนี้จะสามารถบริโภคกรดอะซิติกได้เพียงอย่างเดียวโดยใช้เป็นแหล่งพลังงาน



- Obligate Hydrogenotrophic Methanogen (H_2 Utilizer) เป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตมีเทนได้จากไฮโดรเจนเพียงอย่างเดียวในกรณีนี้ไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานและมีคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน



- Hydrogenotrophic Acetoclastic Methanogen เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างมีเทนได้จากกรดอะซิติก หรือไฮโดรเจน แต่ชอบไฮโดรเจนมากกว่า

2.9 หลักการทำงานของระบบยูเอเอสบี

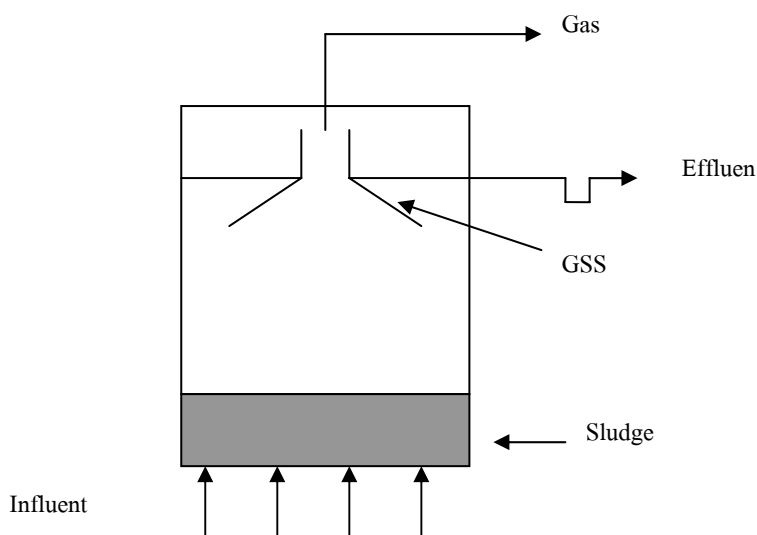
ระบบยูเอเอสบีถูกพัฒนาขึ้นโดย Lettinga และคณะ ในช่วงปลายทศวรรษที่ 70 ซึ่งเป็นระบบที่อาศัยตะกอนจุลินทรีย์แบบแขวนลอย โดยภายหลังการดำเนินการได้ระยะหนึ่งจะเกิดตะกอนจุลชีวะที่มีลักษณะการเกาะตัวเป็นเม็ด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-2 มิลลิเมตร ขึ้นภายในถังปฏิกรณ์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการตกตะกอนได้ดีมาก ทำให้ระบบนี้มีประสิทธิภาพในการบำบัดบีโอดีได้สูงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับระบบบำบัดแบบแอนแอโรบิกอื่นๆ

2.9.1 ลักษณะและการทำงานของระบบยูเอเอสบี

ระบบยูเอเอสบีเป็นระบบบำบัดน้ำเสียที่มีทิศทางการไหลของน้ำเสียจากด้านล่างขึ้นด้านบนโดยไม่ใช้ตัวกลาง แต่แบคทีเรียจะถูกเลี้ยงให้จับตัวเป็นเม็ดขนาดใหญ่จนกระทั่งมีน้ำหนักมากและสามารถตกตะกอนได้ดี น้ำเสียที่ไหลเข้าถังปฏิกิริยาจะทำให้เม็ดแบคทีเรียลอยตัวอยู่บนชั้นสลัดจ์ที่ไม่จมลงกันถึง ลักษณะโดยทั่วไปของถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีจะเป็นรูปสี่เหลี่ยมหรือทรงกระบอกก็ได้ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ส่วนดังแสดงในรูปที่ 2.8

- ส่วนแรกเป็นถังปฏิกิริยาและระบบป้อนน้ำเสีย (Feed inlet system) อยู่ด้านล่างของถัง
- ส่วนที่สองเป็นส่วนแยกน้ำ, ก๊าซและตะกอนแขวนลอย อยู่ด้านบนของถัง

ในการทำงานของระบบยูเอเอสบี จะมีการเติมเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่ถังปฏิกิริยาจากนั้นทำให้เกิดสภาวะที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดชั้นตะกอนจุลินทรีย์ที่มีความหนาแน่นและรวมตัวเป็นเม็ดหรือเกล็ด (Granular or pellet) ทำให้มีความเร็วในการจมตัวสู่ก้นถังปฏิกิริยาสูง รวมเป็นชั้นของตะกอนนอน (Sludge bed) ส่วนกลุ่มที่มีความหนาแน่นต่ำและมีความเร็วในการจมตัวต่ำกว่าจะลอยอยู่เป็นชั้นของตะกอนแขวนลอย (Sludge blanket)



รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะทั่วไปของถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี (พิรพงษ์ ทิพยากร, 2530)

เมื่อน้ำเสียถูกป้อนเข้าสู่ด้านล่างของถังปฏิกิริยา จุลินทรีย์ก็จะย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียทำให้เกิดเซลล์และก๊าซขึ้น โดยก๊าซที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่จะเป็นก๊าซมีเทน ซึ่งความเร็วของน้ำเสียที่ป้อนเข้าสู่ระบบจะทำให้ตะกอนจุลินทรีย์ลอยขึ้นสู่ด้านบน ทำให้เกิดการสัมผัสกันระหว่างน้ำเสีย

กับตะกอนแขวนลอยทำให้เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ เมื่อน้ำเสียเคลื่อนที่จนถึงส่วนบนของถัง ซึ่งมีอุปกรณ์แยกก๊าซ น้ำเสียและตะกอนแขวนลอย ตะกอนจุลินทรีย์จะตกลงสู่ก้นถังปฏิบัติการ เมื่อน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วจะไหลออกทางด้านข้างของถัง ส่วนก๊าซที่เกิดขึ้นจะถูกแยกออกไปทางด้านบนของถัง

จะเห็นได้ว่าปัจจัยสำคัญของระบบยูเอเอสบีคือ การเลี้ยงจุลินทรีย์ให้เกาะเป็นเกล็ดหรือเม็ด ซึ่งมีความหนาแน่นและมีน้ำหนักมากเพื่อที่จะตกตะกอนได้ดี โดยหากจุลินทรีย์ไม่มีการรวมตัวเป็นเม็ดหรือเกล็ดจะทำให้เกิดการหลุดออก (Wash out) ของตะกอนจุลินทรีย์ได้เป็นผลให้ประสิทธิภาพของระบบลดลงหรืออาจล้มเหลว นอกจากนี้การป้องกันน้ำเสียเข้าระบบไม่ให้ไหลเป็นช่อง (Channeling) ก็เป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากจะมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดสารอินทรีย์ของระบบลดลงได้

2.9.2 ข้อดีและข้อเสียของระบบยูเอเอสบี

สามารถแสดงโดยสรุปได้ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงการเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของระบบยูเอเอสบี (จรัสศักดิ์ เงินทวีคุณ, 2541)

ข้อดี	ข้อเสีย
<ol style="list-style-type: none"> 1. ตะกอนจุลินทรีย์สามารถแยกออกจากรูน้ำเสียได้ง่าย 2. ไม่ต้องใช้สารตัวกลาง ทำให้ค่าใช้จ่ายลดลง 3. ต้องการธาตุอาหารเสริมน้อยมาก 4. เกิดตะกอนจุลินทรีย์น้อย 5. สามารถเก็บรักษาตะกอนจุลินทรีย์ในอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส ได้ถึง 1 ปี จึงเป็นระบบที่สามารถใช้กับแหล่งผลิตที่มีน้ำเสียเป็นช่วงๆ ได้ 6. มีความต้องการพลังงานต่ำเนื่องจากไม่มีการเติมอากาศ 7. ผลผลิตที่ได้คือก๊าซชีวภาพ (มีเทน) สามารถนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ 8. สามารถรับภาระบรรทุกอินทรีย์ได้สูง 	<ol style="list-style-type: none"> 1. ต้องใช้เวลาในการเริ่มต้นเดินระบบค่อนข้างนาน 2. ต้องการระบบบำบัดน้ำเสียที่ต่อเนื่องเพื่อลดความเข้มข้นของสารอินทรีย์ให้ได้ตามมาตรฐาน 3. ต้องเลี้ยงจุลินทรีย์ให้จับตัวเป็นเม็ด มิฉะนั้นจะด้อยประสิทธิภาพ 4. ต้องมีอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพที่เหมาะสมเพื่อช่วยในการกวน 5. ต้องพยายามรักษาตะกอนจุลินทรีย์ในระบบให้เหมาะสม และควบคุมการถูกล้างออก เนื่องจากตะกอนจุลินทรีย์มีความอ่อนไหวต่อการเปลี่ยนแปลง เช่น สารพิษ สารยับยั้งการเจริญเติบโต 6. แบคทีเรียโดยเฉพาะพวกผลิตมีเทนจะเจริญเติบโตได้ดีในช่วงสภาวะที่เหมาะสมแคบ เช่น พีเอช ประมาณ 6.8-7.2 7. เมื่อสูญเสียตะกอนจุลินทรีย์ออกจากระบบทำให้อัตรการรับสารอินทรีย์ไม่สูงขึ้น 8. ยังมีข้อมูลและประสบการณ์ในการเดินระบบน้อย

2.9.3 กระบวนการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ลักษณะเม็ด (Granulation)

Hulshoff และคณะ (1983) (อ้างถึงในพีรคณย์ หมั่นภักดี, 2546) ได้ศึกษาการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ โดยสังเกตจากพฤติกรรมในการคงอยู่หรือการหลุดออกของตะกอนจุลินทรีย์และได้กล่าวถึงขั้นตอนการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ไว้ 3 ขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 (อัตราการระบรทุกสารอินทรีย์ < 2 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน)

ในขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนเริ่มต้นโดยเมื่อป้อนน้ำเสียเข้าสู่ถังยูเอสบีแล้ว ชั้นตะกอนด้านล่างจะเกิดการขยายตัว เนื่องจากน้ำเสียที่ป้อนเข้าไปรวมทั้งจุลินทรีย์จำพวกเส้นใย (Filamentous organisms) ที่มีอยู่ในถังจะทำให้ตะกอนจุลินทรีย์จับตัวได้น้อยลง

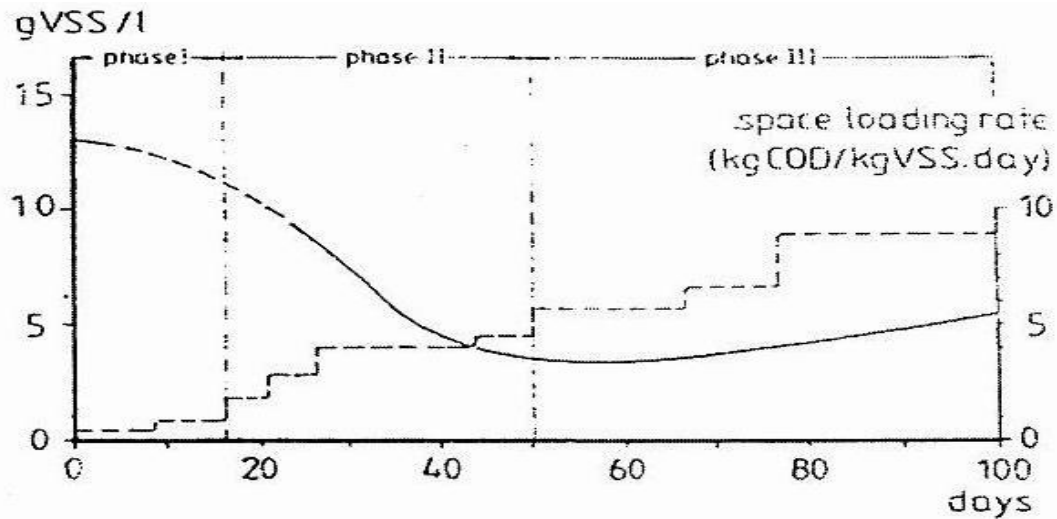
ขั้นตอนที่ 2 (อัตราการระบรทุกสารอินทรีย์ 2-5 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน)

ในขั้นตอนนี้จะมีอัตราการสูญเสียตะกอนแขวนลอยสูงมาก เนื่องจากการเพิ่มภาระบรทุกอินทรีย์ทำให้เกิดการผลิตก๊าซมากขึ้นจึงมีการหลุดออกของตะกอนจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กๆ ออกนอกถัง ส่วนตะกอนจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่และหนักจะสามารถคงอยู่ในถังต่อไปได้ ซึ่งเป็นการคัดเลือกของระบบที่มีการสร้างจุลินทรีย์และมีการรวมตัวกันของตะกอนจุลินทรีย์ ทำให้มีลักษณะเป็นเม็ดตะกอนจมอยู่ในส่วนล่างของถัง ในขั้นตอนนี้ขนาดของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์จะมีขนาดใหญ่ขึ้น(อาจมีขนาดใหญ่ถึง 5 มิลลิเมตร)

ขั้นตอนที่ 3 (อัตราการระบรทุกสารอินทรีย์ > 3-5 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน)

ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่อัตราการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์มีมากกว่าการหลุดออกนอกถังของตะกอนจุลินทรีย์ ซึ่งเมื่อหลังจากระบบได้ผ่านขั้นตอนนี้แล้วระบบจะสามารถรับภาระบรทุกอินทรีย์ได้มากขึ้นจนถึงค่าสูงสุดที่ระบบจะรับได้ ซึ่งจากการทดลองที่ผ่านมาระบบอาจรับได้สูงถึง 50 กก.ซีโอดี/ลบ.ม.-วัน

ลักษณะการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ทั้ง 3 ขั้นตอน สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2.9 โดยใช้เส้นกราฟความเข้มข้นของตะกอนจุลินทรีย์ (gSS/l) ตามความสูงของถังแสดงถึงขั้นตอนนี้ทั้งสามดังกล่าว



รูปที่ 2.9 แสดงการเพิ่มขึ้นของปริมาณตะกอนจุลินทรีย์และอัตราภาระบรรทุกอินทรีย์ระหว่างขั้นตอนการเกิดตะกอนจุลินทรีย์ในถังยเอเอสบี (Hulshoff และคณะ, 1983)

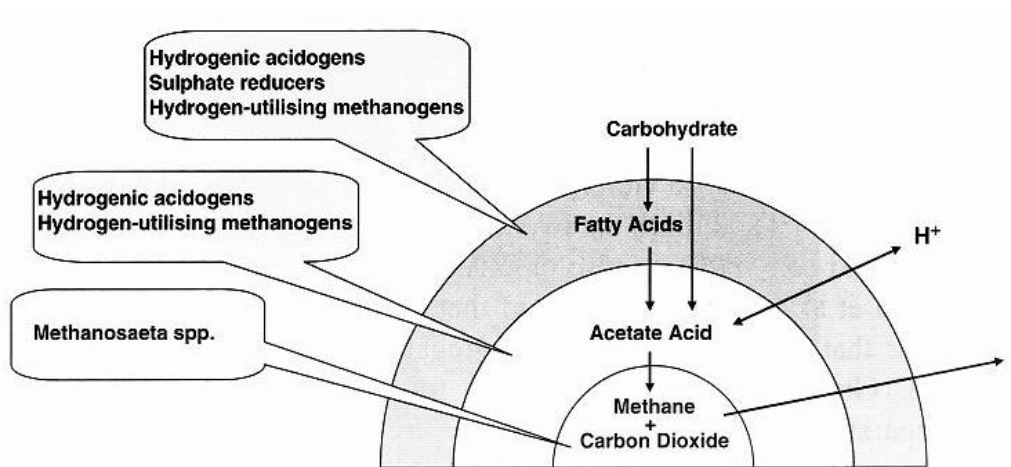
2.9.4 โครงสร้างของแบคทีเรียในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์

MacLeod และคณะ (1990) และ Guiot และคณะ (1992) กล่าวว่าโครงสร้างภายในของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชั้น ดังรูปที่ 2.10 โดย

ชั้นนอก จะประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายกลุ่มที่อยู่ในรูปแบบ ท่อน(Rods) ทรงกลม (Cocci) และแบบเส้นใย (Filamentous) ซึ่งจัดเป็นกลุ่มคือ Hydrogenic acidogens Sulphate reducers และ Hydrogen utilising methanogens

ชั้นกลาง ประกอบด้วยกลุ่มจุลินทรีย์ประเภท Hydrogenic acidogens และ Hydrogen utilising methanogen

ชั้นใน ประกอบด้วยจุลินทรีย์ประเภท methanogens เป็นส่วนใหญ่



รูปที่ 2.10 แสดงรูปแบบโครงสร้างของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ (Guiot และคณะ, 1992)

2.9.5 กระบวนการรวมตัวเป็นเม็ดตะกอนจุลินทรีย์

Yu และคณะ (2000) (อ้างถึงในพิรคณย์ หมั่นภักดี, 2546) ได้เสนอรูปแบบการเกิดตะกอนเม็ดซึ่งแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ดังรูปที่ 2.11 ได้แก่

ขั้นตอนที่ 1 เกิดจากการเคลื่อนที่ของแบคทีเรียทำให้มีการชนกันระหว่างแบคทีเรียกับแบคทีเรีย หรือแบคทีเรียกับอนุภาคต่างๆ (Nuclei) ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับแรงที่ทำให้เกิดการเคลื่อนที่มาสัมผัสกัน ได้แก่ แรงดันของน้ำ (Hydrodynamic Force) แรงจากการแพร่ (Diffusion Force) การเคลื่อนที่แบบต่างๆของเซลล์แบคทีเรียเอง (Cell Mobility) หรือการเคลื่อนที่เนื่องจากแรงโน้มถ่วงของโลก (Gravity Force)

ขั้นตอนที่ 2 เมื่อเซลล์แบคทีเรียเคลื่อนที่มาสัมผัสกันจะเกิดแรงดึงดูดระหว่างกันทำให้มีการดูดติดผิว ซึ่งอาจเป็นระหว่างแบคทีเรียกับแบคทีเรียก็ได้หรือแบคทีเรียกับอนุภาคต่างๆ โดยแรงดึงดูดนี้อาจเป็นแรงทางกายภาพ ทางเคมี หรือทางชีวภาพ

ขั้นตอนที่ 3 เกิดการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนที่ใหญ่ขึ้นของกลุ่มจุลินทรีย์และพร้อมที่จะเจริญเติบโตเต็มที่ โดยจุลินทรีย์บางชนิดอาจมีการผลิตสารพวก โพลีเมอร์ออกมาทำให้เกิดการจับตัวกันได้ดีขึ้น และมีลักษณะที่เป็นเส้นใยของจุลินทรีย์บางชนิดจะช่วยให้การรวมตัวเป็นกลุ่มก้อนได้ง่าย

ขั้นตอนที่ 4 เป็นช่วงที่เข้าสู่สภาวะคงที่ (Steady State) โดยแบคทีเรียจะมีการเจริญเติบโตเต็มที่ที่เป็นเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่สมบูรณ์

2.9.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์

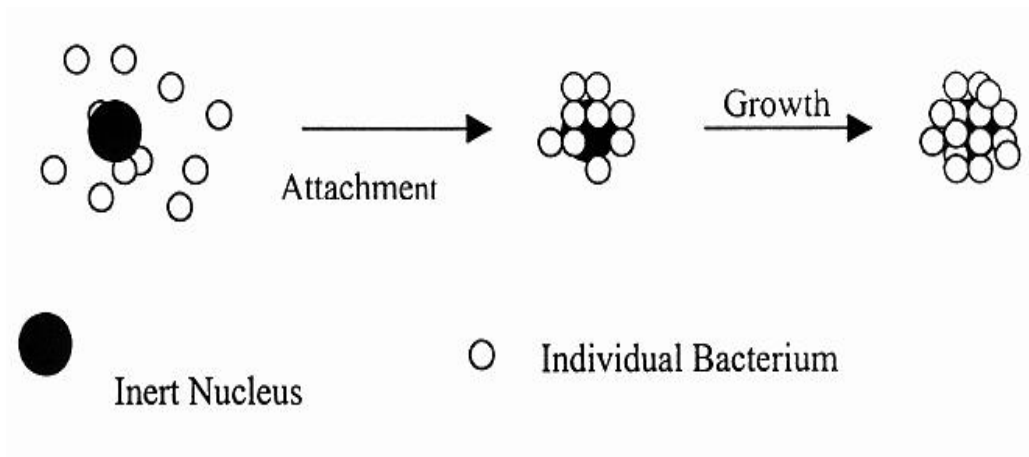
Hulshoff และคณะ (1982) กล่าวถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ว่าขึ้นอยู่กับเงื่อนไขของสภาพแวดล้อม ซึ่งได้แก่

สารอาหาร ซึ่งต้องอยู่ในรูปที่แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้อย่างรวดเร็ว (Bioavailability)

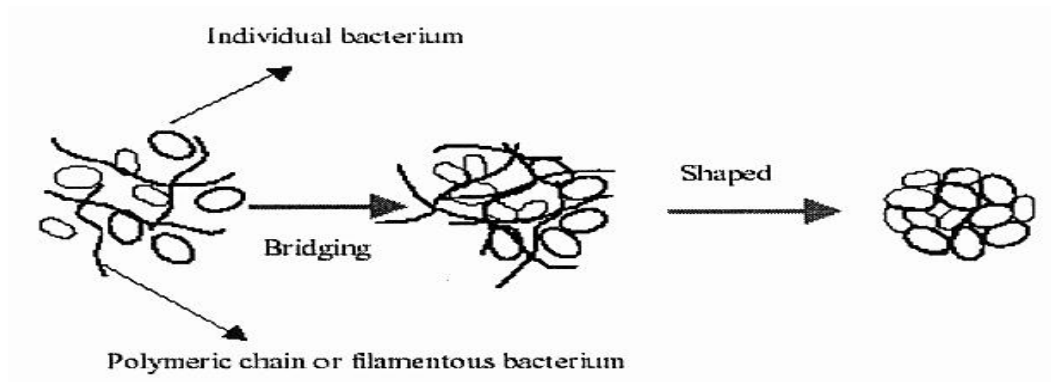
อุณหภูมิ โดยอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้แบคทีเรียทำงานได้ดีขึ้น

ค่าพีเอช ช่วงค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของระบบคือ พีเอชที่ 6.5-7.8

ชนิดและองค์ประกอบของน้ำเสีย สารอินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ สารอินทรีย์และอนินทรีย์ที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ อีออนบวก และสารพิษซึ่งจะยับยั้งการทำงานของแบคทีเรีย



(ก) แสดงตัวอย่างรูปแบบของการเกิดตะกอนเม็ด (Inert Nuclei Model) (Lettinga และคณะ, 1980)



(ข) แสดงตัวอย่างรูปแบบของการเกิดตะกอนเม็ด (Polymer or filament bonding model)

(EI-Mamouni และคณะ, 1998)

รูปที่ 2.11 แสดงตัวอย่างของการเกิดเม็ดตะกอนจุลินทรีย์

2.10 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของระบบยูเอเอสบี

2.10.1 อุณหภูมิ

ระบบยูเอเอสบีสามารถแบ่งช่วงการทำงานในช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ 3 ช่วงคือ

- ช่วงการทำงานของเทอร์โมฟิลิก (Thermophilic) มีอุณหภูมิประมาณ 50-65 °ซ
- ช่วงการทำงานของมีโซฟิลิก (Mesophilic) มีอุณหภูมิประมาณ 20-45 °ซ
- ช่วงการทำงานของไซโคฟิลิก (Psychrophilic) มีอุณหภูมิประมาณ 20 °ซ

ในการบำบัดน้ำเสียแบบไร้ออกซิเจน พบว่าพวกเทอร์โมฟิลิกจะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมากกว่า ส่วนช่วงไซโคลฟิลิกก๊าซมีเทนเกิดขึ้นน้อยมาก และในด้านการย่อยสลายจะลดลงเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 20 °ซ ดังนั้นการรักษาอุณหภูมิให้สม่ำเสมอจึงมีความสำคัญมากกว่าที่จะทำให้เกิดให้อุณหภูมิที่มีอัตราการย่อยสลายสูงสุด

2.10.2 พีเอช สภาพความเป็นด่าง และกรดไขมันระเหย

ค่าพีเอช สภาพความเป็นด่าง และกรดไขมันระเหย มีความสำคัญต่อแบคทีเรียที่ผลิตมีเทน ซึ่งโดยทั่วไปมีความต้องการพีเอชอยู่ในช่วงประมาณ 6.8-7.2 โดยถ้าพีเอชน้อยกว่า 6.2 ประสิทธิภาพของระบบจะลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วนแบคทีเรียชนิดสร้างกรดมักสามารถปรับตัวได้ในช่วงที่มีพีเอช กว้างกว่า คือประมาณ 5-8.5 ดังนั้นค่าพีเอชจึงมีความสำคัญต่อแบคทีเรียที่ผลิตมีเทนมากกว่า สำหรับกรดไขมันระเหยที่ผลิตโดยพวกแบคทีเรียสร้างกรดปกติควรมีค่าอยู่ในระบบประมาณ 200-400 มก./ล. ในรูปของกรดอะซิติก โดยถ้าปริมาณกรดไขมันระเหยเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จะเป็นสัญญาณแสดงว่าระบบเสียสมดุล และพบว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดโพโรไฟออนิกมากกว่า 1,000 มก./ล. จะแสดงความเป็นพิษต่อแบคทีเรียได้ สำหรับสภาพความเป็นด่างในรูปของไบคาร์บอเนต จะเป็นตัวแสดงให้ทราบถึงกำลังบัฟเฟอร์ (Buffer capacity) ของระบบ ถ้ากำลังของบัฟเฟอร์ต่ำไม่พอเพียง ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจะทำให้ค่าพีเอชของระบบลดลงอย่างรวดเร็ว โดยทั่วไปในการบำบัดแบบไร้ออกซิเจนควรมีค่าสภาพความเป็นด่างประมาณ 2,000-5,000 มก./ล. และอัตราส่วนความเข้มข้นของกรดไขมันระเหย (มก./ล. ในรูปกรดอะซิติก) ต่อสภาพความเป็นด่างไบคาร์บอเนต (มก./ล. ในรูปแคลเซียมคาร์บอเนต) ซึ่งเป็นการแสดงค่ากำลังของบัฟเฟอร์ทางหนึ่ง โดยถ้าอัตราส่วนดังกล่าวมีค่าน้อยกว่า 0.4 แสดงว่ามีกำลังของบัฟเฟอร์สูง แต่ถ้าอัตราส่วนดังกล่าวมากกว่า 0.8 แสดงว่ามีกำลังของบัฟเฟอร์ต่ำ อาจทำให้ระบบมีประสิทธิภาพลดลงได้

สารเคมีที่ใช้ในการควบคุมพีเอชได้แก่ การเติมด่างแก่ไบคาร์บอเนต หรือคาร์บอเนต ให้แก่ระบบ ตัวอย่างสารเคมีที่ใช้เติมให้ระบบเช่น โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) ซึ่งเป็นสารที่ละลายน้ำได้ดี เป็นการเติมไบคาร์บอเนตให้แก่ระบบโดยตรง แต่ราคาก็จะสูงกว่าสารอื่น

2.10.3 สารอาหารเสริม

เนื่องจากการบำบัดด้วยกระบวนการไร้ออกซิเจนจะมีเซลล์จุลินทรีย์ที่สร้างขึ้นมาน้อยกว่าแบบใช้ออกซิเจน ดังนั้นจึงต้องการอาหารเสริม เช่น ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่ำกว่า โดย McCarty (1964) กล่าวว่าจุลินทรีย์ต้องการปริมาณธาตุไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย อย่างน้อยควรมีอัตราส่วน BOD:N:P เท่ากับ 100:1.1:0.2 ในปัจจุบันพบว่าแบคทีเรียที่ผลิตมีเทนต้องการธาตุบางอย่างในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ มิฉะนั้นระบบจะไม่

อาจดำเนินไปอย่างมีประสิทธิภาพได้ ชาติดังกล่าวได้แก่ เหล็ก โคบอลต์ นิกเกิล และซัลเฟอร์ ในรูปซัลไฟด์ แต่อย่างไรก็ดีการเติมธาตุดังกล่าวให้แบคทีเรียนำไปใช้ได้ลำบาก เนื่องจากซัลไฟด์สามารถทำให้โลหะต่างๆ ตกผลึกแยกออกจากรูได้ เช่น เหล็กรวมกับซัลไฟด์เป็นผลึกที่ไม่ละลายน้ำ ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถนำไปใช้ได้ ปัจจุบันอาจทำได้โดยการเติมสารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) ให้แก่ระบบโดยตรง

2.10.4 สารพิษ

น้ำเสียที่จะบำบัดด้วยกระบวนการทางชีววิทยาไม่ควรมีส่วนประกอบของสารพิษปนอยู่เพราะจะไปรบกวนการทำงานของแบคทีเรียในระบบ หรือยับยั้งการเจริญเติบโต โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ผลิตมีเทน โดยอาจทำให้ระบบล้มเหลวได้ ความรุนแรงของสารพิษขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารนั้นๆ โดยสารที่เป็นพิษต่อระบบได้แก่

พิษของอออนบวกกับโลหะหนัก

อออนบวกที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในระบบบำบัดแบบไร้ออกซิเจนได้แก่ โซเดียม โปตัสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม ดังตารางที่ 2.3 ซึ่งแสดงค่าความเข้มข้นของอออนบวกที่กระตุ้นและยับยั้งกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน

ตารางที่ 2.3 แสดงค่าความเข้มข้นของอออนบวกที่กระตุ้นและยับยั้งกระบวนการย่อยสลายแบบไร้ออกซิเจน (McCarty, 1964 อ้างถึงในพีรพงษ์ ทิพยากร, 2530)

ชนิดอออนบวก	ความเข้มข้น (มก./ล.)		
	กระตุ้น	ยับยั้งปานกลาง	ยับยั้งมาก
Na ⁺	100-200	3,500-5,500	8,000
K ⁺	200-400	2,500-4,500	12,000
Ca ²⁺	100-200	2,500-4,500	8,000
Mg ²⁺	75-150	1,000-1,500	3,000

ส่วนการยับยั้งจากโลหะหนักที่มีผลต่อกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจน (Mosey และ Hughes, 1975 อ้างถึงในพีรพงษ์ ทิพยากร, 2530) ศึกษาพบว่า Cu²⁺ มีผลต่อระบบมากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 แสดงความเข้มข้นของโลหะหนักที่มีผลยับยั้ง 50% ของแบคทีเรียสร้างมีเทน
(Mosey and Hughes, 1975 อ้างถึงในพีรพงษ์ ทิพยากร, 2530)

โลหะหนัก	ความเข้มข้น(มก./ล.)
Fe ²⁺	1-10
Zn ²⁺	10 ⁻⁴
Cd ²⁺	10 ⁻⁷
Cu ⁺	10 ⁻¹²
Cu ²⁺	10 ⁻¹⁶

พิษของกรดไขมันระเหย

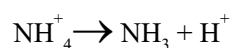
กรดไขมันระเหยถ้าถูกสร้างมากเกินไป เช่น ในสภาวะที่สารอินทรีย์หรืออาหารเข้ามา
มากเกินไปที่ผลิตกรดจะผลิตกรดไขมันออกมามาก และหากพบว่าระบบมีกำลังของบัพเฟออร์
ไม่เพียงพอจะทำให้ค่าพีเอชของระบบลดลง ส่งผลต่อการทำงานของแบคทีเรียที่สร้างมีเทนได้
ตารางที่ 2.5 แสดงความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยที่มีผลยับยั้ง 50% ของแบคทีเรียสร้างมีเทน

ตารางที่ 2.5 แสดงความเข้มข้นของกรดไขมันระเหยที่มีผลยับยั้ง 50% ของแบคทีเรียสร้างมีเทน
(Hulshoff-Pol, 1994 อ้างถึงใน พีรพงษ์ ทิพยากร, 2530)

พีเอช	กรดอะซิติก (มก.ซีโอดี/ล.)	กรดโพรพิโอนิก (มก.ซีโอดี/ล.)
5.0	44	13
5.5	106	30
6.0	300	80
6.5	912	241
7.0	2,851	745
7.5	8,376	2,358
8.0	28,368	7,398

พิษของแอมโมเนีย

แอมโมเนียที่เกิดขึ้นในน้ำเสียของระบบไร้ออกซิเจน มาจากการย่อยสลายพวก
สารประกอบโปรตีนโดยไนโตรเจนที่ปล่อยออกมาจะอยู่ในรูปของแอมโมเนียมไอออน (NH₄⁺) และ
แอมโมเนีย (NH₃) ดังสมการ



โดยปริมาณของแอมโมเนียมไอออนนี้จะขึ้นอยู่กับค่าพีเอชคือ ที่พีเอชประมาณ 7 ความเข้มข้นของแอมโมเนียมจะมีประมาณ 1 % ของแอมโมเนียทั้งหมด โดยจะมีความเข้มข้นของแอมโมเนียมไอออน 99% แต่ถ้าค่าพีเอชมีค่าสูงขึ้น ปฏิกิริยาจะไปทางขวามากขึ้น คือทำให้เกิดแอมโมเนียมมาก ซึ่งเป็นพิษต่อแบคทีเรียมากกว่าแอมโมเนียมไอออน โดยความเข้มข้นของแอมโมเนียที่เป็นพิษต่อแบคทีเรียคือมากกว่า 150 มก./ล. ในขณะที่แบคทีเรียสามารถทนความเข้มข้นของแอมโมเนียมไอออนได้สูงถึง 3,000 มก./ล. ดังนั้นการรักษาพีเอชให้มีค่าประมาณ 7 หรือต่ำกว่า จะทำให้แอมโมเนียทั้งหมดอยู่ในรูปแอมโมเนียมไอออน ซึ่งเป็นพิษต่อระบบน้อยกว่า ตารางที่ 2.6 แสดงผลของความเข้มข้นของแอมโมเนียในโตรเจนที่มีต่อระบบไร้ออกซิเจน

ตารางที่ 2.6 แสดงผลของความเข้มข้นของแอมโมเนียในโตรเจนที่มีต่อระบบไร้ออกซิเจน (McCarty, 1964 อ้างถึงในพีรพงษ์ ทิพยากร, 2530)

แอมโมเนียในโตรเจน(มก./ล.)	ผลต่อระบบ
50-200	ปริมาณพอเหมาะ
200-1,000	ยังไม่เกิดผลชัด
1,500-3,000	เริ่มยับยั้งเมื่อพีเอชสูง
>3,000	เป็นพิษโดยตรง

2.11 การศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ

ในการพัฒนาให้ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพมีประสิทธิภาพสูงขึ้น ความชัดเจนของประชากรจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียนั้นมีความสำคัญ และจำเป็นต้องอาศัยความรู้ทางด้านจุลชีววิทยามาช่วยสนับสนุนให้เข้าใจระบบอย่างลึกซึ้ง ซึ่งจากการพัฒนาเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลทำให้สามารถศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ได้ลึกถึงระดับยีน (Gene) ซึ่งความหลากหลายของยีนหรือพันธุกรรมนั้นเป็นผลมาจากวิวัฒนาการ โดยหลักการของการศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในธรรมชาติก็คือการวิเคราะห์ความแตกต่างของลำดับเบสในสายพันธุกรรมของเซลล์ (DNA หรือ RNA) และจัดแบ่งความหลากหลายของประชากรออกมาเป็นกลุ่มความแตกต่าง (Pattern หรือ profile) หรืออาจเรียกว่าเทคนิคการทำภาพพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprint) ซึ่งสามารถใช้ในการเปรียบเทียบองค์ประกอบประชากรแบคทีเรียจากสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ รวมทั้งการติดตามการเปลี่ยนแปลงจำนวนของแบคทีเรียได้อีกด้วย

ในปัจจุบันวิธีทางชีววิทยาระดับโมเลกุลที่นิยมใช้ในการศึกษาประชากรแบคทีเรียก็คือเทคนิคการเพิ่มจำนวนยีนในช่วงสายของ 16s rDNA ด้วยวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction)

และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของยีนด้วย DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) ซึ่งรวมเรียกย่อๆว่าเทคนิค PCR-DGGE ซึ่งตามหลักการของ Muyzer และ Smalla (1998) สามารถสรุปขั้นตอนได้ดังต่อไปนี้

2.11.1 การสกัดแยกกรดนิวคลีอิก (DNA หรือ RNA) ออกจากตัวอย่าง

เป็นการสกัดแยกกรดนิวคลีอิกรวมของจุลินทรีย์ออกจากตะกอนตัวอย่างที่นำมาทดลองโดยใช้เอนไซม์และหลักการแยกสารด้วยไฟฟ้าบนอะกาโรสเจล (Agarose gel)

2.11.2 การเพิ่มจำนวนยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิค PCR

การเพิ่มจำนวนยีนด้วยเทคนิคนี้ ใช้หลักการพื้นฐานในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่จากสายดีเอ็นเอต้นแบบด้วยเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลิเมอเรส (DNA polymerase) ซึ่งสามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอได้คราวละ 2 สายพร้อมกันได้โดยการใส่ไพรเมอร์ (Primer) 1 คู่ ซึ่งปฏิกิริยาการเกิด PCR แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ที่มีการหมุนเวียนต่อเนื่องกันไปภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 Denaturing เป็นการแยกสายดีเอ็นเอต้นแบบจากสภาพสายคู่ให้กลายเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยว ซึ่งขั้นตอนนี้จะใช้อุณหภูมิสูงประมาณ 92-95 °ซ

ขั้นตอนที่ 2 Annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลง เพื่อให้ไพรเมอร์เข้าจับกับดีเอ็นเอต้นแบบ ซึ่งไพรเมอร์เป็นดีเอ็นเอสายสั้นๆประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์จำนวน 14-30 เบส (Oligonucleotide primer) และมีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอต้นแบบหรือ Template ในขั้นตอนนี้ต้องควบคุมอุณหภูมิให้ลดต่ำลงจนใกล้เคียงกับอุณหภูมิ ณ จุดแยกตัว (melting temperature T_m) ของไพรเมอร์ (โดยทั่วไปจะต่ำกว่า T_m 1-2 องศาเซลเซียส) ซึ่งจะอยู่ในช่วง 37-60 องศาเซลเซียส โดยลำดับเบสที่จะถูกสังเคราะห์ขึ้นต่อจากไพรเมอร์ จะถูกกำหนดโดยลำดับเบสบริเวณสายของดีเอ็นเอที่ต้องการเพิ่ม โดยไพรเมอร์จะถูกเติมให้มีความเข้มข้นสูงกว่าดีเอ็นเอต้นแบบมาก ดังนั้นการจับกันระหว่างไพรเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบจึงมีโอกาสเกิดขึ้นมากกว่าการจับคู่กับ (Renature) ของดีเอ็นเอต้นแบบซึ่งเป็นสายเดี่ยวด้วยตัวเอง

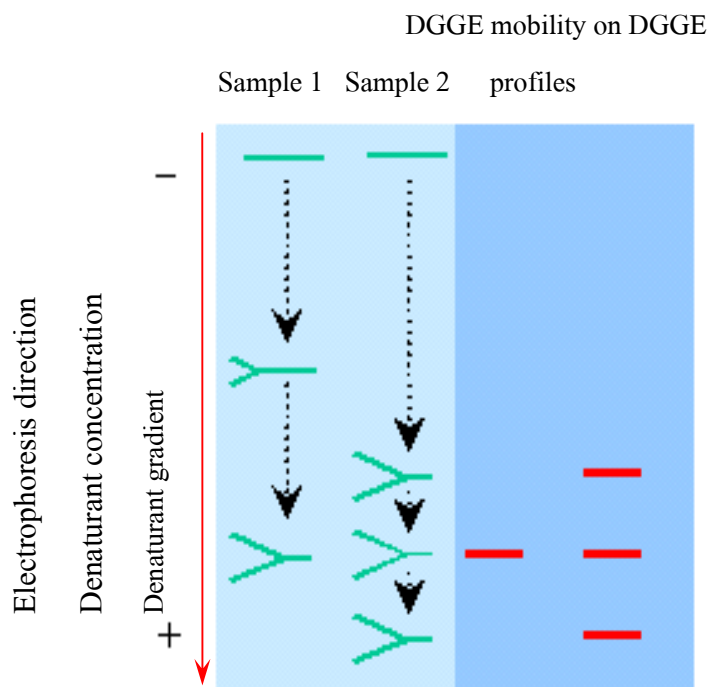
ขั้นตอนที่ 3 Extension เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ต่อจากส่วนปลาย 5' ของไพรเมอร์ตามข้อมูลบนดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบแต่ละสาย โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลิเมอเรสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผลจากปฏิกิริยาการสังเคราะห์จะทำให้ได้ดีเอ็นเอสายใหม่ ซึ่งมีไพรเมอร์เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย ขั้นตอนนี้จะใช้อุณหภูมิประมาณ 72-75 °ซ เพราะเป็นช่วงที่อุณหภูมิทำงานได้ดีที่สุด

จากขั้นตอนที่ 1 ถึง 3 นับเป็นจำนวน PCR 1 รอบ (One cycle) และได้ผลิตเป็นดีเอ็นเอสายใหม่ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอต้นแบบ โดยจะเพิ่มดีเอ็นเอขึ้นแบบทวีคูณ (Exponential) เมื่อเกิดปฏิกิริยาถูกซ้ำจากขั้นที่ 1 ถึง 3 หมุนเวียนไปอีกหลายรอบก็จะเพิ่มปริมาณ

ดีเอ็นเอได้อีกมากมาย และถ้าทำกระบวนการนี้ 20 รอบก็จะสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ไม่น้อยกว่า 100,000 เท่า อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติแล้วผลผลิตทาง PCR ที่เกิดขึ้นจะต่ำกว่าค่าทางทฤษฎี เพราะเกิดการจับคู่กันเองระหว่างผลผลิตที่เกิดขึ้น และความเข้มข้นของเอนไซม์ดีเอ็นเอ โพลีเมอเรส ที่ลดลงระหว่างการทำกระบวนการ PCR

2.11.3 การวิเคราะห์ชิ้นจาก PCR โดยเทคนิคภาพพิมพ์พันธุกรรม

เทคนิค DGGE ได้ถูกนำมาใช้ในการบ่งบอกถึงความหลากหลายของยีนในประชากรแบคทีเรียตามความแตกต่างของลำดับเบสบนชิ้นส่วนดีเอ็นเอ โดยใช้หลักการการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอสายคู่ (Double-strand DNA) ในตัวกลางสำหรับการแยกด้วยกระแสไฟฟ้าที่เป็น โพลีอะคริลาไมด์เจล (polyacrylamide gel) ที่ถูกให้ความร้อนและมีการผสมด้วยสารเคมีที่สามารถทำลายพันธะในคู่สายดีเอ็นเอ (DNA denaturant) ซึ่งเป็นสารผสมของยูเรีย (urea) และฟอร์มามาไมด์ (formamide) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันจากน้อยไปมาก (Denaturant gradient) เมื่อโมเลกุลดีเอ็นเอ ซึ่งมีลำดับเบสต่างกันวิ่งผ่านในเจล พันธะในโมเลกุลของดีเอ็นเอจะถูกทำลายด้วยสารเคมีผสมในรูปแบบที่แตกต่างกัน โดยดีเอ็นเอที่มีความแข็งแรงของพันธะมากจะเสถียรภาพได้เมื่อสัมผัสกับยูเรียความเข้มข้นสูง ทำให้ดีเอ็นเอแต่ละชิ้นมีการเคลื่อนที่บนเจลด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยูเรียที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นตามระยะทางบนเกรเดียนต์เจลดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 ไคอะแกรมแสดงการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสแตกต่างกันบน โพลีอะคริลาไมด์เจล

ตารางที่ 2.7 ตัวอย่างของดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์แบคทีเรียโดยวิธี
PCR-DGGE (สุทธาศินี อ่วมจันทร์, 2546)

Primer	ใช้สำหรับ	ที่มา
Primer PARCH340f (5'-CCCTACGGGG(C/T)GCA (G/C)CAG-3')	Archaea, V3 region	Ovreas และคณะ, 1997
Primer PARCH519r (5'-TTACCGCGGC(G/T)GCTG-3')		
Primer PRBA338f + GC clamp (5'-CGCCCGCCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGCG GGGGCACGGGGGACTCCTACGGGAGGCA GCAG-3')	Bacteria, V3 region	Lane, 1991 อ้าง (ถึงโดย Ovreas และคณะ, 1997)
Primer PRUN518r (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')	Universal, V3 region	Muyzer และคณะ 1993 (อ้างถึงโดย Ovreas และคณะ, 1997)
Primer 2 (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')	Bacteria	Rowan และคณะ, 2003
Primer 3 (5'-CGCCCGCCGCGCGGGCGGGGCGGGGCGGGG GCACGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG-3')		
Primer 341f + GC clamp (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3')	Bacteria	Labbe และคณะ, 2003
Primer 534r (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') (250 bp)		
Primer 1055f (5'-TGGCTGTCGTCAGCT-3') GC clamp primer 1392r (5'-CGCCCGCCGCGCCCCGCGCCCGGCC GCCGCCCCGCCACGGGCGGTGTGTAC-3')	Universal bacteria	Tal และคณะ, 2003

จากเหตุผลที่เทคนิค DGGE สามารถนำมาใช้วิเคราะห์องค์ประกอบชนิดหรือประชากร (Community) ของแบคทีเรียในธรรมชาติได้เป็นอย่างดี จึงมีการนำเทคนิค DGGE มาใช้ในการศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียมากขึ้น ดังสรุปในตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 ตัวอย่างของงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับความหลากหลายของแบคทีเรียในระบบแอโรบิก/แอนอ็อกซิกโดยวิธี PCR-DGGE (สุทธาศินี อ่วมจันทร์, 2546)

สภาวะการศึกษา	เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์	แบคทีเรียชนิดเด่นที่พบ	ที่มา
Nitrifying granules ใน aerobic upflow fluidized bed (AUFB) reactor		<i>Nitrosomonas</i> -like bacteria	Tsuneda และคณะ, 2003
ถังปฏิกรณ์ไนตริฟิเคชัน บำบัดน้ำเสียโรงงานสภาวะออกซิก ประเทศสวีเดน	ใช้เทคนิค FISH ในการวิเคราะห์แบคทีเรีย	<i>Nitrospira</i> sp. <i>Nitrosomonas communis</i> <i>Nitrosomonas oligotropha</i> <i>Nitrosomonas europaea</i> <i>Nitrosomonas eutropha</i>	Egli และคณะ, 2003b
Rotating biological contactor biofilm บำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีแอมโมเนียสูง	ใช้เทคนิค FISH ในการวิเคราะห์แบคทีเรีย	<i>Nitrosomonas europaea</i> <i>Nitrosomonas eutropha</i> <i>Nitrospira</i> sp. <i>Cytophaga</i> <i>Flavobacterium</i> - <i>Bacteroides</i> (CFB) <i>Candidatus Kuenenia stuttgartiensis</i>	Egli และคณะ, 2003a
Anaerobic bed reactor บำบัด metallurgic salt wastewater		<i>Colwellia</i> sp. <i>Halomonas</i> group <i>Cytophaga-Flavobacterium</i> <i>Pseudomonas</i> sp.	Yoshie และคณะ, 2001
Sludge granule anaerobic ใน UASB reactor	ใช้การวิเคราะห์ทางชีวเคมี	<i>Methanosaeta concilii</i> <i>Methanobacterium</i> strain AZ	Pol และคณะ, 2004

(หมายเหตุ FISH = Fluorescence in situ Hybridization)

2.12 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.12.1 การศึกษาอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดในระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ

Akunna และคณะ (1992) ศึกษาการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชันในการบำบัดแบบไร้อากาศ โดยศึกษาผลของอัตราส่วนของ COD/N-NO_x ในน้ำเสีย พบว่ากระบวนการดีไนตริฟิเคชันและการสร้างก๊าซมีเทนเกิดขึ้นได้ดีที่อัตราส่วน COD/N-NO_x ในช่วง 8.86 – 53 ส่วนกระบวนการสร้างก๊าซมีเทนจะเกิดขึ้นได้เพียงอย่างเดียวที่ COD/N-NO_x > 53 และเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชันเพียงอย่างเดียวที่ COD/N-NO_x < 8.86

Bilanovic และคณะ (1999) ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันในสถานะที่ไนเตรดมีความเข้มข้นสูง โดยใช้เมธานอล, โซเดียมอะซิเตตและน้ำเสียจากระบบการหมักแบบไร้อากาศเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อทำการเปรียบเทียบกัน พบว่าสามารถบำบัดไนเตรดได้ 0.486 กรัม NO₃⁻-N/กรัม VSS./วัน นอกจากนี้การใช้อะซิเตตและน้ำเสียจากการหมักแบบไร้อากาศเป็นแหล่งคาร์บอนจะไม่เกิดสารประกอบไนไตรต์

Ying และ Ming (2003) ศึกษาค่า COD/Nitrate ที่เหมาะสมในการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน พบว่าการใช้ในเทรตที่ความเข้มข้น 25, 50, 100, 200 มก./ล. จะประเมินค่า C/N ได้เท่ากับ 5.5 ± 0.2, 4.5 ± 0.2, 4 ± 0.2 และ 2.6 ± 0.2 ตามลำดับ

Franco และคณะ (2006) ศึกษาการสร้างเม็ดตะกอนโดยการใช้ภาระบรรทุกอินทรีย์สูงในระบบ USB ซึ่งใช้ถังปฏิกรณ์ขนาด 0.8 ลิตร จำนวน 3 ชุด ทดลองเปรียบเทียบกัน โดยแบ่งสถานะที่ทำการศึกษาออกเป็น 3 สถานะที่ 1 ทำการเดินระบบเป็นจังหวะแบบที่มีการหมุนเวียนกลับน้ำ ถังที่ 2 ทำการเดินระบบแบบเป็นจังหวะที่ไม่มีการหมุนเวียนน้ำกลับ และถังที่ 3 ทำการเดินระบบแบบต่อเนื่องตลอดเวลาไม่มีการหมุนเวียนน้ำกลับ ซึ่งใช้โซเดียมไนเตรดและกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้ภาระบรรทุกอินทรีย์เท่ากับ 67.5 กก.-ซีโอดี/ลบ.-วัน และภาระบรรทุกทุกไนเตรดเท่ากับ 11.25 กก.ไนเตรดไนโตรเจน/ลบ.-วัน พบว่าในถังที่ 3 เกิดการสะสมของแอมโมเนียและไนไตรต์ และเมื่อมีภาระบรรทุกสูงขึ้นจะเกิดการหลุดของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบ ถังที่ 1 เกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชันถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และมีไนไตรต์ ในน้ำที่น้อย ถังที่ 2 สามารถกำจัดไนโตรเจนได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อภาระบรรทุกอินทรีย์สูงขึ้นไปถังที่ 3 จะเกิดการหลุดของตะกอนจุลินทรีย์ในระบบ ในขณะที่ถังที่ 1 และ 2 พบว่าตะกอนเกิดการจับตัวกันเป็นเม็ดขนาดเล็ก และมีประสิทธิภาพการทำงานที่ดี

Ruiz และคณะ (2006) ศึกษาการประยุกต์ใช้แบคทีเรียชนิดดีไนตริฟายอิง และเมธานเจนนิคในการบำบัดน้ำเสียในระบบ USB เพื่อศึกษาผลกระทบของค่า COD/N โดยกำหนดค่า COD/N ออกเป็น 0 1 5 10 และ 100 ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าถ้าค่า COD/N ต่ำจะเกิด

ดีไนทรีฟายอิงเพิ่มขึ้น และถ้าค่า COD/N สูงจะเกิดเมธาโนเจนิกเพิ่มขึ้นตาม แต่ถ้าค่า COD/N ที่ 5 หรือน้อยกว่าจะทำให้ตะกอนตกตะกอนได้น้อยและประสิทธิภาพในการทำงานลดลง เนื่องจากมี สลัดจ์หลุดออกจากระบบ ซึ่งถ้าใช้ค่า COD/N มากกว่า 10 จะทำให้สลัดจ์ตกตะกอนได้ดี

2.12.2 การศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบไร้อากาศ

Yoshie และคณะ (2001) ศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในกระบวนการ ดีไนทรีฟิเคชันของน้ำเสียด้วยเทคนิค PCR-DGGE พบว่าจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกระบวนการดีไนทรี ฟิเคชันคือ *γ-Proteobacteria* และ *Halomonadaceae*

Keyser และคณะ (2005) ศึกษาลักษณะของเมธาโนเจนในระบบยูเอเอสบี 3 ชนิด ที่มี แหล่งคาร์บอนที่ต่างกันคือ น้ำเสียจากโรงงานผลิตเบียร์ โรงงานผลิตเหล้าองุ่น และโรงงานปลา กระป๋อง โดยใช้เทคนิค PCR-DGGE ในการวิเคราะห์ พบว่าเมธาโนเจน ประกอบด้วยแบคทีเรีย สายพันธุ์ต่างๆดังนี้ *Methanosaeta concilii*, *Methanosaeta thermophila*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanosarcina mazeii* และ *Methanobacterium formicicum*

Emiliano และคณะ (2006) ศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในตะกอนเมื่อดจาก ระบบยูเอเอสบีที่บำบัดน้ำเสียจากไวน์ ด้วยเทคนิค FISH และ PCR-DGGE พบว่าจุลินทรีย์ คือ Firmicutes Nitrospira และ Deferribacteres

Nuria และคณะ (2007) ศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในกระบวนการดีไนทรีฟิเคชัน ของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์ ด้วยเทคนิค FISH และ PCR-DGGE พบจุลินทรีย์กลุ่ม *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Chloroflexi* และ *Bacteroidete*

Parkes และคณะ (2007) ศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียในตะกอนดินทะเลของ Skagerrak (Denmark) โดยใช้ตะกอนดินที่ความลึก 0.25 0.99 1.39 1.86 2.43 2.99 และ 3.8 เมตร ใน การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรีย ด้วยเทคนิค PCR-DGGE โดยทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในช่วง สายของ 16S rRNA ซึ่งพบกลุ่มแบคทีเรียคือ *Gammaproteobacteria*, *Spirochaetes*, *Chloroflexi*, *Deltaproteobacteria*, *JS* และ *OP8*

Jian และคณะ (2008) ศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียในชั้นตะกอนดินของแม่น้ำ Guanting Reservoir (China) ด้วยเทคนิค PCR-DGGE โดยทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในช่วงสายของ 16S rDNA ซึ่งแยกตามความลึกของชั้นตะกอนดินพบกลุ่มแบคทีเรียคือ ความลึกที่ 5 และ 35 เซนติเมตร พบแบคทีเรียกลุ่ม *Acidobacteria* ในปริมาณน้อย แต่ที่ความลึกที่ 69 เซนติเมตร จะพบ *Acidobacteria* และที่ความลึกที่ต่ำกว่า 35 เซนติเมตร พบแบคทีเรียกลุ่ม *Nitrospirae* นอกจากนี้ที่ ระดับความลึกของชั้นตะกอนดินต่างๆ ยังพบแบคทีเรียกลุ่มอื่นๆ คือ *Actinobacteri*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicute*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospirae*, *Proteobacteria* และ *Verrucomicrobia*

บทที่ 3

แผนการทดลองและการดำเนินการวิจัย

3.1 แผนการทดลอง

งานวิจัยนี้ในช่วงของการดำเนินการทดลองในถังปฏิกริยาทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี โดยเป็นการศึกษาเปรียบเทียบกันระหว่างถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีจำนวน 3 ชุด ในการบำบัดน้ำเสียที่มีไนเตรต และในช่วงหลังซึ่งเป็นการศึกษาความหลากหลายของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกริยา ดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการทางพันธุวิศวกรรม ศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยสามารถแบ่งการทดลองทั้งหมดออกเป็น 3 ชุดดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่มีผลต่อการบำบัดไนเตรตในระบบยูเอเอสบี โดยการทดลองมีการกำหนดค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตออกเป็น 3 ระดับคือ 2:1 5:1 และ 8:1 ซึ่งถือว่าเป็นอัตราส่วนที่น้อย เพียงพอ และมากเกินไป สำหรับการเกิดปฏิกริยาดีไนตริฟิเคชันที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนตามสมการการที่ (1) และทำการควบคุมตัวแปรต่างๆ สำหรับการศึกษาดังตารางที่ 3.1



ชุดการทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาอิทธิพลของภาระบรรทุกไนเตรตไนโตรเจนที่มีผลต่อการเดินระบบยูเอเอสบี โดยทำการทดลองหลังจากการทดลองชุดที่ 1 เข้าสู่สภาวะคงตัวและสามารถบำบัดไนเตรตได้ตามอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่กำหนดไว้ ดำเนินการแปรผันค่าระยะเวลาเก็บน้ำเสียในถังปฏิกรณ์ทั้ง 3 ชุด ออกเป็น 3 ระดับคือ 12 8 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งแสดงการกำหนดตัวแปรควบคุมต่างๆ ดังตารางที่ 3.2 โดยในการทดลองทำการเปลี่ยนระยะเวลาเก็บน้ำเสียในแต่ละช่วงเวลาต่างๆ เมื่อแต่ละถังปฏิกรณ์เข้าสู่สภาวะคงตัวแล้วเท่านั้น

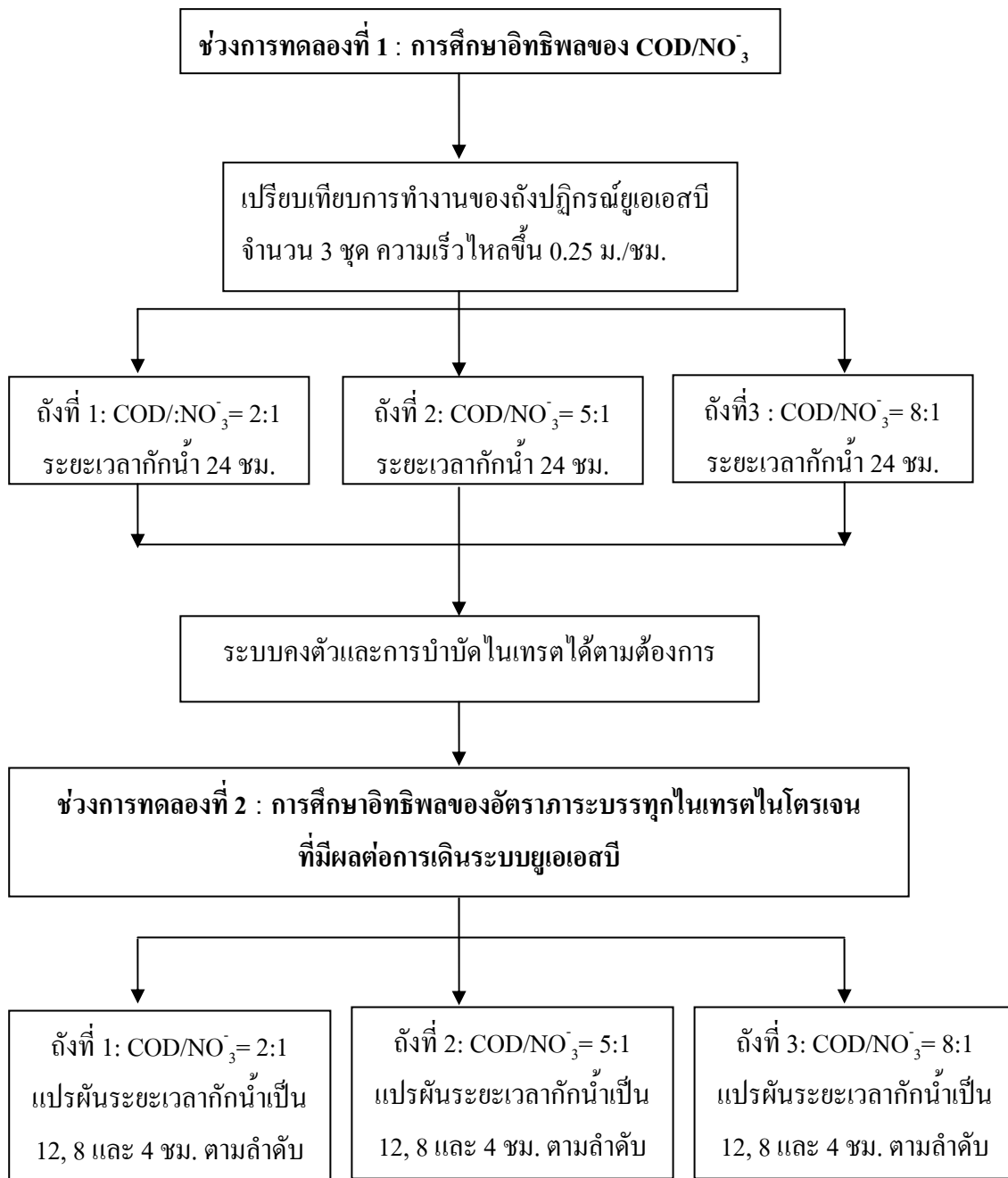
การทดลองชุดที่ 3 เป็นการศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีด้วยเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุล โดยการนำตัวอย่างตะกอนสลัดจ์จากชุดการทดลองที่ 1 และ 2 มาทำการสกัดแยกดีเอ็นเอรวม ทำการเพิ่มจำนวนยีนในช่วงสายของ 16S rDNA วิเคราะห์ยีนที่ทำการเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR-DGGE และหาความสัมพันธ์ของลำดับเบสของยีน 16S rDNA ที่ได้ และแจกแจงชนิดของจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่นำมาทดสอบ (Phylogenetic Relationship) โดยการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล (Database) ที่มีเก็บรวบรวมไว้

ตารางที่ 3.1 แสดงตัวแปรต่างๆ และแผนการแปรค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตต่างๆ ที่ระยะเวลา
กักเก็บน้ำเสีย 24 ชั่วโมง ในชุดการทดลองที่ 1

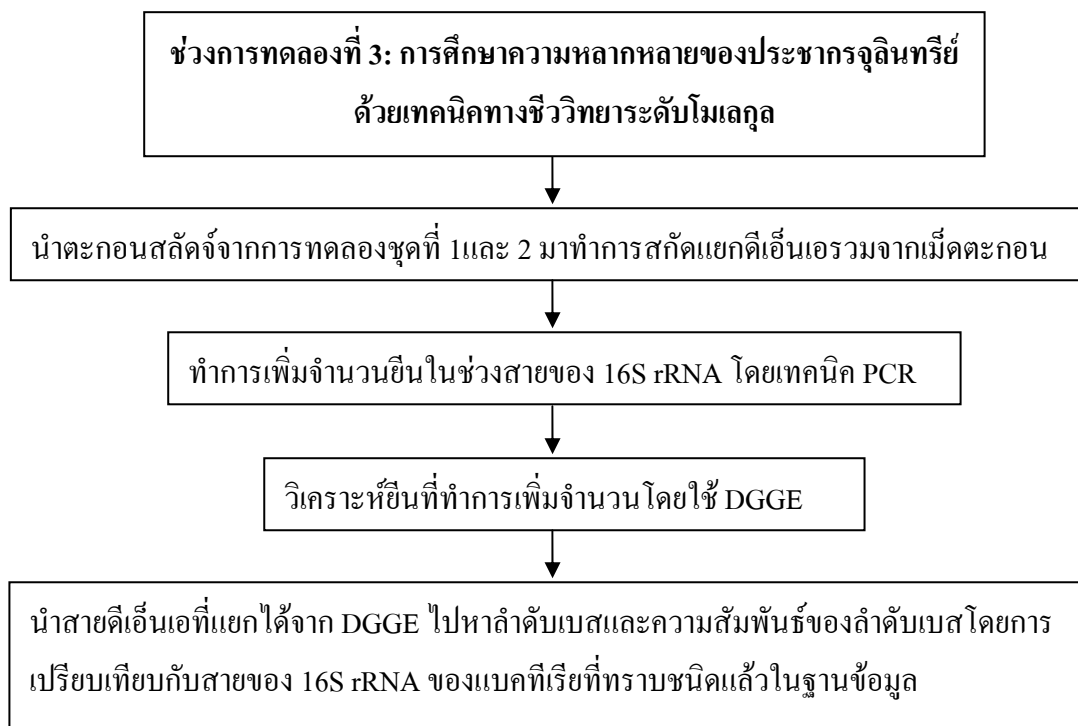
COD/NO ₃ ⁻	ระยะเวลาเก็บน้ำ เสีย (ชม.)	ภาระบรรทุก อินทรีย์ (kg.COD/m ³ -d)	ภาระบรรทุก ไนเตรตไนโตรเจน (kg.NO ₃ ⁻ -N/m ³ -d)	ความเร็วไหลขึ้นในถัง ปฏิกรณ์ (ม/ชม)	อัตราการป้อน น้ำเสีย (ลิตร/วัน)	อัตราสูบน้ำ เวียนกลับ (ลิตร/วัน)
2:1	24	0.2	0.1	0.25	13.8	8.8
5:1	24	0.5	0.1	0.25	13.8	8.8
8:1	24	0.8	0.1	0.25	13.8	8.8

ตารางที่ 3.2 แสดงตัวแปรต่างๆ และแผนการแปรผันค่าระยะเวลาเก็บน้ำเสียต่างๆ ในชุดการ
ทดลองที่ 2

COD/NO ₃ ⁻	ระยะเวลาเก็บน้ำ เสีย (ชม.)	ภาระบรรทุก อินทรีย์ (kg.COD/m ³ -d)	ภาระบรรทุก ไนเตรตไนโตรเจน (kg.NO ₃ ⁻ -N/m ³ -d)	ความเร็วไหลขึ้นในถัง ปฏิกรณ์ (ม/ชม)	อัตราการป้อน น้ำเสีย (ลิตร/วัน)	อัตราสูบน้ำ เวียนกลับ (ลิตร/วัน)
2:1	12	0.4	0.2	0.25	27.6	17.6
	8	0.6	0.3	0.25	41.4	26.4
	4	1.2	0.6	0.25	82.8	52.8
5:1	12	1.0	0.2	0.25	27.6	17.6
	8	1.5	0.3	0.25	41.4	26.4
	4	3.0	0.6	0.25	82.8	52.8
8:1	12	1.6	0.2	0.25	27.6	17.6
	8	2.4	0.3	0.25	41.4	26.4
	4	4.8	0.6	0.25	82.8	52.8



รูปที่ 3.1 แผนภาพสรุปการทดลองชุดที่ 1 และ 2



รูปที่ 3.2 แผนภาพสรุปการทดลองชุดที่ 3

3.2 วิธีการเตรียมน้ำเสีย

น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมขึ้นด้วยการใช้น้ำตาลทรายเป็นแหล่งคาร์บอน โดยเปรียบเทียบเป็นปริมาณค่าซีโอดีเพื่อให้ได้สัดส่วนซีโอดีต่อไนเตรดตามอัตราส่วนที่กำหนด และเติมไนเตรดให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 มก./ล. ในรูปของโซเดียมไนเตรด ทำการเติมธาตุอาหารเสริมเพื่อการเจริญเติบโตและดำรงชีวิตของแบคทีเรียในระบบตามสูตรอาหารเสริมของ Speece (1996) แสดงดังในตารางที่ 3.3 และเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตเพื่อเป็นบัฟเฟอร์ให้กับระบบเพื่อการรักษาระดับพีเอชให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม

สำหรับการเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์จะเป็นการเตรียมใหม่ทุกวัน นำมาเติมอาหารเสริมที่มีการเตรียมเก็บไว้ในรูปสารละลายเพื่อใช้ที่ความเข้มข้น 20 เท่า (20x Stock solution) โดยเมื่อถึงระยะเวลาที่กำหนดจะทำการล้างทำความสะอาดถังพักน้ำเสียก่อนทำการผสมน้ำเสียสังเคราะห์ใหม่ตามอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดตามที่กำหนดไว้ ทั้งนี้เพื่อป้องกันปัญหาการหมักที่อาจเกิดขึ้นได้ในถังพักน้ำเสีย

ตารางที่ 3.3 สูตรอาหารเสริมสำหรับกระบวนการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศ (Speece, 1996)

ชนิดของสารเคมี	ความเข้มข้น (มก./ล.)	ชนิดของสารเคมี	ความเข้มข้น (มก./ล.)
NH ₄ Cl	400	NH ₄ VO ₃	0.5
MgSO ₄ ·7H ₂ O	400	CuCl ₂ ·2H ₂ O	0.5
KCl	400	ZnCl ₂	0.5
Na ₂ S·9H ₂ O	300	AlCl ₃ ·6H ₂ O	0.5
CaCl ₂ ·2H ₂ O	50	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.5
(NH ₄) ₂ HPO ₄	80	H ₃ BO ₃	0.5
FeCl ₂ ·4H ₂ O	40	NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.5
CoCl ₂ ·6H ₂ O	10	Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O	0.5
KI	10	Na ₂ SeO ₄	0.5
(NaPO ₃) ₆	10	NaHCO ₃	6000
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.5		

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

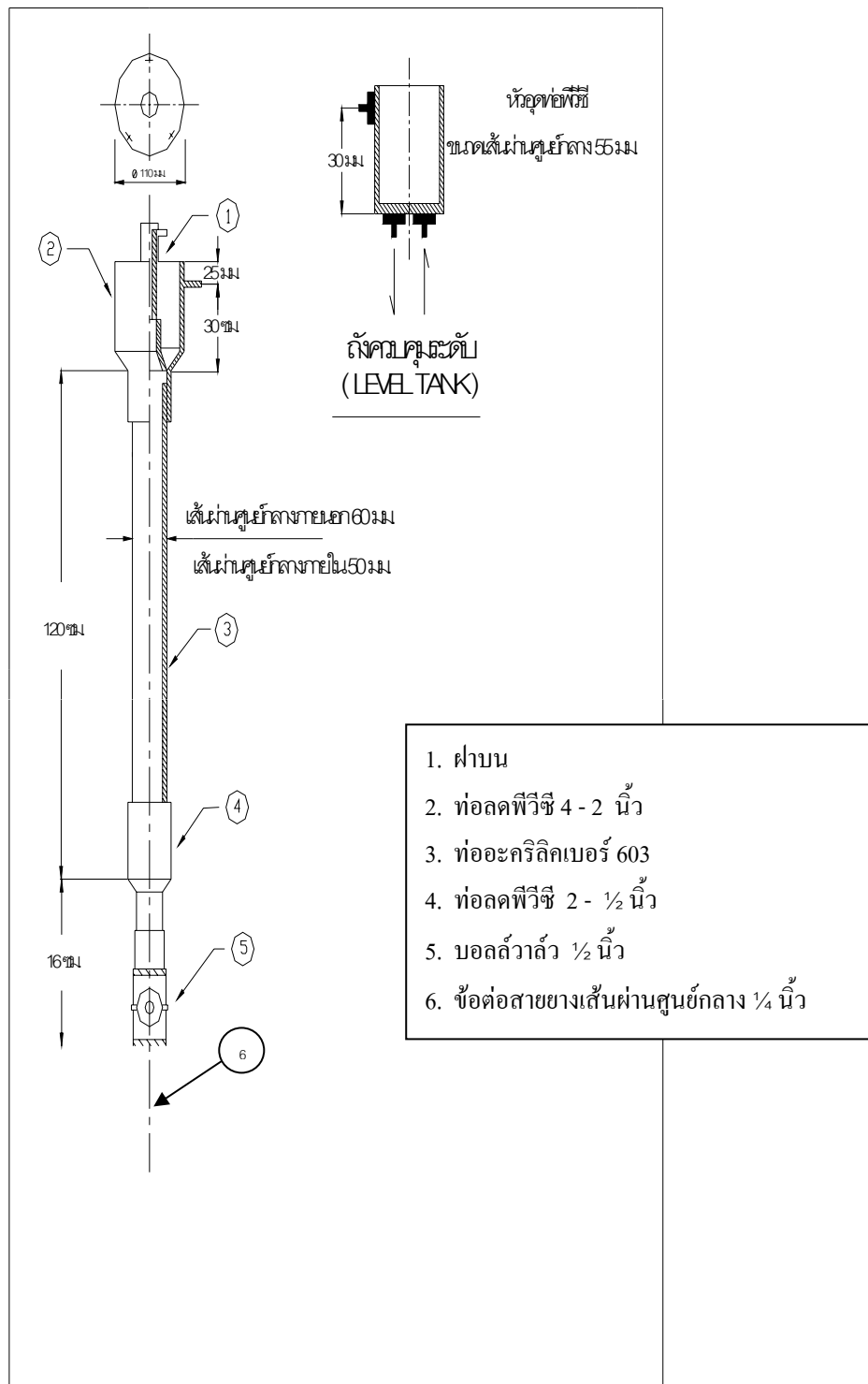
3.3.1 ถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีทำจากพลาสติกอะคริลิกใสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 5 ซม. ความสูง 120 ซม. มีปริมาตรส่วนทำปฏิกิริยาเท่ากับ 2.356 ลิตร ด้านบนมีชุดแยกก๊าซและส่วนตกตะกอนซึ่งทำจากอุปกรณ์ท่อพีวีซี ตามรูปที่ 3.3 จำนวน 3 ชุด

3.3.2 ถังน้ำเลียบ้อนเข้าสู่ระบบ ใช้ถังพลาสติกขนาด 15 ลิตร จำนวน 3 ถัง

3.3.3 เครื่องสูบน้ำ (Metering pump) จำนวน 3 ชุด

3.3.4 ถังควบคุมระดับ (Level tank) ทำจากหัวอุดท่อพีวีซีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 นิ้ว เจาะท่อน้ำเข้า-ออกที่ด้านข้าง และด้านล่างตามลำดับ เพื่อปล่อยน้ำเข้าสู่ระบบและเพื่อระบายน้ำ

3.3.5 หัวเชื้อจุลินทรีย์ (Seed) ตะกอนหัวเชื้อที่ใช้ในการทดลองได้มาจากถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีของบริษัทเสริมสุขจำกัด



รูปที่ 3.3 แบบแสดงรายละเอียดถึงอุปกรณ์ยูเอเอสบีที่ใช้ในการทดลอง

3.4 การติดตั้งอุปกรณ์และหลักการทำงาน

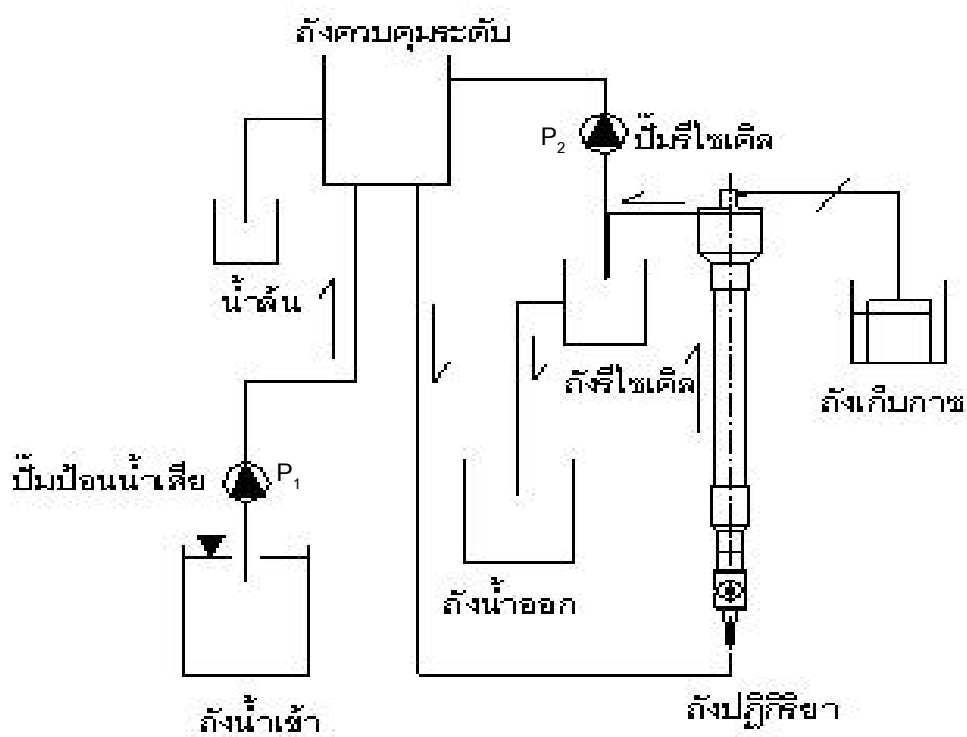
การติดตั้งอุปกรณ์และหลักการทำงานของระบบยูเอสบีที่ใช้ในการทดลองนี้แสดงดังรูปที่ 3.4 โดยมีรายละเอียดการทำงาน คือ

3.4.1 เครื่องสูบน้ำเสียเข้าระบบ (P_1) จะสูบน้ำเสียจากถังน้ำเข้าส่งไปยังถังควบคุมระดับระดับ เพื่อให้ น้ำเสียไหลเข้าสู่ถังปฏิกรณ์ทางด้านล่าง

3.4.2 น้ำที่จากถังปฏิกรณ์จะไหลเข้าสู่รีไซเคิลทางด้านบน และไหลลงสู่ถังน้ำออกต่อไป

3.4.3 เครื่องสูบน้ำรีไซเคิล (P_2) จะสูบน้ำที่จกถังรีไซเคิลไปยังถังควบคุมระดับเพื่อให้ น้ำไหลเข้าสู่ถังปฏิกรณ์อีกครั้ง

3.4.4 ก๊าซที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาในถังปฏิกรณ์จะผ่านอุปกรณ์แยกสามสถานะส่งไปยังถังเก็บก๊าซ



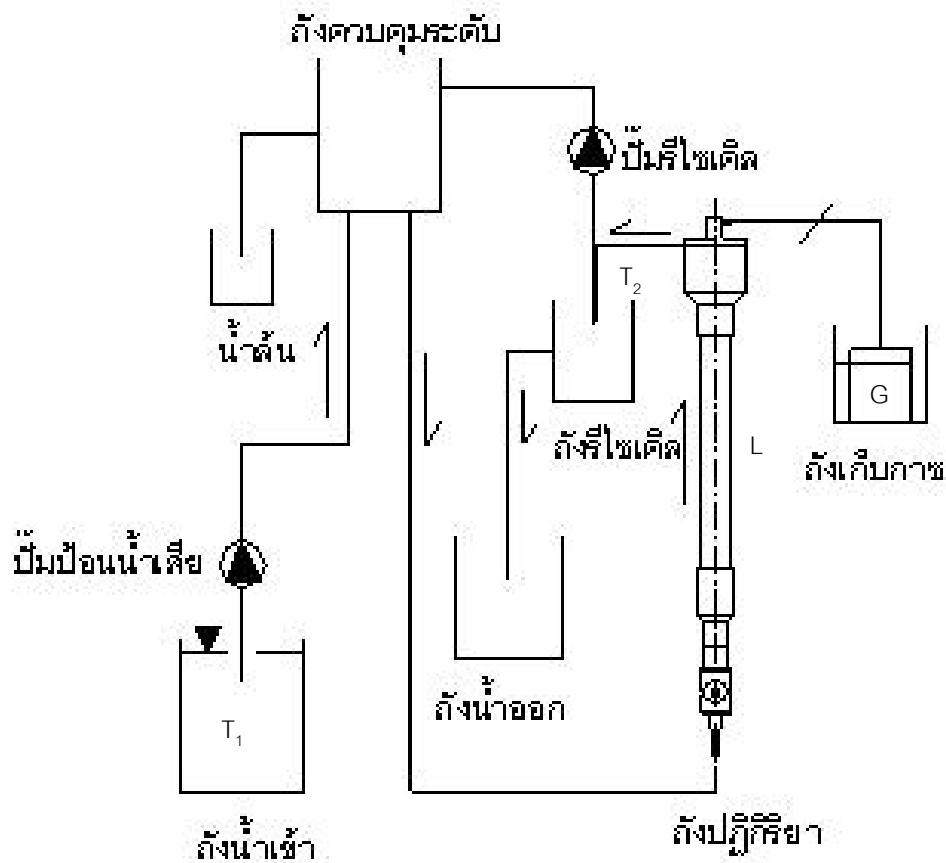
แผนผังการไหล

รูปที่ 3.4 แสดงแผนผังการไหลของระบบยูเอสบีที่ใช้ในการทดลอง

3.5 จุดเก็บตัวอย่าง

จุดเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอนจุลินทรีย์ และก๊าซสำหรับชุดการทดลองนี้มีด้วยกัน 4 จุด ดังแสดงด้วยรูป 3.5 ได้แก่

- 1) ถังน้ำเข้า (T_1)
- 2) จุดน้ำออกจากถังปฏิกรณ์ (T_2)
- 3) ท่อเก็บตัวอย่างตามความสูงของถังปฏิกรณ์ (L)
- 4) ถังเก็บก๊าซ (G)



รูปที่ 3.5 แสดงรายละเอียดจุดเก็บตัวอย่างในการทดลองนี้

3.6 พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์

ตารางที่ 3.4 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ต้องทำการวิเคราะห์ ความถี่ จุดเก็บตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ในการทดลองครั้งที่ 1, 2 และ 3

พารามิเตอร์	จุดเก็บตัวอย่าง	น้ำเสีย	ตะกอน	วิธีวิเคราะห์
pH/ORP	จุดน้ำเข้า, จุดน้ำออก ในถังปฏิกรณ์	A	-	Electronic pH/ORP Meter Method
COD	จุดน้ำเข้า, จุดน้ำออก	B		Closed Reflux Method
ไนไตรต์	จุดน้ำเข้า, จุดน้ำออก	B	-	Sulfanilamide-NED Method
Specific methanogenic activity	ในถังปฏิกรณ์	-	C	Methanogenic activity test
Specific denitrifying activity	ในถังปฏิกรณ์	-	C	Denitrification activity test
ของแข็งแขวนลอย	จุดน้ำออก	B	-	2450B Total Solids Dried at 103-105°C
ของแข็งแขวนลอยระเหยง่าย	จุดน้ำออก	B	-	2450E Fixed and Volatile Solids Ignited at 550°C
Alkalinity	จุดน้ำเข้า, จุดน้ำออก	B	-	Direct Titration Method
แอมโมเนีย	จุดน้ำเข้า, จุดน้ำออก	B	-	Direct Titration Method
ไนเตรท	จุดน้ำเข้า, จุดน้ำออก	B	-	Cadmium Reduction Method
Microscopic Examination	ในถังปฏิกรณ์	-	D	Scanning Electron Microscopic Method
Microbial Diversity	ในถังปฏิกรณ์	-	D	PCR-DGGE Analysis

หมายเหตุ A = ทุกวัน B = 3 ครั้ง/สัปดาห์ C = เมื่อเข้าสู่สภาวะคงตัวของแต่ละระยะเวลากักเก็บน้ำ
D = เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

3.7 ขั้นตอนการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ยูเอสบี

ในการทดลองนี้เลือกใช้เทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลในการศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในระบบ โดยการนำตัวอย่างตะกอนสลัดจ์ที่ต้องการศึกษามาทำการสกัดแยกดีเอ็นเอรวมของจุลินทรีย์ และทำการเพิ่มจำนวนยีนในช่วงสายของ 16S rDNA ด้วยเทคนิค PCR จากนั้นวิเคราะห์ความแตกต่างของยีนที่ทำการเพิ่มโดยการแยกด้วยไฟฟ้าบน โพลีอะคริลิไมด์เจลตามหลักการของ DGGE ซึ่งสารเคมีและอุปกรณ์ในการวิเคราะห์แสดงได้ดังตารางที่ 3.5 และ 3.6 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.5 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์

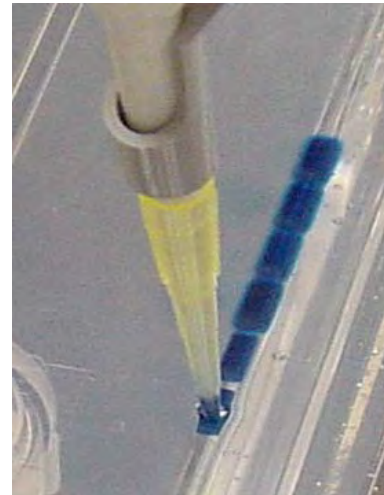
สารเคมีสำหรับสกัดดีเอ็นเอ	สารเคมีสำหรับ PCR	สารเคมีสำหรับ DGGE
1. โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์	1. 10x PCR buffer	1. 40% Acrylamide
2. MT buffer	2. dNTP mix	2. 50x TAE
3. PPS Reagent	3. Primer 357 forward	3. Formamide
4. Binding Matrix Suspension	4. Primer 518 reward	4. ยูเรีย
5. SEWS-M	5. Taq DNA Polymerase	6. APS
6. DES	6. Distill water	7. TEMED
	7. Template DNA	8. Dye solution

ตารางที่ 3.6 แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของจุลินทรีย์

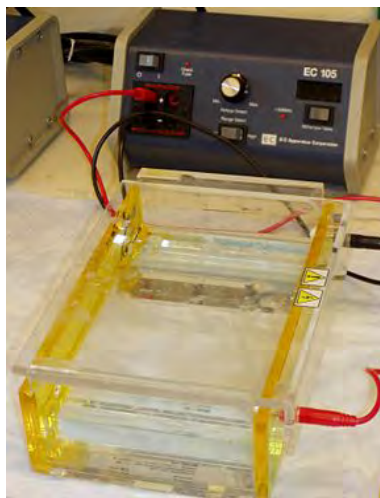
อุปกรณ์	ยี่ห้อ	รุ่น
1. ชุดอุปกรณ์สำเร็จรูปสำหรับการสกัดแยกดีเอ็นเอ (FastDNA SPIN kits for soil)	QBiogene ,Solon, Ohio, USA	-
2. เครื่องผสมสาร	Scientific Industries, Inc.	Vortex-Genie 2
3. เครื่องเขย้าสาร (Fast PREP Instrument)	Thermo Electron Corporation	Fast PREPTM FP 120
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง(Centrifuge)	Eppendorf	5804R
5. เครื่องควบคุมอุณหภูมิสำหรับทำ PCR	Thermo Electron Corporation	HB-PX-2220
6. เครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยไฟฟ้า (DNA Electrophoresis Gel Boxes)	Bioactive, Inc.	-
7. DGGE (D Code system)	Bio-Rad Laboratories, Inc.	-
8. เครื่อง UV Transilluminator Gel	Wealtec	Gel Dolphin-DOC



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

รูปที่ 3.6 แสดงเครื่องมือต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาดีเอ็นเอระดับโมเลกุล

(ก) เครื่อง PCR ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวน 16S rDNA

(ข) แสดงการ pipette ตัวอย่างดีเอ็นเอลงบนอะกาโรสเจล

(ค) เครื่อง Horizontal DNA Electrophoresis Gel Boxes ใช้ในการตรวจสอบดีเอ็นเอ
ด้วยวิธีการแยกด้วยไฟฟ้าบนอะกาโรสเจล

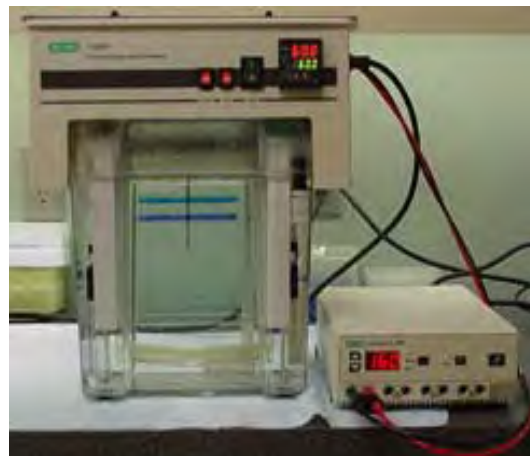
(ง) เครื่องถ่ายภาพดีเอ็นเอบนเจล (UV Transilluminator)



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 3.7 แสดงชุดอุปกรณ์และเทคนิคระดับโมเลกุลในการศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์

(ก) อุปกรณ์ชุด The Dcode™ Universal Mismatch Detection System, BIO-RAD

สำหรับการวิเคราะห์ DGGE

(ข) การเปิดตัวอย่างดีเอ็นเอลงบนเจล DGGE gel

(ค) การต่อชุดอุปกรณ์วิเคราะห์ DGGE

3.8 ขั้นตอนการวิเคราะห์ 16S rDNA ด้วยวิธี PCR- DGGE

สำหรับวิธีการต่างๆ โดยละเอียดที่ใช้ในการทดลองนี้ แบ่งออกได้เป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

3.8.1 การสกัดแยกดีเอ็นเอรวมของแบคทีเรียในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์

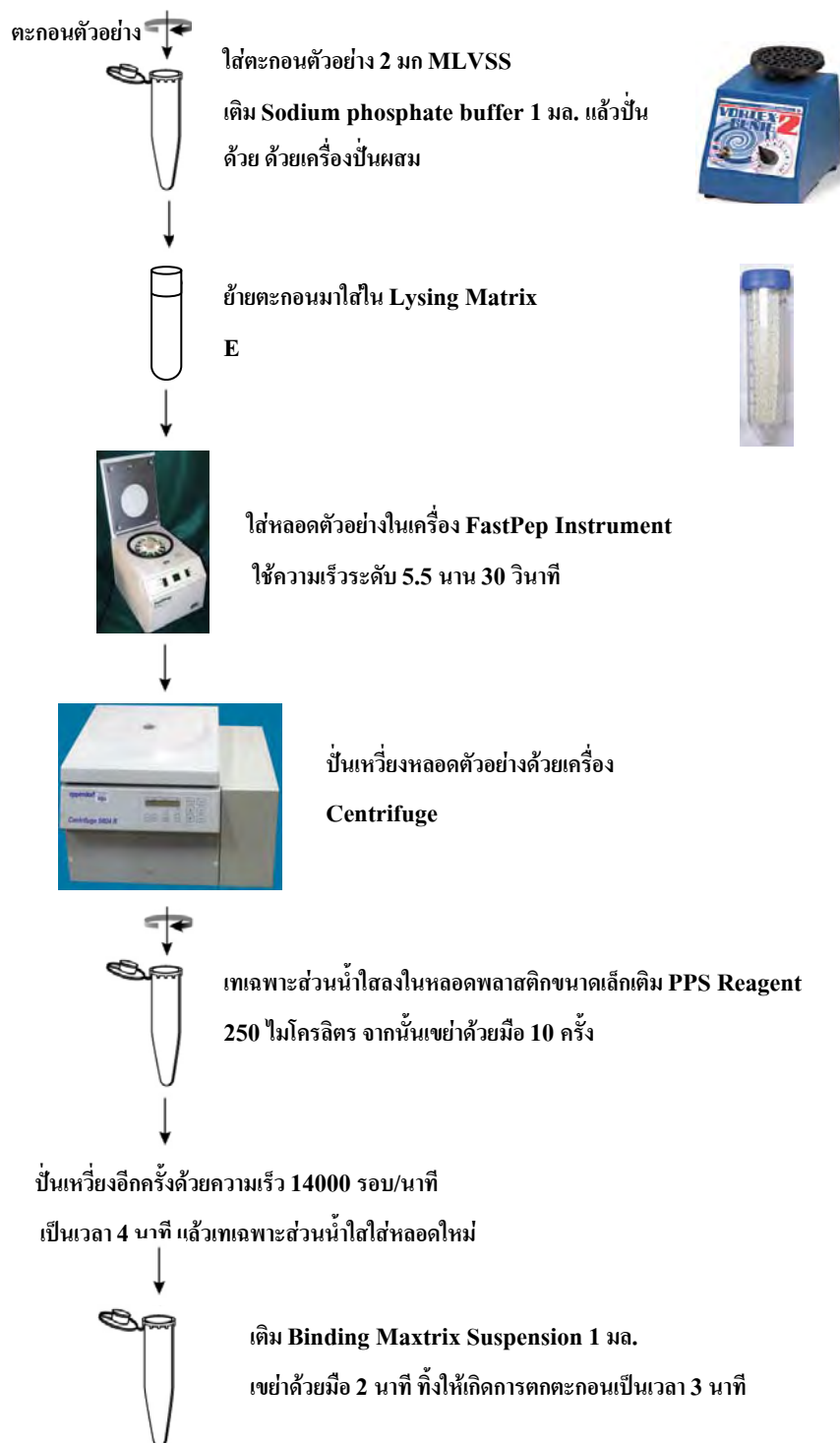
สำหรับงานวิจัยนี้ทำการสกัดแยกดีเอ็นเอรวมของแบคทีเรียจากตัวอย่างตะกอนที่เก็บจากถังปฏิบัติการยูเอเอสบีในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 โดยใช้ชุดสกัดแยกดีเอ็นเอสำเร็จรูป และดำเนินการตามวิธีที่ระบุโดยผู้ผลิตซึ่งมีรายละเอียดแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนดังนี้

3.8.1.1 ขั้นการสกัดแยกดีเอ็นเอออกจากตัวอย่าง คือการนำตะกอนตัวอย่างที่เก็บจากถังปฏิบัติการยูเอเอสบี 2 มก. เอ็มแอสวีเอสเอส มาใส่ลงในหลอดพลาสติกขนาดเล็ก (Eppendorf) แล้วเติมโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 มล. นำไปปั่นรวมด้วยเครื่องผสม (Vortex mixer) จนตัวอย่างและบัฟเฟอร์เข้ากันดีจึงทำการย้ายตะกอนตัวอย่างทั้งหมดมาใส่ลงในหลอด Lysin Matrix E ซึ่งมีลูกแก้วขนาดเล็กที่ช่วยในการทำให้เซลล์แตกและดีเอ็นเอหลุดออกจากตะกอนตัวอย่าง จากนั้นเติม MT buffer 122 ไมโครลิตร เขย่าหลอดตัวอย่างด้วยเครื่อง FastPep Instrument โดยใช้ความเร็วระดับ 5.5 เป็นเวลา 30 วินาที เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดจึงนำหลอดตัวอย่างไปปั่นที่ 14,000 รอบ/นาาที เป็นเวลา 4 นาที ด้วยเครื่องเหวี่ยง (Centrifuge) เพื่อให้เกิดการตกตะกอน ในที่สุดได้ดีเอ็นเอที่ละลายอยู่ในสารละลายที่แยกชั้นกับตะกอนตัวอย่าง

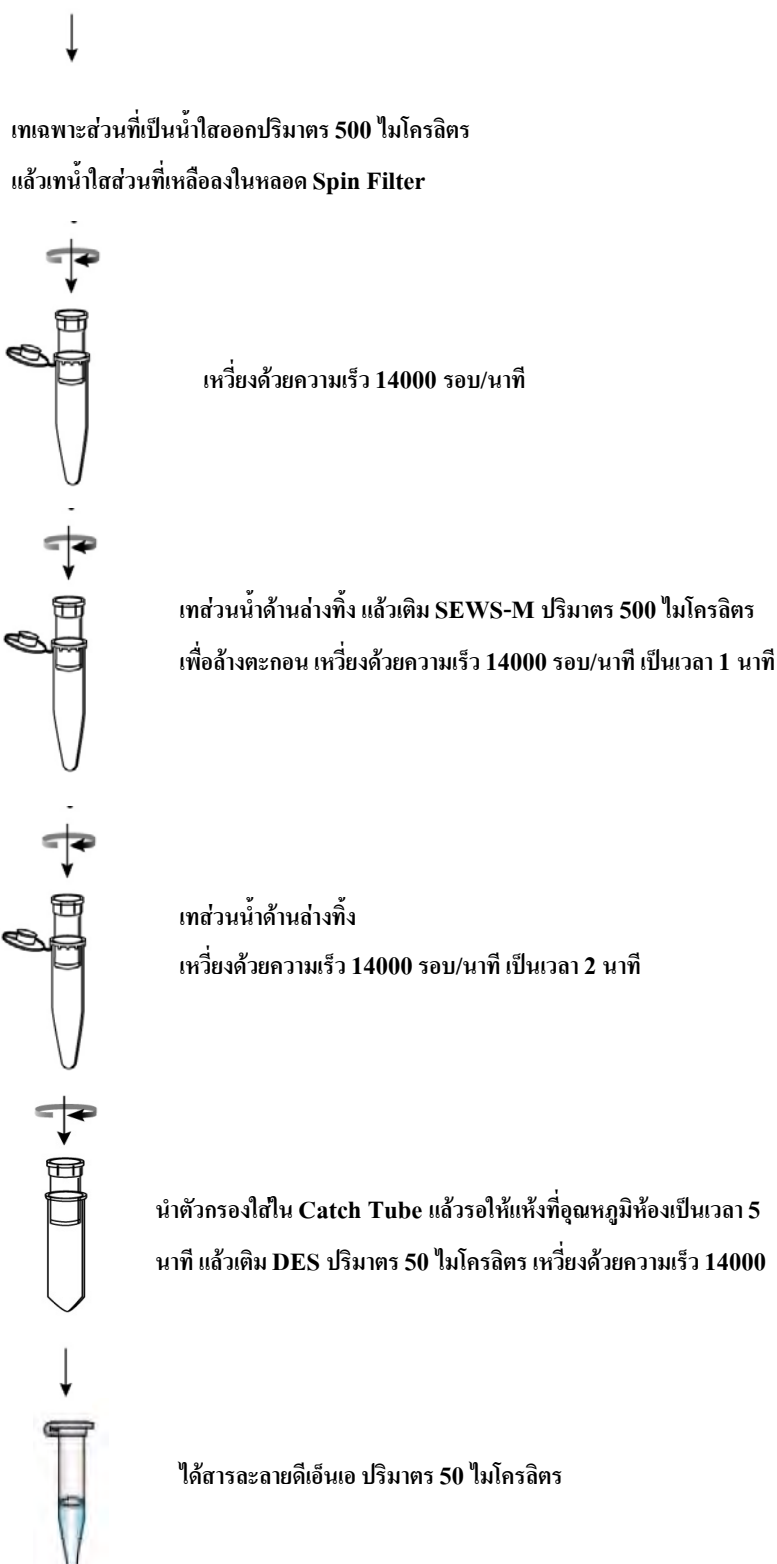
3.8.1.2 ขั้นการทำความสะอาดดีเอ็นเอที่แยกได้ โดยการเทเฉพาะส่วนน้ำใสที่ได้จากขั้นตอนข้างต้นลงในหลอดพลาสติกขนาดเล็ก เติม PPS Reagent 250 ไมโครลิตร ทำการเขย่าด้วยมือ 10 ครั้ง อย่างช้าๆ นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบ/นาาที เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นเทเฉพาะส่วนน้ำใสลงในหลอดใหม่ เติม Binding Maxtrix Suspension 1 มล. เขย่าด้วยมือเป็นเวลา 2 นาที และตั้งทิ้งไว้ให้เกิดการตกตะกอนเป็นเวลา 3 นาที จะได้ดีเอ็นเอที่อยู่ในรูปสารละลาย

3.8.1.3 ขั้นการชะดีเอ็นเอออกจากตัวกรอง คือการเทเฉพาะส่วนน้ำใสจากขั้นตอนข้างต้นทิ้งในปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วเทน้ำใสในส่วนที่เหลือลงในหลอด Spin Filter ซึ่งเป็นหลอดที่มีแผ่นกรองอยู่ด้านบนของหลอด จากนั้นนำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบ/นาาที เป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้เกิดการกรองดีเอ็นเอออกจากสารละลายโดยดีเอ็นเอจะติดอยู่บนแผ่นกรองส่วนสารละลายจะไหลลงสู่ด้านล่างของหลอด ให้เทสารละลายด้านล่างหลอดทิ้ง แล้วเติม SEWS-M 500 ไมโครลิตร เพื่อเป็นการล้างสิ่งปนเปื้อนที่ยังคงติดอยู่กับดีเอ็นเอให้สะอาด นำหลอดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบ/นาาที เป็นเวลา 1 นาที แล้วเทส่วนน้ำใสด้านล่างหลอดทิ้ง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งด้วยความเร็วรอบเดิม เป็นเวลา 2 นาที ทำการย้ายตัวกรองใส่ในหลอด Catch Tube ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติม DES

50 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบ/ นาที เป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้ดีเอ็นเอที่อยู่บนแผ่นกรองละลายและหลุดออกมาเก็บสารละลาย DES โดยสุดท้ายจะได้สารละลายดีเอ็นเอ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ซึ่งขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอทั้งหมดสามารถแสดงโดยย่อได้ดังแผนภาพในรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.8 ขั้นตอนการสกัดแยกดีเอ็นเอรวมจากตะกอนด้วย FastDNA SPIN kits



รูปที่ 3.8 ขั้นตอนแสดงการสกัดดีเอ็นเอรวมจากตะกอนสัลดัจด้วย
FastDNA SPIN Kit (ต่อ)

3.8.2 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของตัวอย่างดีเอ็นเอด้วยวิธีการแยกด้วยไฟฟ้า

นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่สกัดได้มาตรวจสอบโดยใช้ 2% อะกาโรสเจล ใน 1x TAE Buffer ทำการแยกด้วยไฟฟ้าในเครื่อง Horizontal DNA Electrophoresis Gel Boxes (Bioactive) โดยใช้ 1Kb DNA Ladder (BioLabs) เป็น DNA marker ทำการเดินระบบการแยกด้วยไฟฟ้า (Electrophoresis) โดยใช้แรงดันไฟฟ้า 110 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที หรือจนเห็นสีข้อมลงมาถึงประมาณ 2/3 ของเจล จากนั้นตรวจดูดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วย UV Transilluminator (Gel Dolphin-DOC, NV, USA)

3.8.3 การเพิ่มจำนวนยีนในช่วงสาย 16S rDNA ด้วยวิธี PCR

การเพิ่มจำนวนยีนในช่วงสาย 16S rDNA ในการทดลองนี้ดำเนินการโดยใช้ Taq PCR Polymerase (QIAGEN, Chatsworth, California, USA.) โดยในหนึ่งหลอดปฏิกิริยา (Reaction tube) จะประกอบด้วย PCR Buffer 10x 2.5 ไมโครลิตร, dNTPs 0.5 ไมโครลิตร, Primer 357f 0.625 ไมโครลิตร, Primer 518r 0.625 ไมโครลิตร, Taq DNA Polymerase 0.125 ไมโครลิตร, น้ำกลั่น 20.125 ไมโครลิตร, DNA Template 0.5 ไมโครลิตร คิดเป็นปริมาตรรวมของ 1 reaction เท่ากับ 25 ไมโครลิตร ซึ่งชุด Primer (Primer set) สำหรับ 16S rDNA ดังแสดงในตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.7 แสดงชุด Primer สำหรับ 16S rDNA ในการทดลอง

Primer	ลำดับเบสของ Primer
357 forward + GC clamp	5'-CGCCCGCCGCGCGCGCGGGCGGGGCG GGGGCPCGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG-3'
357 forward non GC clamp	5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3'
518 reward	5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'

สำหรับสภาวะของการเพิ่มจำนวนยีนด้วยเครื่อง PCR (Thermo Electron Corporation) มีโปรแกรมอุณหภูมิดังนี้

Initial denaturation	94° ซ	3 นาที	} 35 รอบ
Denaturing	94° ซ	0.3 นาที	
Annealing	53 ° ซ	0.3 นาที	
Extension	72 ° ซ	0.3 นาที	
Final Extension	72 ° ซ	10 นาที	
End	4 ° ซ		

ทำการตรวจสอบดีเอ็นเอที่ได้จากขั้นตอน PCR อีกครั้งด้วยวิธีแยกด้วยกระแสไฟฟ้าตามวิธีในข้อ 3.8.2

3.8.4 การวิเคราะห์ความแตกต่างของยีนด้วยเทคนิค DGGE

3.8.4.1 การเตรียมโพลีอะคริลาไมด์เจล

จากผลการทดลองเบื้องต้นพบว่าความเข้มข้นของยูเรียที่เหมาะสมสำหรับ denatured gel คือ 20% ถึง 60% ซึ่งการเตรียมเจล 8% polyacrylamide ที่มี 20%-60% urea denaturant ทำได้โดยการผสมสารละลาย 0% denaturing solution (40% acrylamide 20 มล., 50x TAE buffer 2 มล. เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มล.) เข้ากับสารละลาย 100% denaturing solution (40% acrylamide 20 มล., 50x TAE buffer 2 มล., Formamide 40 มล. และยูเรีย 42 กรัม เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มล.) เพื่อนำมาใช้เตรียม 20% denaturing solution (0% denaturing solution 12 มล. ผสมกับ 100% denaturing solution 3 มล.) และใช้เตรียม 60% denaturing solution (0% denaturing solution 6 มล. ผสมกับ 100% denaturing solution 9 มล. และเติม Dcode dye solution 100 ไมโครลิตร)

3.8.4.2 การทำเกรเดียนท์ของโพลีอะคริลาไมด์เจล

ประกอบชุดเกรเดียนท์ (รูปที่ 3.8 ก) เพื่อทำแผ่นเจลสำหรับ DGGE นำ 20 % denaturing polyacrylamide solution และ 60% denaturing polyacrylamide solution มาเติม 10% ammonium persulfate (ammonium persulfate 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น 1 มล.) ปริมาตร 90 ไมโครลิตร และเติม TEMED 9 ไมโครลิตร ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เจลเกิดการแข็งตัว ใช้หลอดฉีดยาดูด denaturing polyacrylamide solution ทั้งสองชนิดมาต่อเข้ากับอุปกรณ์การเตรียมเกรเดียนท์ จากนั้นหมุนวงล้อ เพื่อให้เครื่องมือทำการผสม denaturing polyacrylamide solution ทั้งสองชนิดเข้าด้วยกันในสัดส่วน ตั้งแต่ 0-100% ซึ่งจะทำให้เกิดอะคริลาไมด์เจลที่มีความเข้มข้นของ urea denaturant ตั้งแต่ 20-60 % จากนั้นเสียบหัวสำหรับเตรียมร่องบรรจุดีเอ็นเอแล้วทิ้งไว้ 5 ชั่วโมงเพื่อให้เจลแข็งตัวพอดี

3.8.4.3 การแยกดีเอ็นเอด้วยไฟฟ้าบนเกรเดียนท์เจล

นำชุดกระจกเจลประกอบเข้ากับเครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยไฟฟ้า ดึงหัวออกแล้วเติม 1x TAE buffer ปริมาตร 7 ลิตร ลงในถังของระบบแยกดีเอ็นเอด้วยไฟฟ้าเดินเครื่องปั๊ม หมุนเวียนบัฟเฟอร์และตัวทำความร้อน จนกระทั่งอุณหภูมิของบัฟเฟอร์เพิ่มขึ้นถึง 60 °ซ จึงทำการเติมตัวอย่าง 16S rDNA ลงในเจลโดยใช้ OX174 DNA Ladder เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน (รูปที่ 3.8 ข) เริ่มเดินเครื่องแยกดีเอ็นเอด้วยไฟฟ้าโดยใช้อุณหภูมิ 60 °ซ แรงดันไฟฟ้า 130 โวลต์ เวลาประมาณ 5 ชั่วโมง จากนั้นนำเจลออกจากกระจกและนำมาย้อมสีด้วยเอทธิเดียมโบรมไนด์ (ethidium bromide 1 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 15 มล) เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำมาตรวจสอบลักษณะเฉพาะในการแยกของเจลด้วยเครื่อง UV Transilluminator

3.8.5 การจำแนกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอบนเจล DGGE ด้วยวิธีหาลำดับเบส (DNA sequence)

ใช้ไบโอมิตคัตเตอร์ที่สะอาดตัดแถบ 16S rDNA แต่ละแถบจากเจลใส่ในหลอดพลาสติกขนาดเล็ก เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 50 ไมโครลิตร ให้ท่วมเจลจากนั้นนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °ซ เพื่อให้ดีเอ็นเอแพร่ออกมาจากเจล ทำการเพิ่มจำนวน 16S rDNA อีกครั้งตามขั้นตอน PCR ในหัวข้อ 3.8.3 จากนั้นนำดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้ไปตรวจวิเคราะห์ลำดับเบส

นำผลลำดับเบสที่ได้มาเปรียบเทียบกับความเหมือนกับลำดับเบสของฐานข้อมูล 16S rDNA ที่ระบุใน GenBank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) ด้วยโปรแกรม BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

3.8.6 การหาความสัมพันธ์ของลำดับเบสที่ได้และการแจกแจงชนิดของจุลินทรีย์ (Phylogenetic analysis)

นำผลการวิเคราะห์ลำดับเบสมาทำการสร้างต้นไม้แห่งวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) เพื่อวิเคราะห์สายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยโปรแกรม ARB (Department of Microbiology, Technische Universitat Munchen, Munich, Germany; [<http://www.arb-home.de>]) โดยการนำผลการเปรียบเทียบลำดับเบสจากฐานข้อมูล 16S rDNA ของการทดลองที่มีความยาว 166 bp ใส่ในโปรแกรมที่มีฐานข้อมูลของ ssu rRNA ซึ่งมีความยาวเบสอยู่ที่ 1000 bp เพื่อทำการจัดเรียงลำดับเบสเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่จัดไว้ในโปรแกรม

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 การดำเนินการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด ได้แก่ การศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนซีโอดี ต่อไนเตรดที่มีผลต่อการบำบัดไนเตรดในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี การศึกษาอิทธิพลของภาระบรรทุกไนเตรดไนโตรเจนต่อประสิทธิภาพการเดินระบบ และการศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี

การทดลองดำเนินการโดยออกแบบและติดตั้งถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีขนาดความจุ 5 ลิตรและสูง 120 ซม. จำนวน 3 ถัง เพื่อทำการทดลองเปรียบเทียบกัน ณ อุณหภูมิห้อง โดยน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมจากน้ำประปา ซึ่งมีการเติม โซเดียมไนเตรดเป็นแหล่งไนเตรดและน้ำตาลทรายเป็นสารอินทรีย์คาร์บอนในปริมาณที่กำหนด นอกจากนี้จะมีการเติมสารอาหารอื่น ๆ ที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอย่างครบถ้วนตามสูตรของ Speece (1996) หัวเชื้อที่ใช้ในการเริ่มเดินระบบเป็นตะกอนเม็ดจากระบบบำบัดแบบยูเอเอสบีของบริษัท เสริมสุข จำกัด ที่นำมาผ่านการปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนเติมลงในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบี โดยตะกอนเม็ดเริ่มต้นมีค่าเอสเอสเท่ากับ 9,700 มก./ลิตร วิเอเอสเท่ากับ 8,5000 มก./ลิตร และจากการวิเคราะห์ความสามารถจำเพาะของเม็ดจุลินทรีย์เริ่มต้นก่อนเริ่มการทดลองพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.348 กรัมซีโอดี- มีเทน/กรัมวิเอเอส-วัน

ในการทดลองชุดที่ 1 ทำการควบคุมระยะเวลาเก็บน้ำและปริมาณไนเตรดไนโตรเจนในถังปฏิกรณ์ทั้งสามให้คงที่ที่ 24 ชม. และ 100 มก./ล. และแปรผันปริมาณซีโอดีต่าง ๆ กัน 3 ระดับที่ 200 500 และ 800 มก./ล. โดยคิดเป็นอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดไนโตรเจนเท่ากับ 2:1 5:1 และ 8:1 ตามลำดับ เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของอัตราส่วนดังกล่าวต่อระบบ ส่วนการทดลองในชุดที่ 2 เป็นการศึกษาอิทธิพลของภาระบรรทุกไนเตรดที่มีผลต่อการเดินระบบ โดยเมื่อชุดการทดลองที่ 1 เข้าสู่สภาวะคงตัวและบำบัดไนเตรดได้ตามสัดส่วนที่กำหนดแล้วจึงทำการแปรผันค่าระยะเวลาเก็บน้ำเป็น 3 ระดับ คือ 12 8 และ 4 ชม. ในทุกอัตราส่วน โดยในระหว่างการทดลองได้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเสีย และตะกอนสลัดจ์จากทุกชุดการทดลองมาวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ทางเคมี ได้แก่ พีเอช ไออาร์พี สภาพความเป็นด่าง ซีโอดี ไนเตรด ไนไตรต์ แอมโมเนีย ของแข็งแขวนลอยของแข็งแขวนลอยระเหยง่าย ความสามารถของแบคทีเรียในการสร้างก๊าซมีเทน และความสามารถของแบคทีเรียในการสร้างก๊าซไนโตรเจน

สำหรับการศึกษาประชากรจุลินทรีย์กลุ่มเด่นและการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกันในเม็ดตะกอนยูเอเอสบีที่สภาวะต่างๆ ได้ทำการเก็บตัวอย่างเม็ดตะกอนสกัดจากถังปฏิกรณ์ในชุดการทดลองชุดที่ 1 และ 2 มาทำการตรวจสอบเบื้องต้นด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และอาศัยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมศาสตร์ในการสกัดแยกดีเอ็นเอรวมจากตัวอย่างตะกอน ทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในช่วงสายของ 16S rDNA ด้วยเทคนิค PCR และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของสายของดีเอ็นเอจากตัวอย่างด้วย DGGE จากนั้นนำไปหาลำดับเบสของ 16S rDNA ที่ได้ และทำการแจกแจงชนิดของจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่นำมาทดสอบ โดยการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีการเก็บรวบรวมไว้

ในช่วงก่อนเริ่มต้นการทดลองได้ทำการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีเป็นเวลา 2 เดือน เพื่อให้จุลินทรีย์เกิดความคุ้นเคยต่อสภาพแวดล้อมภายในระบบ โดยในระหว่างนี้จะมีการเก็บตัวอย่างน้ำและตะกอนจุลินทรีย์เพื่อนำไปวิเคราะห์และประเมินประสิทธิภาพของระบบจากการทดลองเริ่มต้น เพื่อเป็นข้อมูลในช่วงการปรับสภาพของจุลินทรีย์

ผลการทดลองที่ได้จะนำไปวิเคราะห์อธิบายและวิจารณ์ผลการทดลอง โดยจะแสดงผลการทดลองชุดที่ 1 และ 2 ร่วมกันเพื่อให้เข้าใจถึงผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อในเทรตและภาระบรรทุกอินทรีย์ในเทรตไนโตรเจนที่มีผลต่อการบำบัดซีโอดี ในเทรต รวมถึงประสิทธิภาพของระบบเมื่อมีการรบกวนระบบโดยในเทรตเกิดขึ้น ซึ่งผลการทดลองและการวิเคราะห์สามารถนำมาสรุปโดยจำแนกตามพารามิเตอร์ต่างๆ ดังนี้

4.2 ปัจจัยแวดล้อมที่เกิดขึ้นภายในถังปฏิกรณ์

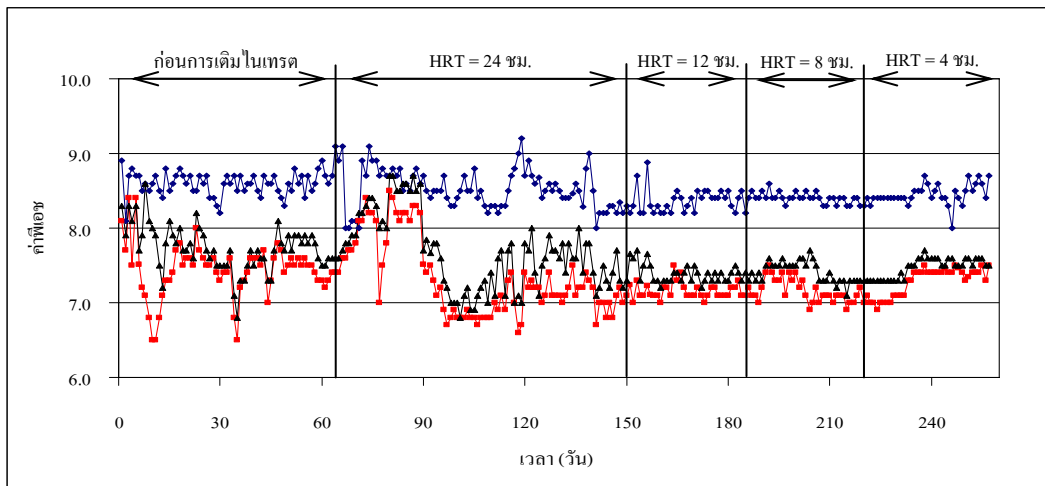
4.2.1 พีเอช

พีเอชของน้ำภายในถังปฏิกรณ์มีความสำคัญต่อระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศมาก เนื่องจากจุลินทรีย์จะสามารถทำงานได้ดีก็ต่อเมื่อทำการควบคุมพีเอชในระบบให้อยู่ในช่วงระหว่าง 6.6-7.6 (McCarty, 1964) ในงานวิจัยนี้จึงทำการควบคุมพีเอชให้อยู่ในช่วงดังกล่าว จากรูปที่ 4.1 พบว่าค่าพีเอชในช่วงก่อนการเติมในเทรตมีความผันแปรและมีแนวโน้มใกล้เคียงกันในทุกอัตราส่วนซีโอดีต่อในเทรตโดยเมื่อทำการเติมในเทรตที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 ชั่วโมง พบว่าพีเอชไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักเนื่องจากแบคทีเรียเกิดการปรับสภาพเพื่อให้คุ้นเคยกับสภาวะแวดล้อมที่มีแหล่งคาร์บอนที่ต่ำและสภาวะที่มีไนโตรเจนต่ำ โดยพีเอชเฉลี่ยของน้ำเสียเข้าระบบเท่ากับ 8.5 ± 0.14 พีเอชเฉลี่ยของน้ำในถังปฏิกรณ์เท่ากับ 7.2 ± 0.15 และพีเอชเฉลี่ยของน้ำที่ออกจากระบบเท่ากับ 7.5 ± 0.11 แต่เมื่อลดระยะเวลาพักเก็บน้ำเป็น 12 8 และ 4 ชั่วโมง ในทุกอัตราส่วนซีโอดีต่อในเทรต พบว่าพีเอชแสดงแนวโน้มในทางเดียวกันคือ พีเอชของน้ำเสียเข้าระบบมีค่ามากกว่าพีเอชของน้ำในถังปฏิกรณ์และพีเอชในน้ำที่ออกจากระบบ โดยพีเอชเฉลี่ยของน้ำเสียเข้า

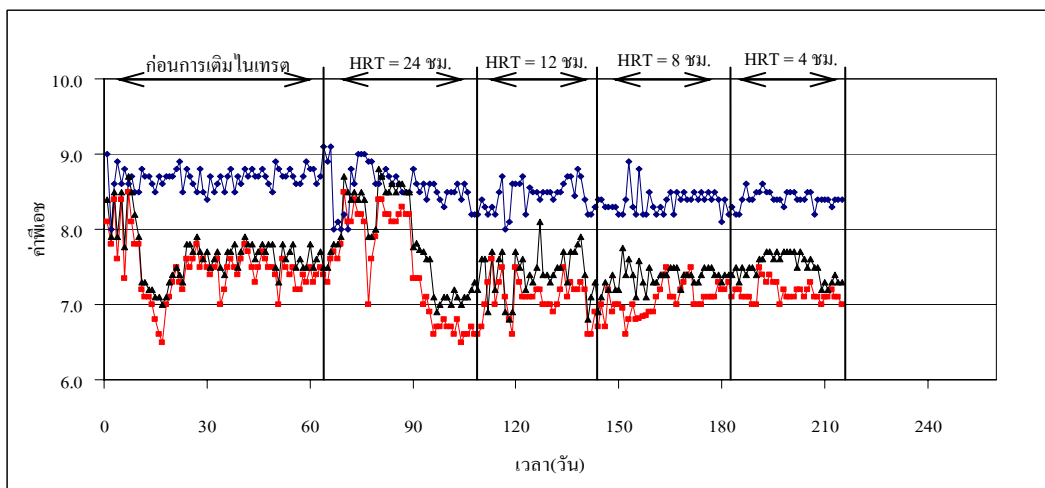
ระบบเท่ากับ 8.5 ± 0.16 พีเอชเฉลี่ยของน้ำในถังปฏิกรณ์เท่ากับ 7.3 ± 0.13 และพีเอชเฉลี่ยของน้ำที่ออกจากระบบเท่ากับ 7.6 ± 0.14 เนื่องจากในการเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์เข้าระบบมีการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต เพื่อรักษาระดับพีเอชในถังปฏิกรณ์ไม่ให้ต่ำเกินไปและเป็นการเพิ่มบัฟเฟอร์ให้แก่ระบบ แต่ในกรณีที่พีเอชของน้ำในถังปฏิกรณ์และน้ำที่ออกจากระบบมีค่าต่ำลงซึ่งมีความขัดแย้งกับทฤษฎีของการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชันที่ควรที่จะเกิด 1 สมมูลของสภาพต่างต่อ 1 สมมูลของไนเตรตที่ลดลง และมีผลทำให้พีเอชมีค่าเพิ่มขึ้นนั้นน่าจะมีสาเหตุมาจากการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายน้ำตาลเป็นกรดไขมันระเหยง่ายและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในถังปฏิกรณ์เป็นผลให้มีการสะสมตัวของกรดไขมันระเหยง่ายทำให้พีเอชต่ำลง แต่เนื่องจากจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ยังทำงานอยู่ได้ ค่าพีเอชในถังปฏิกรณ์จึงไม่ลดลงต่ำมากนัก ทำให้พีเอชของน้ำในถังปฏิกรณ์มีค่าอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน คือ 7.0-7.5 และที่เหมาะสมสำหรับระบบบำบัดแบบไร้อากาศคือ 6.5-7.5 (มันสิน ตันฑุลเวศน์, 2542)

4.2.2 โออาร์พี

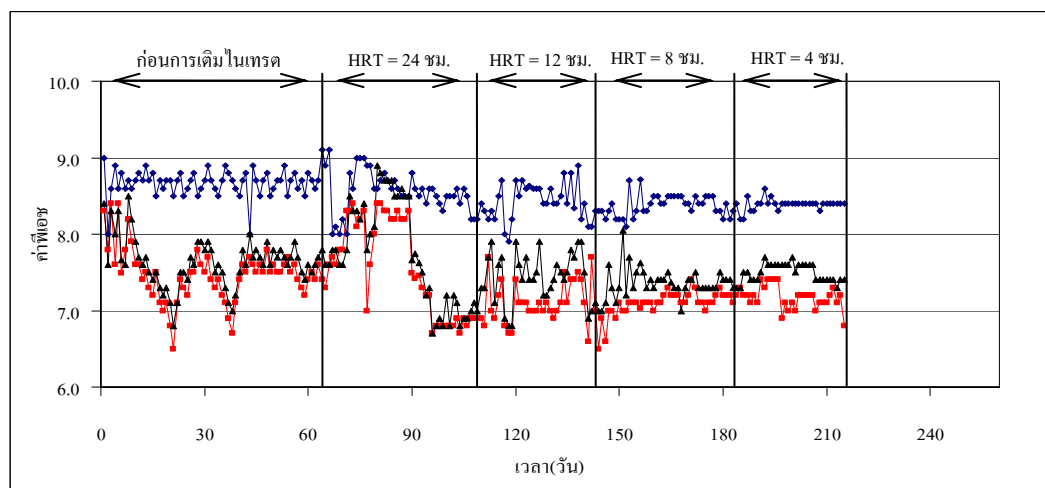
ในทางทฤษฎีค่าโออาร์พีจะแสดงถึงความสามารถในการรับอิเล็กตรอนของสารละลาย เช่น ถ้าวัดค่าโออาร์พีได้ค่าบวกมากๆ แสดงว่าสารละลายนี้มีการรับอิเล็กตรอนได้ดี และถ้าวัดโออาร์พีได้ค่าลบ แสดงว่าสารละลายมีความสามารถในการรับอิเล็กตรอนได้น้อยหรือมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนได้ดี และเนื่องจากปฏิกิริยาชีวเคมีต่างๆที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียล้วนเป็นปฏิกิริยารีดอกซ์ ซึ่งปฏิกิริยาแต่ละประเภทมีค่าโออาร์พีแตกต่างกัน โดยในถังย่อยแบบไร้อากาศที่ทำงานได้ดีต้องมีค่าโออาร์พีอยู่ในช่วง -300 ถึง -500 มิลลิโวลต์ (มันสิน ตันฑุลเวศน์, 2542) ซึ่งผลการทดลองจากรูปที่ 4.2 พบว่าค่าโออาร์พีตลอดการทดลองของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ระยะเวลาเก็บน้ำต่างๆ มีค่าอยู่ในช่วง -250 ถึง -260 มิลลิโวลต์ ซึ่งต่ำกว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายทางชีวภาพแบบไร้ออกซิเจนที่มีการรายงานไว้ แต่ยังคงอยู่ในช่วงที่ระบบสามารถบำบัดสารอินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 2:1 5:1 และ 8:1 มีค่าโออาร์พีเฉลี่ยของน้ำที่ออกจากระบบเท่ากับ -258.1 ± 14.1 , -259.3 ± 14.3 , -257.7 ± 14.9 มิลลิโวลต์ ตามลำดับ



(ก) ค่าพีเอชที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 2:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ ที่ 24 12 8 และ 4 ชม.

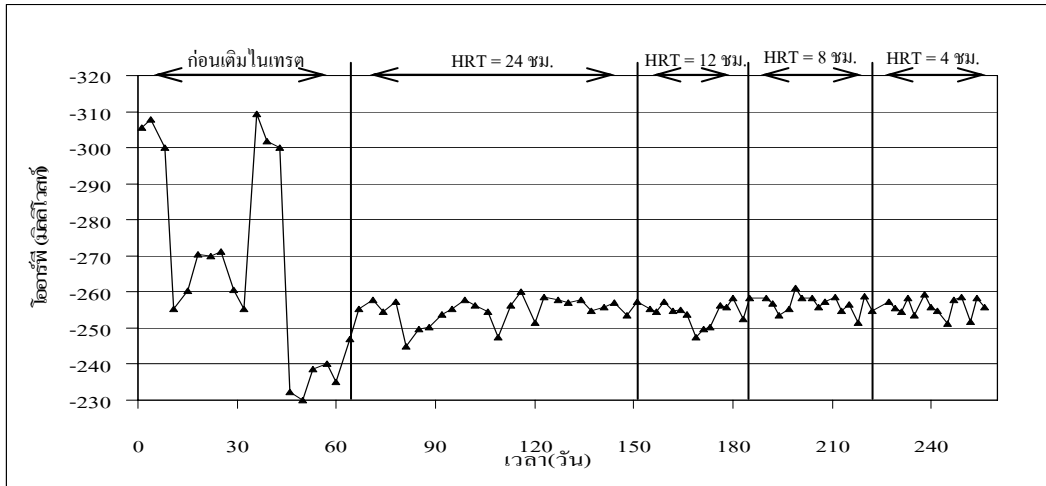


(ข) ค่าพีเอชที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 5:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ ที่ 24 12 8 และ 4 ชม.

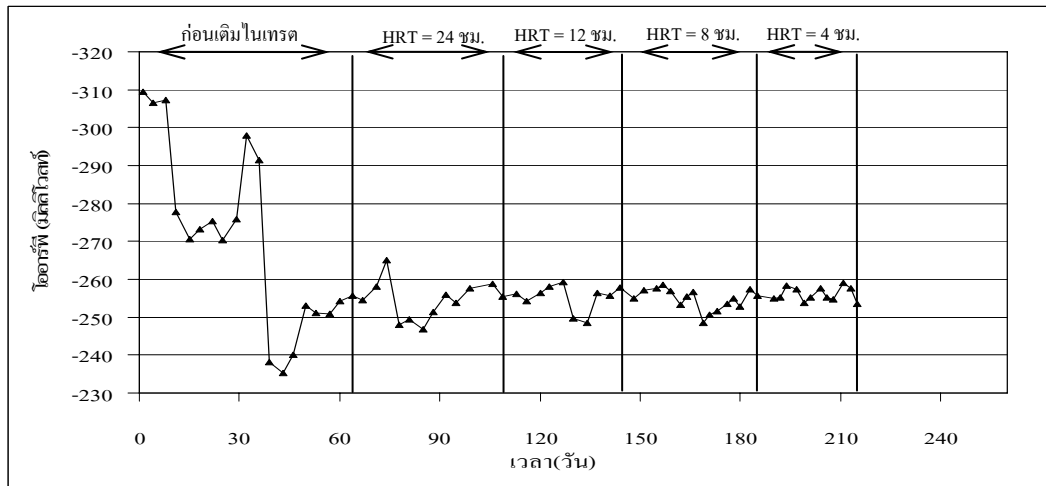


(ค) ค่าพีเอชที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 8:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ ที่ 24 12 8 และ 4 ชม.

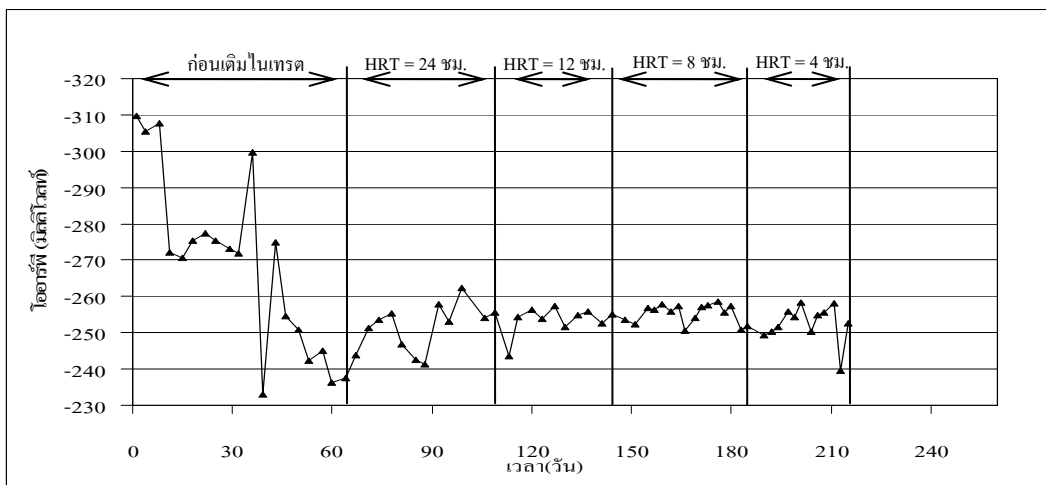
รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชตลอดการทดลอง โดยที่ (◆) ค่าพีเอชน้ำเสียเข้าระบบ
 (■) ค่าพีเอชในถังปฏิกรณ์ (▲) ค่าพีเอชน้ำทิ้งออกจากระบบ



(ก) ค่าไออาร์พีที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำที่ 24 12 8 และ 4 ชม.



(ข) ค่าไออาร์พีที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 5:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย 24 12 8 และ 4

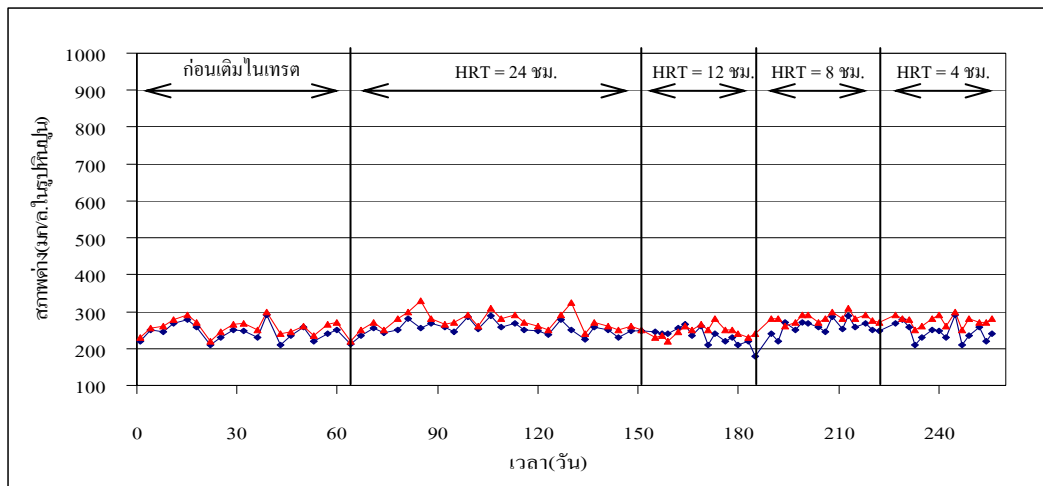


(ค) ค่าไออาร์พีที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 8:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย 24 12 8 และ 4

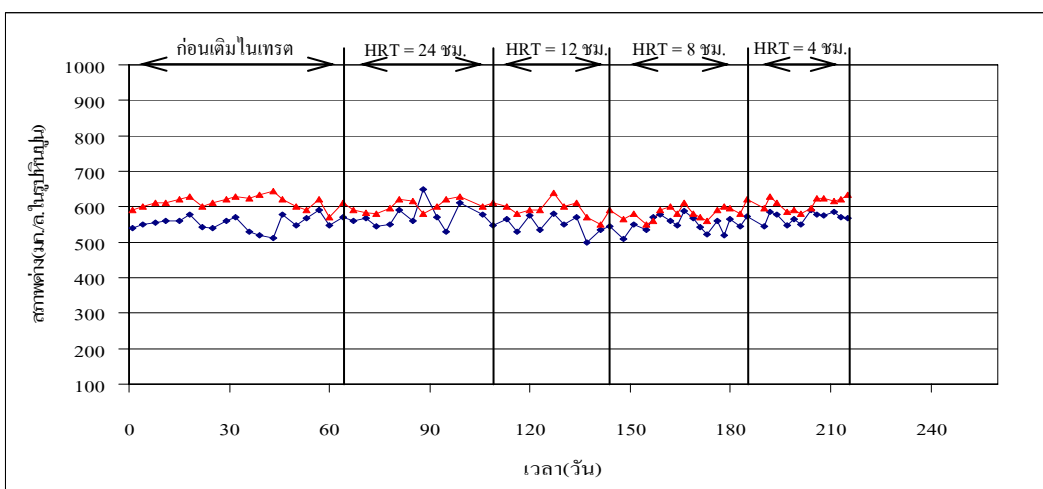
รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าไออาร์พีตลอดการทดลอง โดยที่ (▲) ค่าไออาร์พีของน้ำทิ้งออกจากระบบ

4.2.3 สภาพความเป็นต่าง

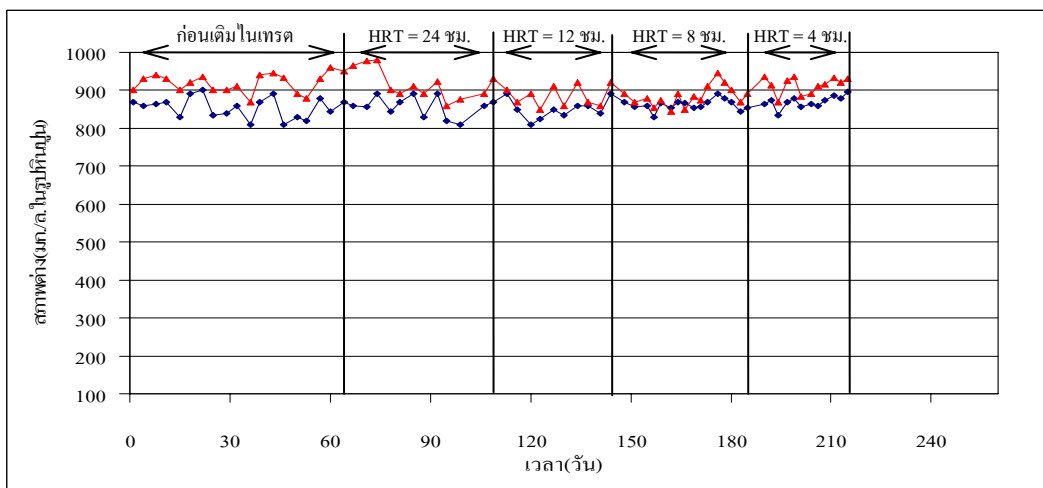
สภาพความเป็นต่างบอกรู้ให้ทราบถึงกำลังบัฟเฟอร์ในระบบไร้ออกซิเจน ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญเนื่องจากถ้ากำลังบัฟเฟอร์ต่ำเกินไป ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจะทำให้ค่าพีเอชลดลงอย่างมากและเป็นอันตรายต่อแบคทีเรียสร้างมีเทนได้ แต่ในทางตรงข้ามถ้าระบบมีสภาพต่างสูงพอ ระบบก็จะสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดอินทรีย์ระเหยได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อค่าพีเอชมากนัก โดยทั่วไประบบไร้ออกซิเจนควรมีสภาพต่างประมาณ 1,500-2,000 มก./ล.ของหินปูน (มันลิน ตันจุลเวศม์, 2542) ซึ่งผลการทดลองจากรูปที่ 4.3 พบว่าสภาพต่างเฉลี่ยของน้ำเสียเข้าระบบในแต่ละสัดส่วนซีโอดีต่อไนเตรดมีค่าต่างกัน เนื่องจากการเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ก่อนเข้าระบบได้เติมโซเดียมไบคาร์บอเนตเพื่อเป็นบัฟเฟอร์ให้กับระบบ ในอัตราส่วนซีโอดีต่อบัฟเฟอร์เท่ากับ 1:1 โดยเมื่อเปรียบเทียบสภาพต่างในน้ำเสียเข้าระบบและน้ำที่ออกจากระบบพบว่า สภาพต่างของน้ำที่ออกจากระบบมีค่ามากกว่าน้ำเสียเข้าระบบในทุกอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดและในทุกระยะเวลาที่เก็บน้ำ เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชันจะมีการผลิต 1 สมมูลของสภาพต่างต่อ 1 สมมูลของไนเตรดที่ลดลง (Delwiche, 1981) จึงเป็นผลให้สภาพต่างของน้ำที่ออกจากระบบมีค่าเพิ่มขึ้น และสาเหตุอีกประการที่ทำให้สภาพต่างของน้ำที่ออกจากระบบมีค่าสูงขึ้นคือ กำลังบัฟเฟอร์ที่เติมในน้ำเสียก่อนเข้าระบบที่มากเกินไปต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดอินทรีย์ระเหยโดยไม่ส่งผลกระทบต่อค่าพีเอช และไม่ทำให้ระบบล้นเหลว โดยที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 สภาพต่างเฉลี่ยของน้ำเสียเข้าระบบเท่ากับ 247 ± 17.8 มก./ล. น้ำที่จากระบบเท่ากับ 267 ± 12.6 มก./ล. ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 5:1 สภาพต่างเฉลี่ยของน้ำเสียเข้าระบบเท่ากับ 559 ± 15.6 มก./ล. น้ำที่ออกจากระบบ 600 ± 18.7 มก./ล. และอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 8:1 สภาพต่างเฉลี่ยของน้ำเสียเข้าระบบ 859 ± 15.6 มก./ล. และน้ำที่ออกจากระบบ 905 ± 21.6 มก./ล.



(ก) ค่าสภาพต่างที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 2:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำที่ 24 12 8 และ 4



(ข) ค่าสภาพต่างที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 5:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำที่ 24 12 8 และ 4



(ค) ค่าสภาพต่างที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 8:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำที่ 24 12 8 และ 4

รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าสภาพค่าตลอดการทดลอง โดยที่

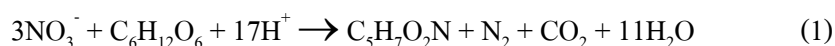
- (◆) สภาพต่างในน้ำเสียเข้าระบบ (▲) สภาพต่างในน้ำที่ออกจากระบบ

4.3 สมรรถนะของระบบ

4.3.1 ซีโอดี ในเทรตและไนโทรต์ และประสิทธิภาพการบำบัด

ประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไปสามารถประเมินได้จากความสามารถในการบำบัดซีโอดีของระบบ โดยงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาถึงผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่แตกต่างกัน ได้แก่ 2:1 5:1 และ 8:1 ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย 24 12 8 และ 4 ชั่วโมง เพื่อให้เข้าใจถึงบทบาทของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตและภาวะบรรทุกไนเตรตที่มีผลต่อการลดลงของซีโอดีในเทรตและไนโทรต์ ตลอดจนประสิทธิภาพในการบำบัดและปัจจัยที่มีผลต่อการเดินระบบ ซึ่งในการเพิ่มค่าภาวะบรรทุกอินทรีย์ให้กับระบบในงานวิจัยนี้ เป็นการเพิ่มในลักษณะของการลดค่าระยะเวลาพักเก็บน้ำ ซึ่งมีรายงานว่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตและระยะเวลาพักเก็บน้ำเป็นปัจจัยหลักสำหรับการเกิดปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน (Mateju และคณะ, 1992) โดยปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์จะต้องมีอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตและระยะเวลาพักเก็บน้ำที่เพียงพอ นอกจากนี้ผลของการลดระยะเวลาพักเก็บน้ำจะทำให้สามารถบำบัดน้ำได้ปริมาณมากขึ้นหรือสามารถลดขนาดถังปฏิกิริยาลงได้

จากรูปที่ 4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดี ในเทรตและไนโทรต์ และประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 2:1 พบว่าเมื่อมีการบรรทุกระบบโดยการเพิ่มภาวะบรรทุกอินทรีย์คาร์บอนและไนเตรตในโตรเจน ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 และ 8 ชั่วโมง จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของการบำบัดซีโอดี ในเทรตและไนโทรต์ก่อนเริ่มคงตัว เมื่อเข้าสู่ระยะเวลาพักเก็บน้ำที่ 4 ชั่วโมง และพบว่าประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีมีค่าลดลงจากในช่วงก่อนการเติมไนเตรตที่มีค่าอยู่ในช่วง 65-90 เปอร์เซ็นต์ เหลือเพียง 70-80 เปอร์เซ็นต์ ที่ทุกระยะเวลาพักเก็บน้ำ โดยการบำบัดไนเตรตจะเกิดขึ้นจากกระบวนการดีไนตริฟิเคชันดังแสดงในสมการที่ (1)

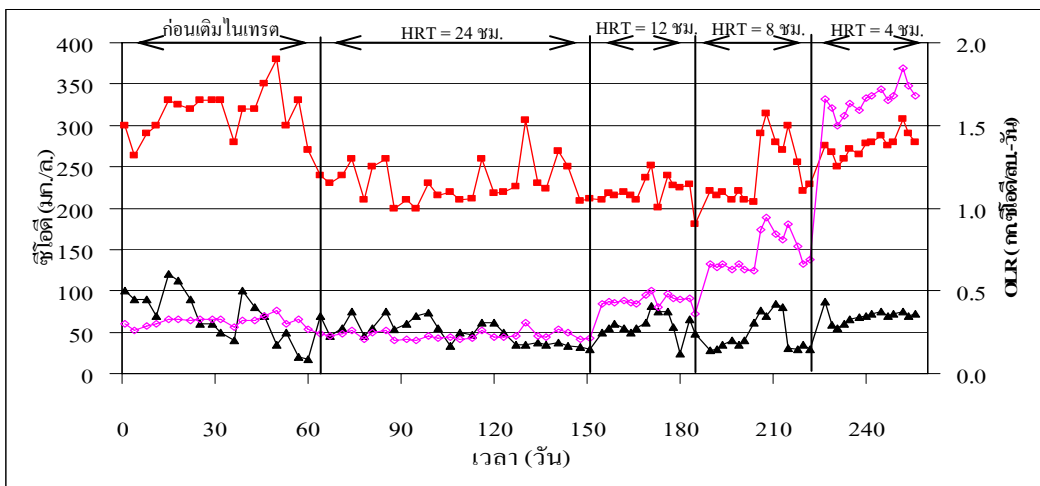


จากสมการพบว่าจะต้องใช้กลูโคส 4.29 มก. ในการเปลี่ยนไนเตรต 1 มก. ให้เป็นก๊าซไนโตรเจน ดังนั้นอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 2:1 จึงเป็นอัตราส่วนที่น้อยกว่าความต้องการตามทฤษฎีของการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน แต่การบำบัดไนเตรตยังเกิดขึ้นได้โดยมีค่าสูงสุดเท่ากับ 46.6 มก. หรือเทียบเท่าประสิทธิภาพการบำบัดที่ 23.3 เปอร์เซ็นต์ แต่จากผลการทดลองพบว่าที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรตและไนโทรต์สูงถึง 58 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่ามากกว่าทางทฤษฎี อาจเนื่องมาจากที่ระยะเวลาพักเก็บ 24 ชม. นี้เป็นระยะเวลาที่มากเกินพอต่อการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชันสำหรับอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 2:1 โดยเมื่อทำการลดค่าระยะเวลาพักเก็บน้ำเป็น 12 8 และ 4 ชั่วโมง ประสิทธิภาพการบำบัด

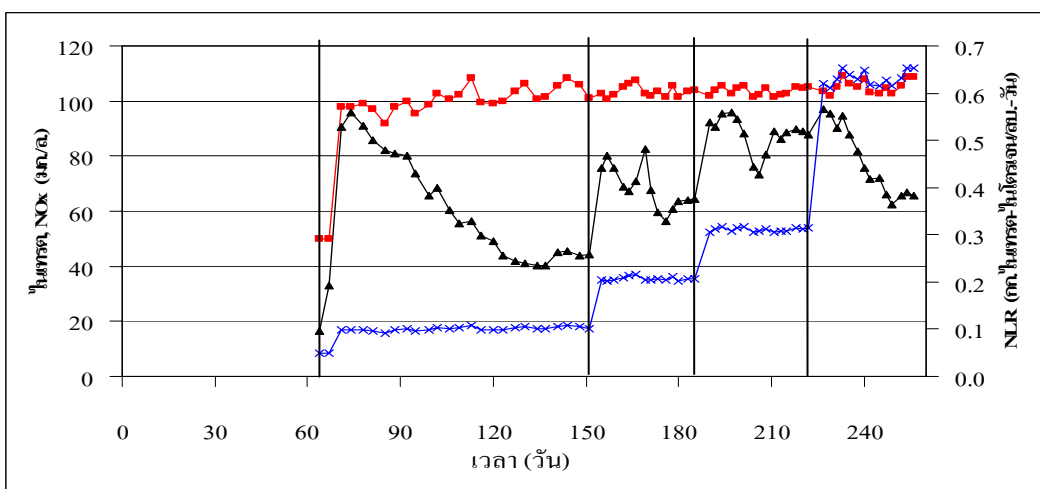
ไนเตรตและไนไตรต์จะลดลงเหลืออยู่ในช่วง 10-40 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ต่ำกว่าค่าอัตราส่วนทางทฤษฎีการบำบัดไนเตรตและไนไตรต์สามารถเกิดขึ้นได้ แต่ต้องใช้ระยะเวลาในการกักเก็บน้ำที่นานเพียงจึงจะเกิดการบำบัดที่มีประสิทธิภาพได้

ในขณะที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 5:1 และ 8:1 เมื่อมีการรบกวนระบบโดยการเพิ่มภาระบรรทุกอินทรีย์คาร์บอนและไนเตรตไนโตรเจน พบว่าการบำบัดซีโอดียังคงมีค่าคงที่ในทุกระยะเวลาที่กักเก็บน้ำ แต่การบำบัดไนเตรตและไนไตรต์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงในช่วงระยะเวลาที่กักเก็บน้ำที่ 24 และ 12 ชั่วโมง ก่อนเข้าสู่สภาวะคงตัว ซึ่งประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี ไนเตรต และไนไตรต์ ในทุกระยะเวลาที่กักเก็บน้ำเมื่อเข้าสู่สภาวะคงตัวมีประสิทธิภาพการบำบัดสูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 4.5-4.6 แต่เนื่องจากอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 5:1 และ 8:1 เป็นสัดส่วนที่มีค่าเพียงพอและมากเกินไปต่อการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชันดังสมการที่ (1) จึงยังผลให้การบำบัดไนเตรตเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยในทุกระยะเวลาที่กักเก็บที่ลดลง ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี ไนเตรตและไนไตรต์จะมีค่าคงที่

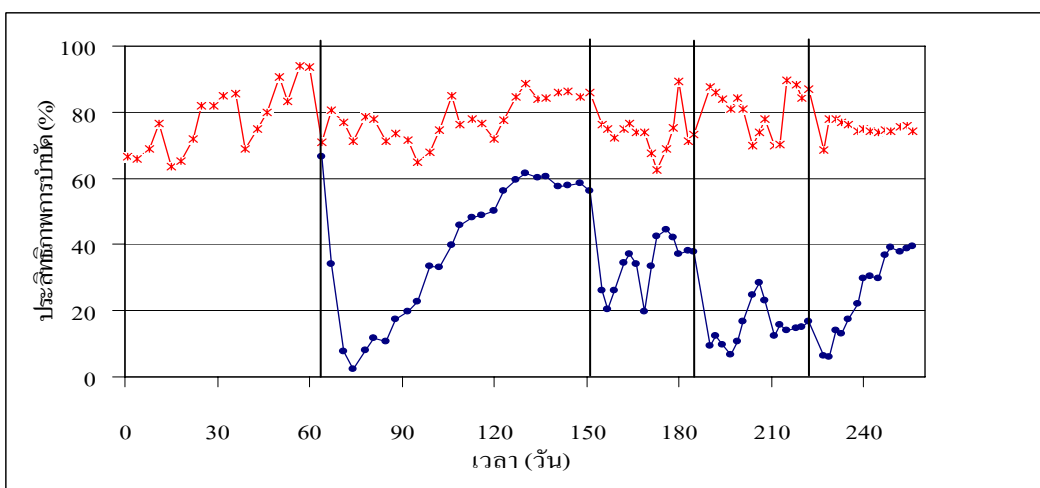
ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าทุกอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต ค่าภาระบรรทุกอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงจากค่าระยะเวลาที่กักเก็บน้ำในแต่ละถังปฏิกรณ์จะไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีในระบบอย่างชัดเจน ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงค่าภาระบรรทุกไนเตรตไนโตรเจนจะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรตและไนไตรต์ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตต่ำ (2:1) เท่านั้น โดยอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่เหมาะสมสำหรับการเกิดกระบวนการดีไนตริฟิเคชันคือ 5:1 – 8:1 และระยะเวลาที่กักเก็บน้ำที่เหมาะสมคือ 4 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Akunna และคณะ (1992) รายงานว่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่น้อยกว่า 8.86 ซึ่งคิดเป็นปริมาณไนเตรตเทียบกับซีโอดีที่มากขึ้น จะส่งผลให้ดีไนตริฟิเคชันแบบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดี การบำบัดไนเตรตจึงเกิดขึ้นจากกระบวนการดีไนตริฟิเคชันเพียงอย่างเดียว ในขณะที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตในช่วง 8.86- 53 กระบวนการดีไนตริฟิเคชันจะเกิดควบคู่ไปกับกระบวนการผลิตมีเทน และรายงานของ Jun และคณะ (2004) ยืนยันว่าที่ระยะเวลาที่กักเก็บน้ำเสีย 4 ชม. ระบบยูเอสบี (USB ; Upflow Sludge Blanket) สามารถบำบัดสารประกอบไนโตรเจนได้ 70 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำเสียสังเคราะห์ ส่วน Wen และคณะ (2003) รายงานว่าระยะเวลาที่กักเก็บน้ำเสียที่ 3 ชม. การบำบัดซีโอดีและสารประกอบไนเตรต (ทั้งในรูปแบบไนเตรตและไนไตรต์) มีประสิทธิภาพสูงถึง 96 และ 92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



(ก) ค่าซีโอดีที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4 ชม.

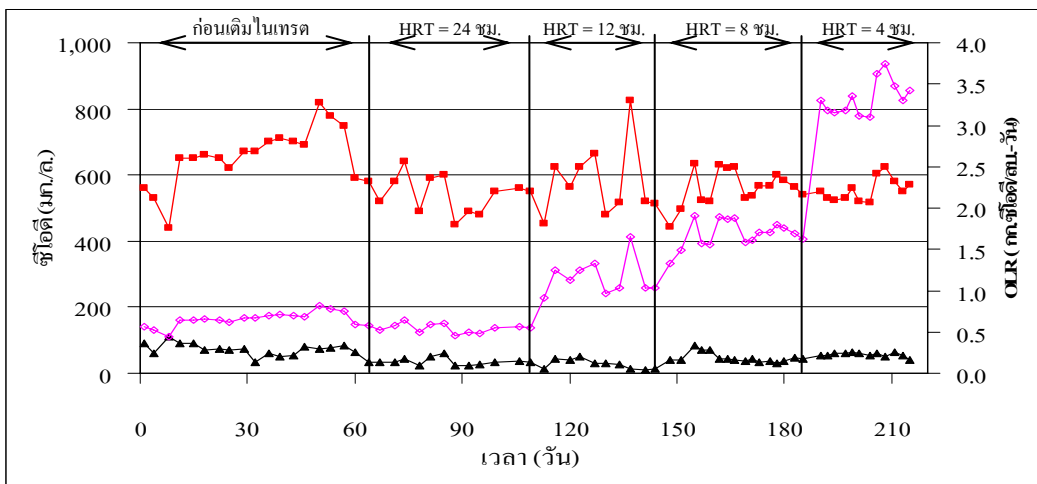


(ข) ค่าไนเตรดและไนไตรต์ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4

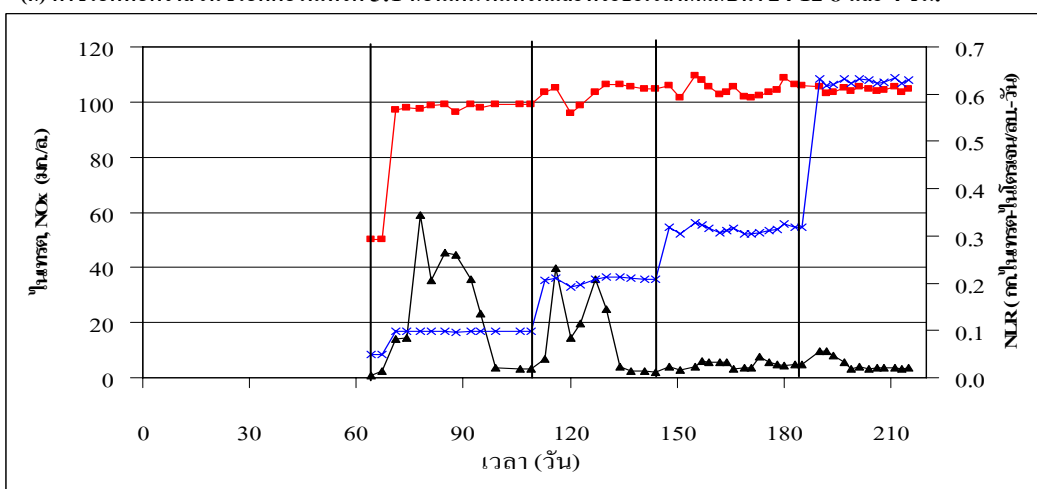


(ค) ประสิทธิภาพการบำบัดที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4

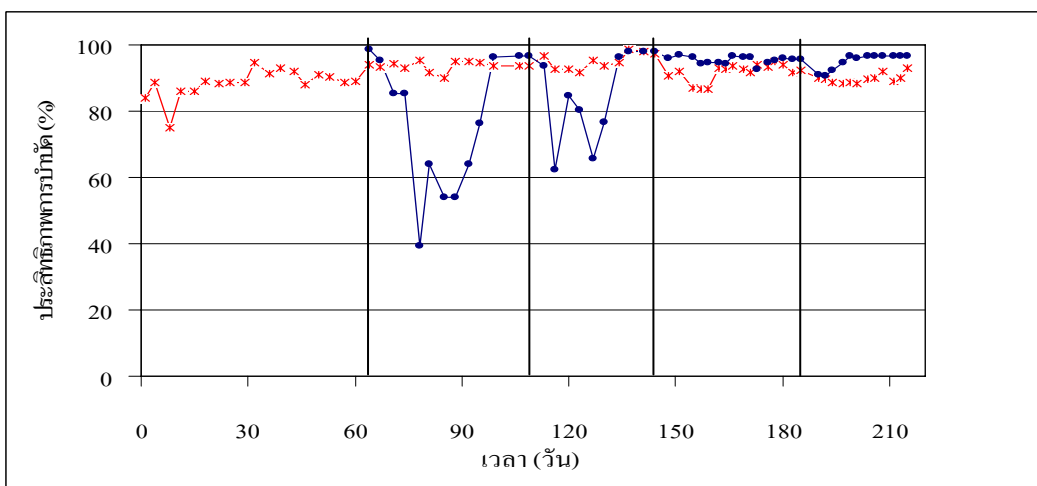
รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดี ไนเตรดและไนไตรต์ และประสิทธิภาพการบำบัดที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 ตลอดการทดลอง โดยที่ (■) น้ำเสียเข้าระบบ (▲) น้ำที่ออกจากระบบ (◇) อัตราการระบรทุกอินทรีย์คาร์บอน (X) อัตราการระบรทุกไนเตรดไนโตรเจน (*) ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี (●) ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรดและไนไตรต์



(ก) ค่าชีโอดีที่อัตราส่วนชีโอดีต่อไนเตรต 5:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4 ชม.



(ข) ค่าไนเตรตและไนไทรต์ที่อัตราส่วนชีโอดีต่อไนเตรต 5:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4



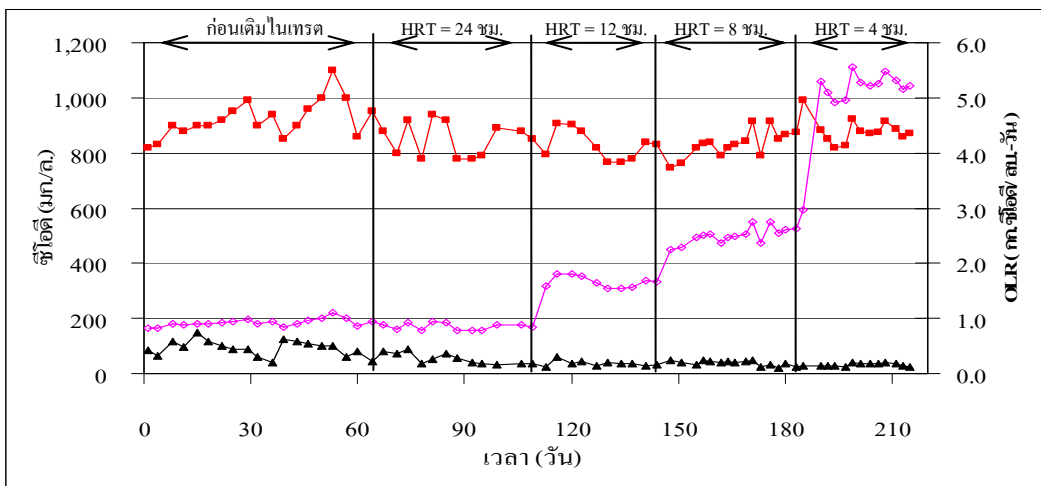
(ค) ค่าประสิทธิภาพการบำบัดที่อัตราส่วนชีโอดีต่อไนเตรต 5:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ

รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงค่าชีโอดี ไนเตรตและไนไทรต์ และประสิทธิภาพการบำบัดที่อัตราส่วนชีโอดี

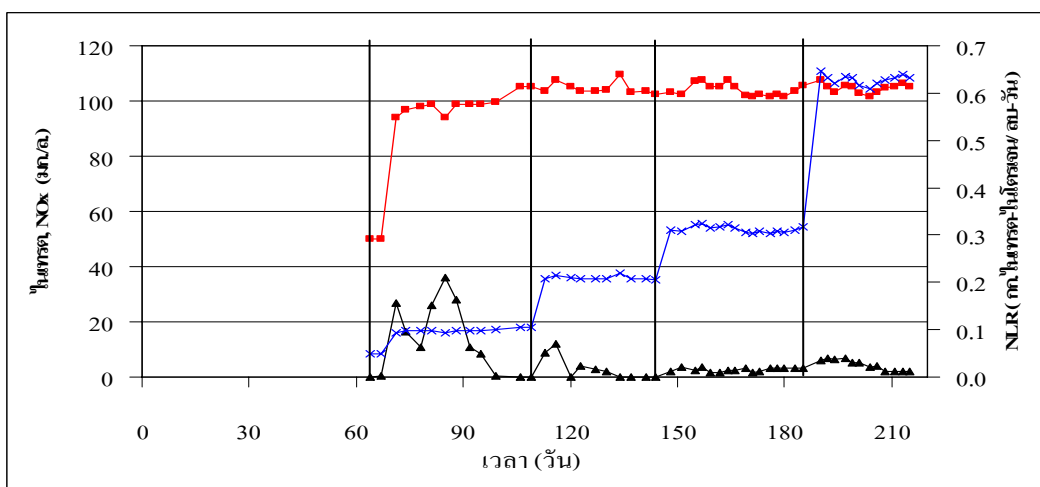
ต่อไนเตรต 5:1 ตลอดการทดลอง โดยที่ (■) น้ำเสียเข้าระบบ (▲) น้ำที่ออกจากระบบ

(◇) อัตราการะบรทุกอินทรีย์คาร์บอน (X) อัตราการะบรทุกไนเตรตไนโตรเจน

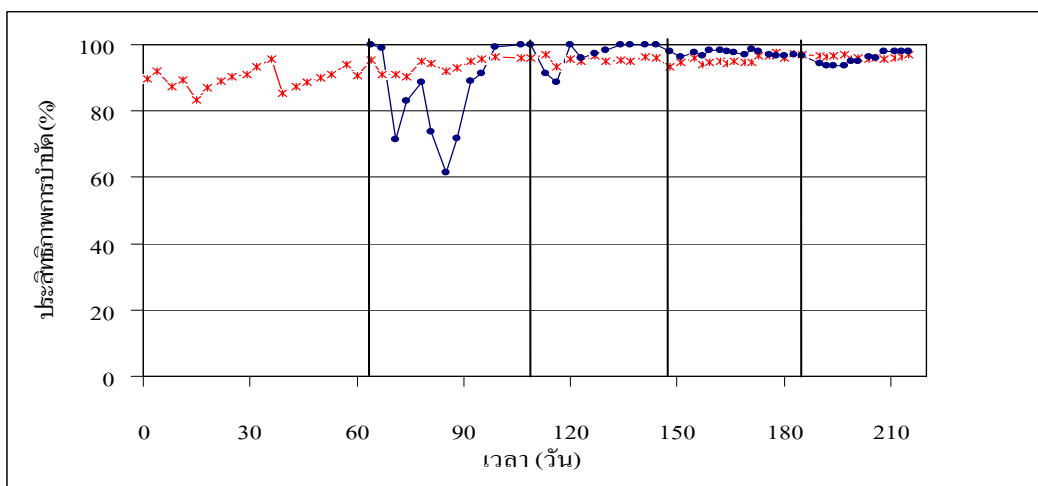
(*) ประสิทธิภาพการบำบัดชีโอดี (●) ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรตและไนไทรต์



(ก) ค่าซีโอดีที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 8:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4 ชม.



(ข) ค่าไนเตรดและไนไทรต์ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 8:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ



(ค) ค่าประสิทธิภาพการบำบัดที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 8:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12

รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดี ไนเตรดและไนไทรต์ และประสิทธิภาพการบำบัดที่อัตราส่วนซีโอดี

ต่อไนเตรด 8:1 ตลอดการทดลอง โดยที่ (■) น้ำเสียเข้าระบบ (▲) น้ำที่ออกจากระบบ

(◇) อัตราการะบรทุกอินทรีย์คาร์บอน (X) อัตราการะบรทุกไนเตรดไนโตรเจน

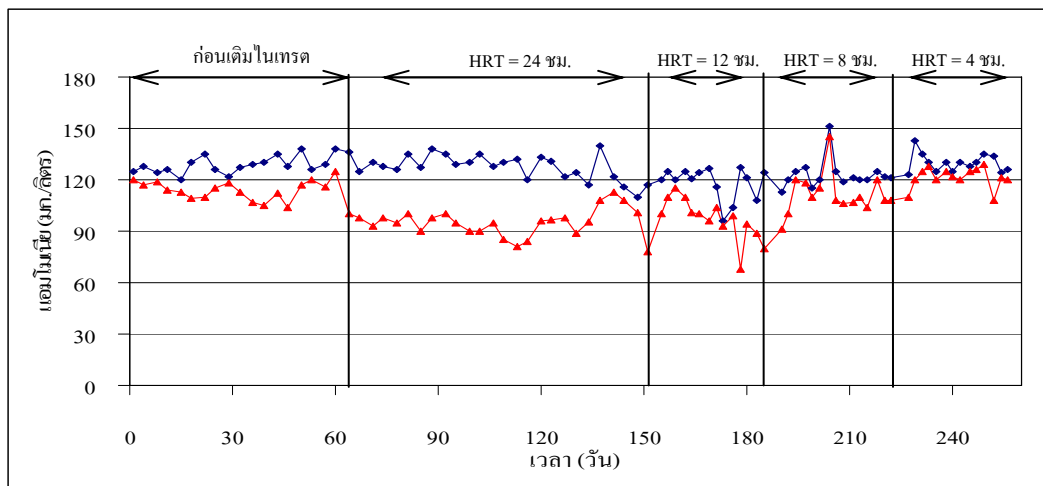
(*) ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี (●) ประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรดและไนไทรต์

4.3.2 แอมโมเนีย

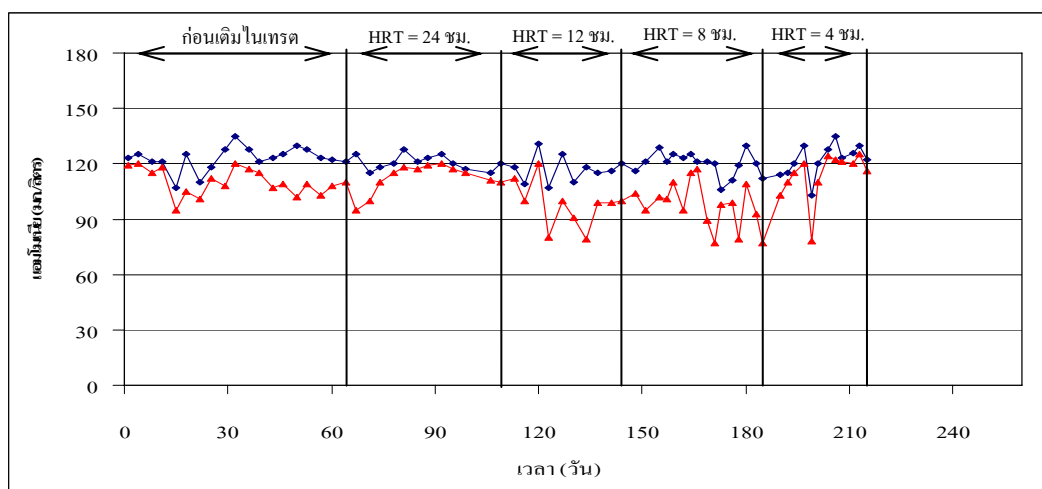
เนื่องจากน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบยูเอเอสบีที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลทรายเป็นตัวแทนของค่าซีโอดี โขเดียมไนเตรตเป็นตัวแทนของไนเตรตและมีการเติมสารอาหารที่มีองค์ประกอบของแอมโมเนียในปริมาณสูงเพื่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทำให้ต้องทำการวิเคราะห์ค่าแอมโมเนีย และเปรียบเทียบผลของแอมโมเนียที่มีต่อระบบยูเอเอสบี โดยผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.7 ก่อนการเติมไนเตรต พบว่าผลการทดลองในทุกอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตเป็นไปในทิศทางเดียวกันและตัวเลขมีค่าใกล้เคียงกัน โดยแอมโมเนียของน้ำเสียออกจากระบบมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับแอมโมเนียจากน้ำเสียเข้าโดยแอมโมเนียที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 2:1 แอมโมเนียของน้ำเสียเข้าและทิ้งออกจากระบบเท่ากับ 126 ± 7.9 และ 106 ± 5.9 มก/ล. ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 5:1 เท่ากับ 121 ± 3.9 และ 106 ± 7.4 มก/ล. และอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 8:1 เท่ากับ 122 ± 3.5 และ 111 ± 4.6 มก/ล. ซึ่งแอมโมเนียที่หายไปส่วนนี้น่าจะถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนเพื่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในระบบ โดยเมื่อพิจารณาถึงผลของค่าระยะเวลาที่เก็บน้ำเสียต่างๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสำหรับแต่ละช่วงเวลาที่ทำการทดลอง

4.3.3 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งแขวนลอยระเหยง่าย

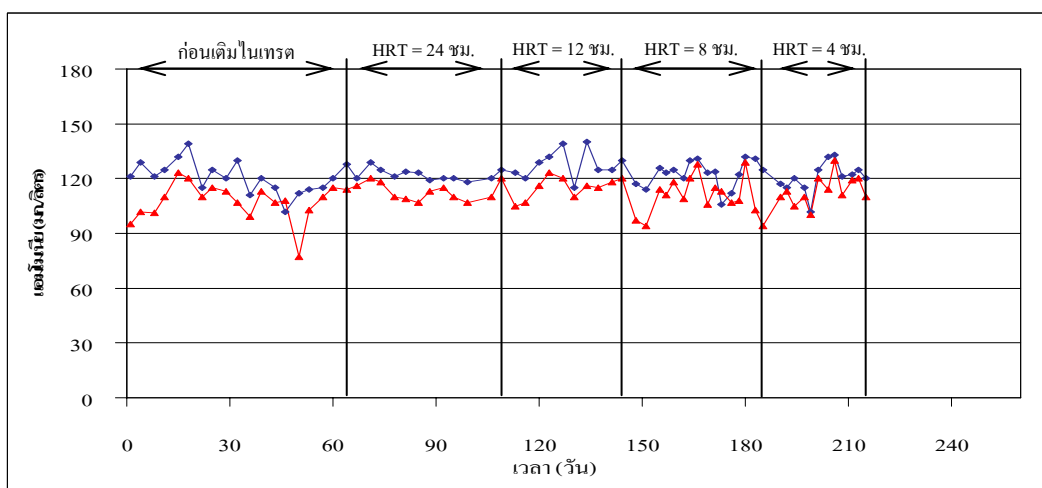
ปริมาณของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายเป็นตัวแปรหนึ่งที่บ่งชี้ได้ว่าประสิทธิภาพของระบบที่พิจารณานั้นอยู่ในสภาวะใด โดยระบบที่คืนนั้นควรมีการกักตะกอนไม่ให้หลุดออกนอกระบบได้ดี โดยในงานวิจัยนี้ปริมาณของแข็งแขวนลอยและของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 2:1 5:1 และ 8:1 ในระยะเวลาที่เก็บที่ 24 12 8 และ 4 ชั่วโมงแสดงผลการทดลองดังรูปที่ 4.8 พบว่าก่อนการเติมไนเตรต และตลอดการทดลองของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ระยะเวลาที่เก็บต่างๆ ค่าของแข็งแขวนลอยและของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายมีค่าต่ำ เนื่องจากน้ำเข้าระบบที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำเสียสังเคราะห์จึงมีปริมาณของแข็งแขวนลอยในปริมาณไม่มาก และในการทดลองทุกค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตปริมาณของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายมีการปรับตัวขึ้น-ลง ตลอดการทดลอง เนื่องจากมีก๊าซที่เกิดขึ้นทำให้ตะกอนจุลินทรีย์ฟุ้งกระจายขึ้นสู่ด้านบนของถังปฏิกรณ์แล้วหลุดออกไปกับน้ำออกของระบบ แต่ปริมาณของตะกอนแขวนลอยที่ออกไปกับระบบมีค่าต่ำจึงไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณตะกอนจุลินทรีย์และประสิทธิภาพของระบบ



(ก) ค่าแอมโมเนียที่ซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4 ชม.



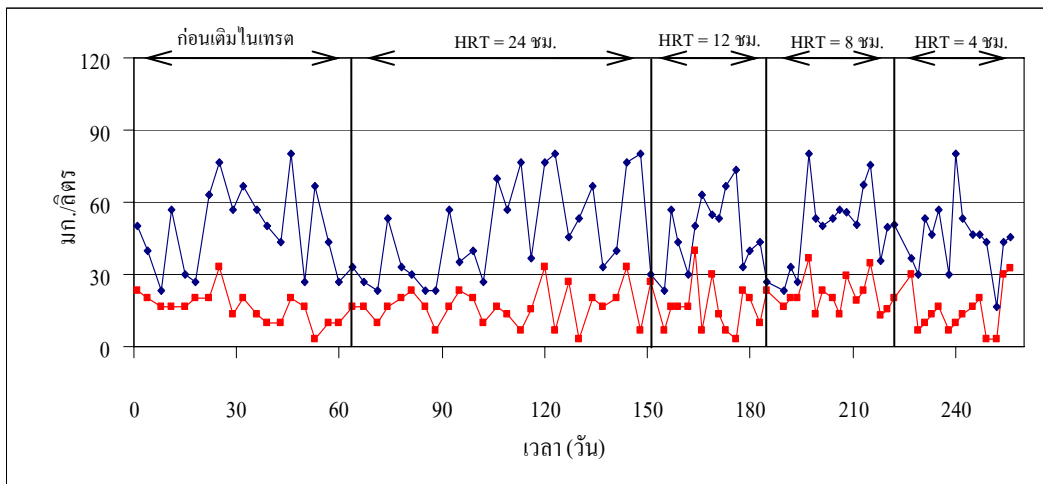
(ข) ค่าแอมโมเนียที่ซีโอดีต่อไนเตรด 5:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4 ชม.



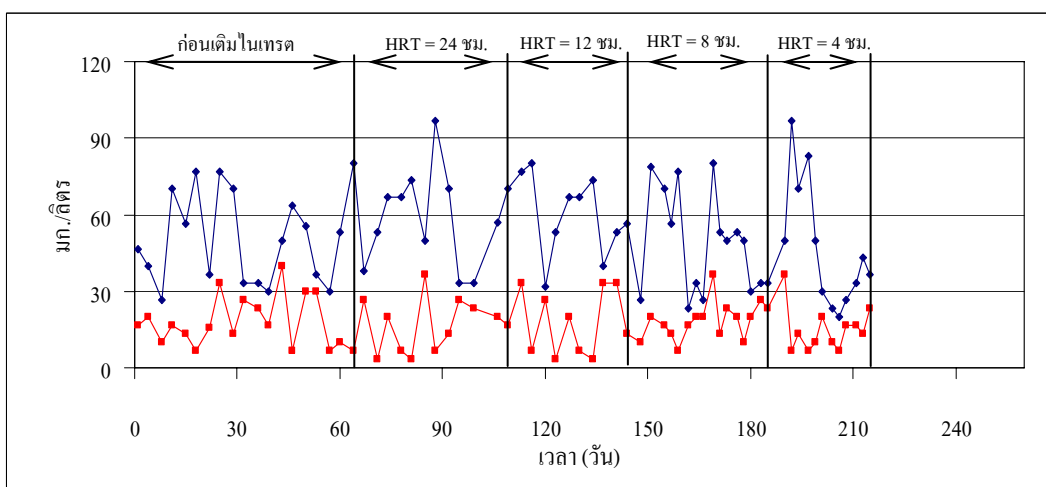
(ค) ค่าแอมโมเนียที่ซีโอดีต่อไนเตรด 8:1 ก่อนเติมไนเตรตและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4 ชม.

รูปที่ 4.7 ค่าแอมโมเนียที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 5:1 และ 8:1 ตลอดการทดลอง

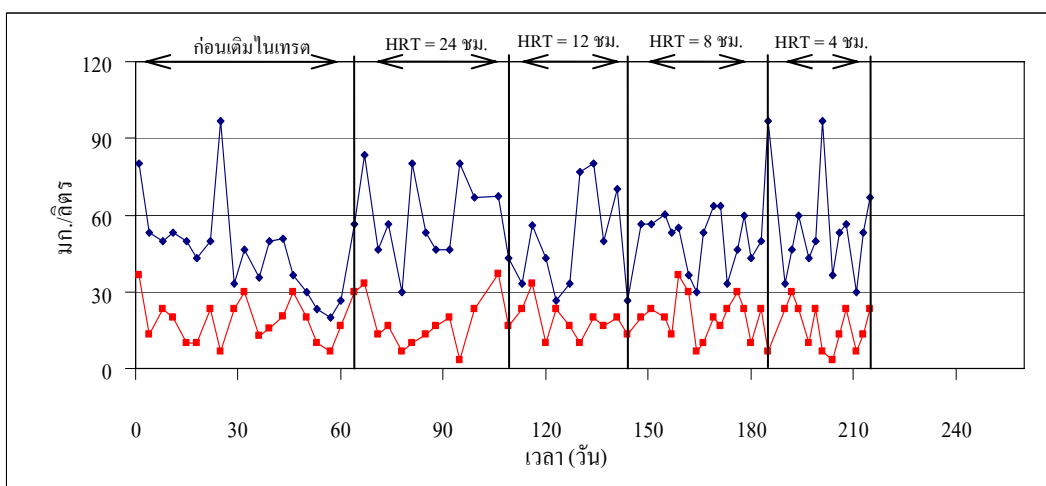
โดยที่ (◆) ค่าแอมโมเนียในน้ำเสียเข้าระบบ (▲) ค่าแอมโมเนียในน้ำที่ออกจากระบบ



(ก) ค่า SS และ VSS ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4 ชม.



(ข) ค่า SS และ VSS ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 5:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4 ชม.



(ค) ค่า SS และ VSS ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 8:1 ก่อนเติมไนเตรดและที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4

รูปที่ 4.8 ค่า SS และ VSS ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 5:1 และ 8:1 ตลอดการทดลอง

โดยที่ (◆) ค่าของแข็งแขวนลอยในน้ำที่ออกจากระบบ

(■) ค่าของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายในน้ำที่ออกจากระบบ

4.3.4 ความสามารถจำเพาะของเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์

ค่าสามารถจำเพาะในการสร้างมีเทนของแบคทีเรียหรือเอสเอ็มเอ (Specific methanogenic activity; SMA) เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถของแบคทีเรียในการเปลี่ยนรูปสารประกอบอินทรีย์เพื่อสร้างก๊าซมีเทน โดยค่านี้จะบ่งบอกให้ทราบถึงปริมาณแบคทีเรียในหนึ่งหน่วยกรัมวีเอสเอสว่ามีความสามารถในการบำบัดสารอินทรีย์และสร้างก๊าซมีเทนได้ที่กรัมซีโอดีต่อวัน ซึ่งการวิเคราะห์นี้จะทำการทดสอบกับเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น (ในทุกถังปฏิบัติการของแต่ละอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตก่อนการเติมไนเตรตเข้าสู่ระบบ) และในวันสุดท้ายของการทดลอง ชุดที่ 1 และ 2 ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 12 8 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับแต่ละถังปฏิบัติการที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 2:1 5:1 และ 8:1 ซึ่งในการทดสอบนี้ใช้กรดอะซิติกเป็นสารอาหารเพื่อทำการเปรียบเทียบความสามารถของแบคทีเรียการสร้างก๊าซมีเทน แต่สำหรับการทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการสร้างก๊าซไนโตรเจน (Specific denitrifying activity; SDA) ใช้น้ำตาลทรายและโซเดียมไนเตรตเป็นสารอาหาร ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ค่า SMA และ SDA ในช่วงระยะเวลาพักเก็บน้ำต่างๆ

COD:NO ₃ ⁻	2:1		5:1		8:1	
	SMA ^a	SDA ^b	SMA ^a	SDA ^b	SMA ^a	SDA ^b
HRT(ชม.)						
ก่อนเติมไนเตรต	0.804	-	0.840	-	0.803	-
24	0.388	0.086	0.341	0.122	0.390	0.092
12	0.206	0.104	0.652	0.329	0.640	0.262
8	0.237	0.096	0.609	0.324	0.653	0.332
4	0.309	0.108	0.674	0.452	0.655	0.526

หมายเหตุ: a = (gCOD-CH₄/gVSS-day) , b = (gNO₃⁻-N₂/gVSS-day)

จากตารางข้างต้นพบว่าที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 ชั่วโมง ค่าความสามารถของแบคทีเรียในการสร้างก๊าซมีเทนเริ่มต้นก่อนการเติมไนเตรต จะมีค่ามากกว่าความสามารถของแบคทีเรียในการสร้างก๊าซมีเทนหลังจากการเติมไนเตรต และพบว่าค่าความสามารถของแบคทีเรียในการสร้างก๊าซไนโตรเจนเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยตามอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเมื่อทำการลดระยะเวลาพักเก็บน้ำในถังปฏิบัติการตามที่กำหนดและตรวจสอบความสามารถของแบคทีเรียภายในถังปฏิบัติการเมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงตัว พบว่าค่าความสามารถของแบคทีเรียในการสร้างก๊าซมีเทนและไนโตรเจนมีค่าเพิ่มขึ้นในทุกระยะเวลาพักเก็บน้ำ และเมื่อพิจารณาที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตพบว่า ค่าความสามารถของแบคทีเรียในการสร้างก๊าซมีเทนและไนโตรเจนมีค่าเพิ่มขึ้นตาม

อัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นเช่นกัน ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าภาวะบรรทุอินทรีย์คาร์บอนและไนโตรเจนในโตรเจนที่เพิ่มขึ้นจากการลดระยะเวลาเก็บน้ำมีผลทำให้ความสามารถของแบคทีเรียในการสร้างก๊าซมีเทนและไนโตรเจนมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดจากการที่แบคทีเรียได้รับสารอาหารเพิ่มขึ้นยังผลให้มีการเจริญเติบโตและผลิตก๊าซได้มากขึ้น

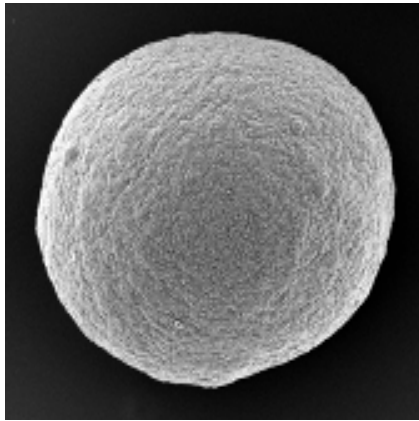
4.4 การศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบยูเอเอสบี

ในการศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในระบบยูเอเอสบีได้แบ่งขั้นตอนการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน คือ การศึกษาโครงสร้างของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscopy: SEM ;JEOL รุ่น JSM- 5410LV) และการศึกษาประชากรจุลินทรีย์กลุ่มเด่นและการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกันในเม็ดตะกอนยูเอเอสบีที่สภาวะต่างๆ ด้วยเทคนิคการเพิ่มจำนวนยีนในช่วงสายของ 16S rDNA ร่วมกับ PCR-DGGE

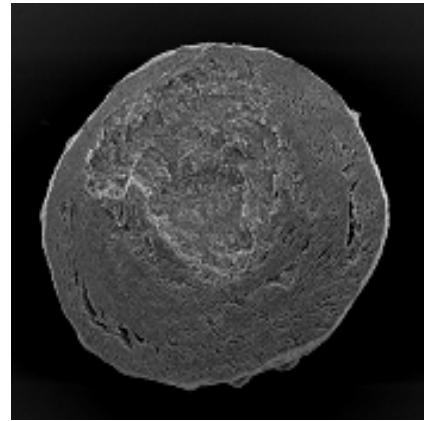
4.4.1 การศึกษาโครงสร้างของตะกอนเม็ดจุลินทรีย์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ตัวอย่างเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ในขั้นตอนนี้ได้แก่ เม็ดตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศของบริษัทเสริมสุขจำกัดซึ่งใช้เป็นหัวเชื้อในการเริ่มต้นในการเดินระบบ (seed) เม็ดตะกอนจุลินทรีย์จากทุกถังปฏิกรณ์ของชุดการทดลองที่ 2 อัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน 2:1 5:1 และ 8:1 ที่ระยะเวลาเก็บน้ำ 4 ชม. ผลการทดลองดังรูปที่ 4.9-4.12 แสดงให้เห็นว่าเม็ดตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นและตะกอนจากทุกถังปฏิกรณ์มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนทั้งความสมบูรณ์ ลักษณะการจับตัว และกลุ่มจุลินทรีย์ โดยหัวเชื้อจากถังปฏิกรณ์ในทุกอัตราส่วนจะมีการจับตัวเป็นเม็ดตะกอนสลัดจ์อีกครั้งภายหลังสิ้นสุดการเดินระบบ แต่การจับตัวจะเป็นแบบหลวมๆ ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และมีการเกาะตัวกันแน่นขึ้นตามค่าสัดส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่สูงขึ้น และเมื่อทำการศึกษาโครงสร้างภายในเม็ดตะกอนพบว่ามีลักษณะเป็นรูพรุน และมีช่องว่างมาก ที่บริเวณพื้นผิวและภายในเม็ดตะกอนประกอบด้วยจุลินทรีย์คล้ายคลึงกันหลากหลายกลุ่มทั้งเส้นใย รูปกลม และรูปท่อน ในขณะที่เม็ดตะกอนสลัดจ์ของหัวเชื้อเริ่มต้นจะมีช่องว่างภายในน้อย และมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนของชนิดจุลินทรีย์ที่พื้นผิวและภายในเม็ด

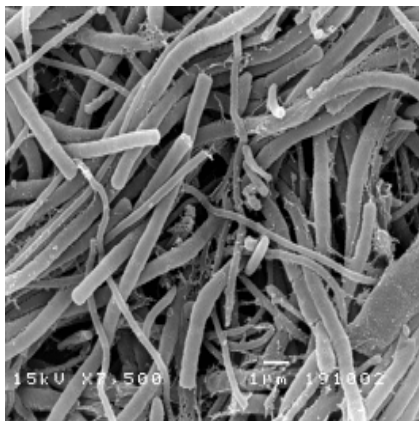
โดยจากการศึกษาของ Gonzalez และคณะ (2001) รายงานว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่พบในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดแบบไร้อากาศอีจีเอสบี ประกอบไปด้วย *Methanosaeta*, *Methanobacterium* และ *Methanospirillum* ส่วน Hulshoff และคณะ (2004) พบว่าเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ในระบบไร้อากาศที่รวมตัวกันหนาแน่นประกอบไปด้วยแบคทีเรียแบบ ท่อน กลม ยาว และแบคทีเรียแบบเส้นใยที่รวมตัวกัน ซึ่งคล้ายกับ *Methanothrix soehngenii*



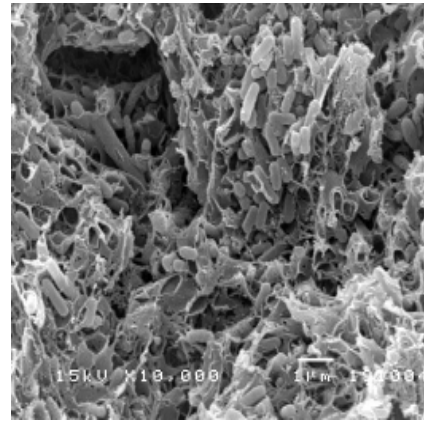
(ก)



(ค)



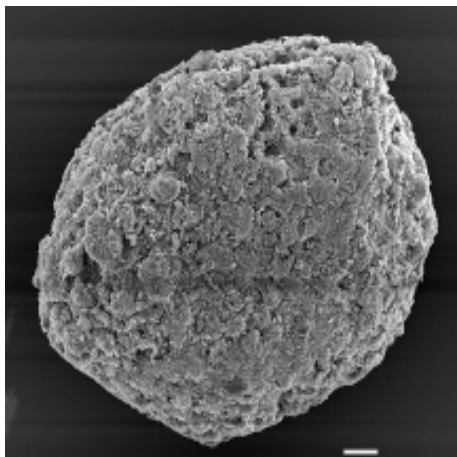
(ข)



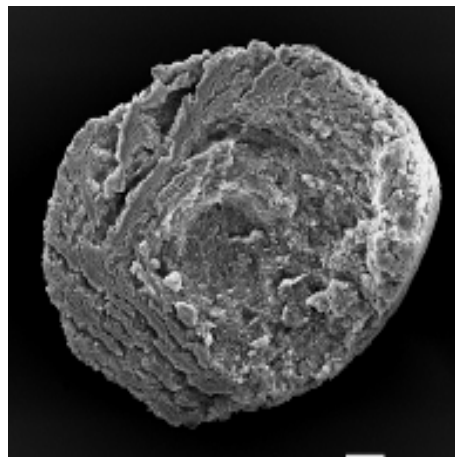
(ง)

- (ก) บริเวณผิวภายนอกของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่กำลังขยาย 75 เท่า
 (ข) บริเวณผิวภายนอกของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่กำลังขยาย 7,500 เท่า
 (ค) บริเวณผิวภายในของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์เมื่อผ่าครั้งที่กำลังขยาย 75 เท่า
 (ง) บริเวณตรงกลางเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า

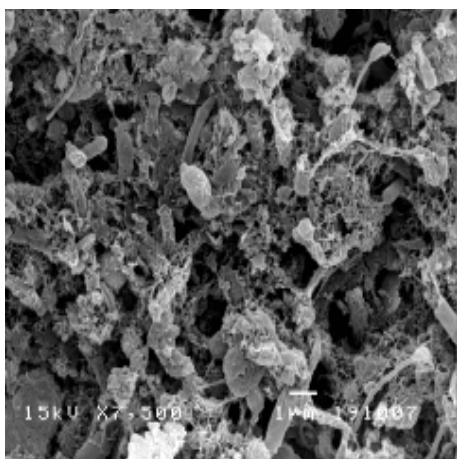
รูปที่ 4.9 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น



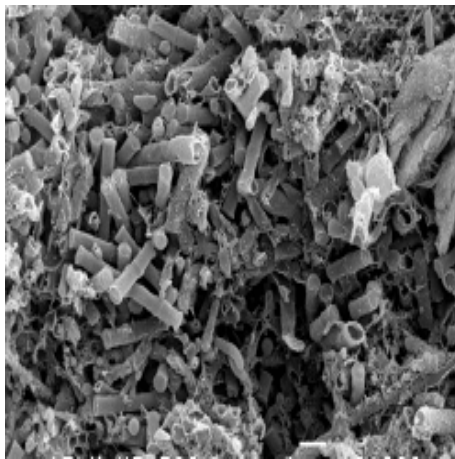
(ก)



(ค)



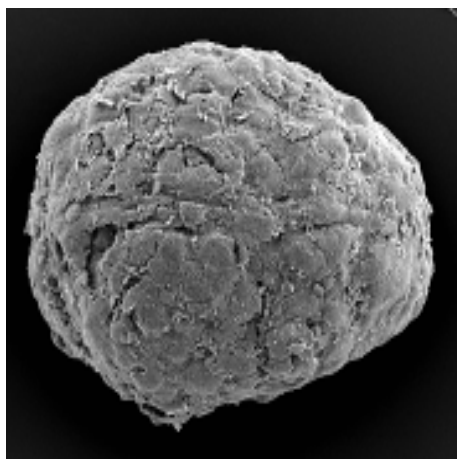
(ข)



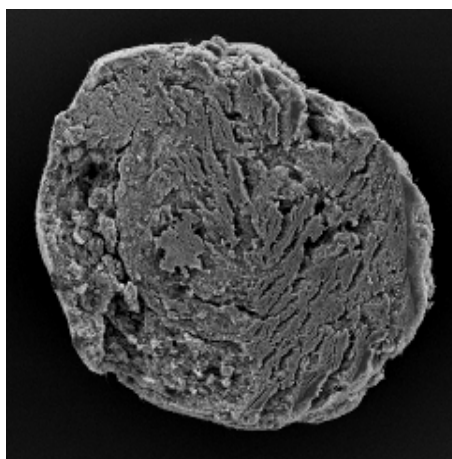
(ง)

- (ก) บริเวณผิวภายนอกของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่กำลังขยาย 75 เท่า
 (ข) บริเวณผิวภายนอกของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่กำลังขยาย 7,500 เท่า
 (ค) บริเวณผิวภายในของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์เมื่อผ่าครึ่งที่กำลังขยาย 75 เท่า
 (ง) บริเวณตรงกลางเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่กำลังขยาย 7,500 เท่า

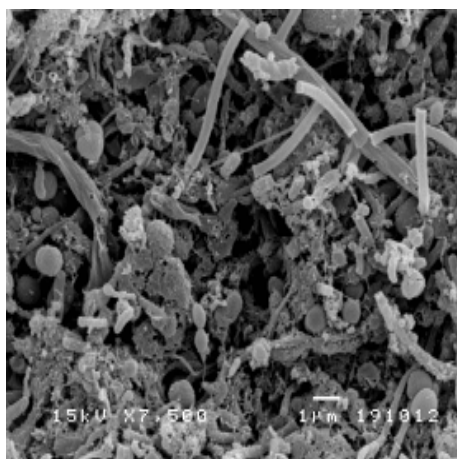
รูปที่ 4.10 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์
 จากถังปฏิกรณ์ที่มีค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 2:1



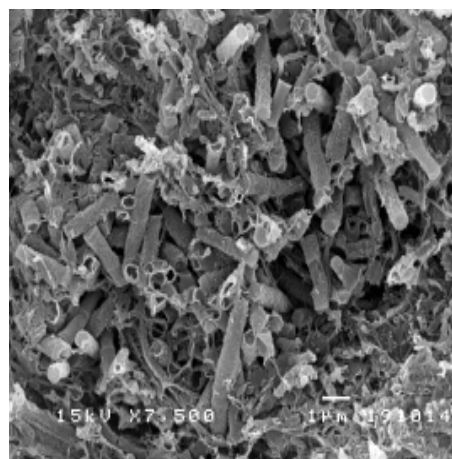
(ก)



(ค)



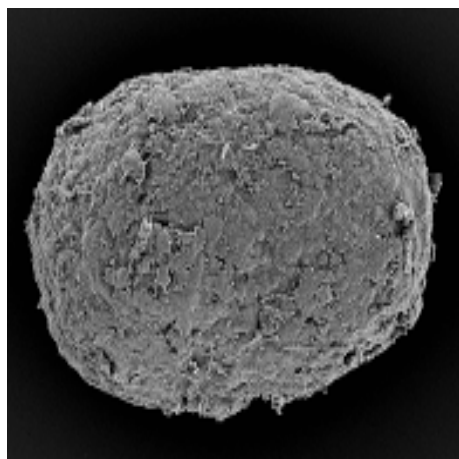
(ข)



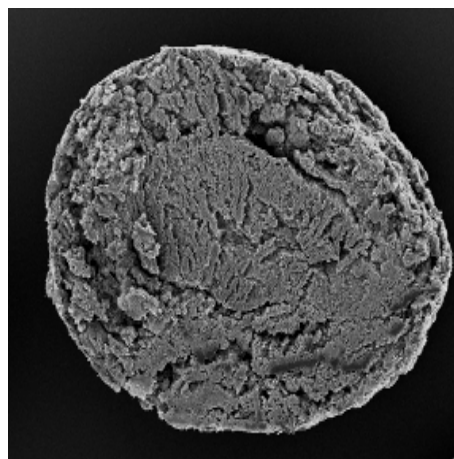
(ง)

- (ก) บริเวณผิวภายนอกของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่กำลังขยาย 50 เท่า
- (ข) บริเวณผิวภายนอกของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่กำลังขยาย 7,500 เท่า
- (ค) บริเวณผิวภายในของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์เมื่อผ่าครึ่งที่กำลังขยาย 50 เท่า
- (ง) บริเวณตรงกลางเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่กำลังขยาย 7,500 เท่า

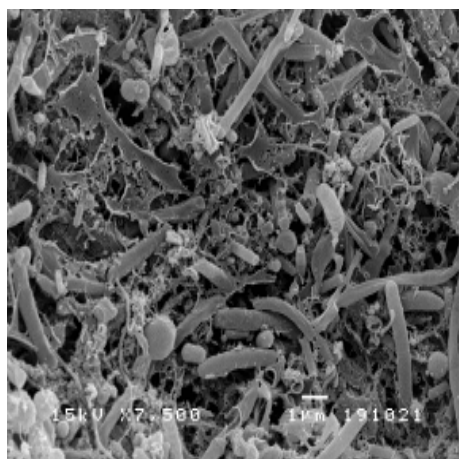
รูปที่ 4.11 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์
จากถังปฏิกรณ์ที่มีค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต 5:1



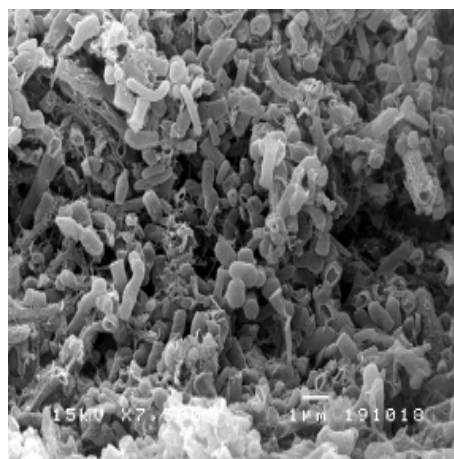
(ก)



(ค)



(ข)



(ง)

- (ก) บริเวณผิวภายนอกของเม็ดตะกอนจูลินทรีย์ที่กำลังขยาย 50 เท่า
 (ข) บริเวณผิวภายนอกของเม็ดตะกอนจูลินทรีย์ที่กำลังขยาย 7,500 เท่า
 (ค) บริเวณผิวภายในของเม็ดตะกอนจูลินทรีย์เมื่อผ่าครึ่งที่กำลังขยาย 50 เท่า
 (ง) บริเวณตรงกลางเม็ดตะกอนจูลินทรีย์ที่กำลังขยาย 7,500 เท่า

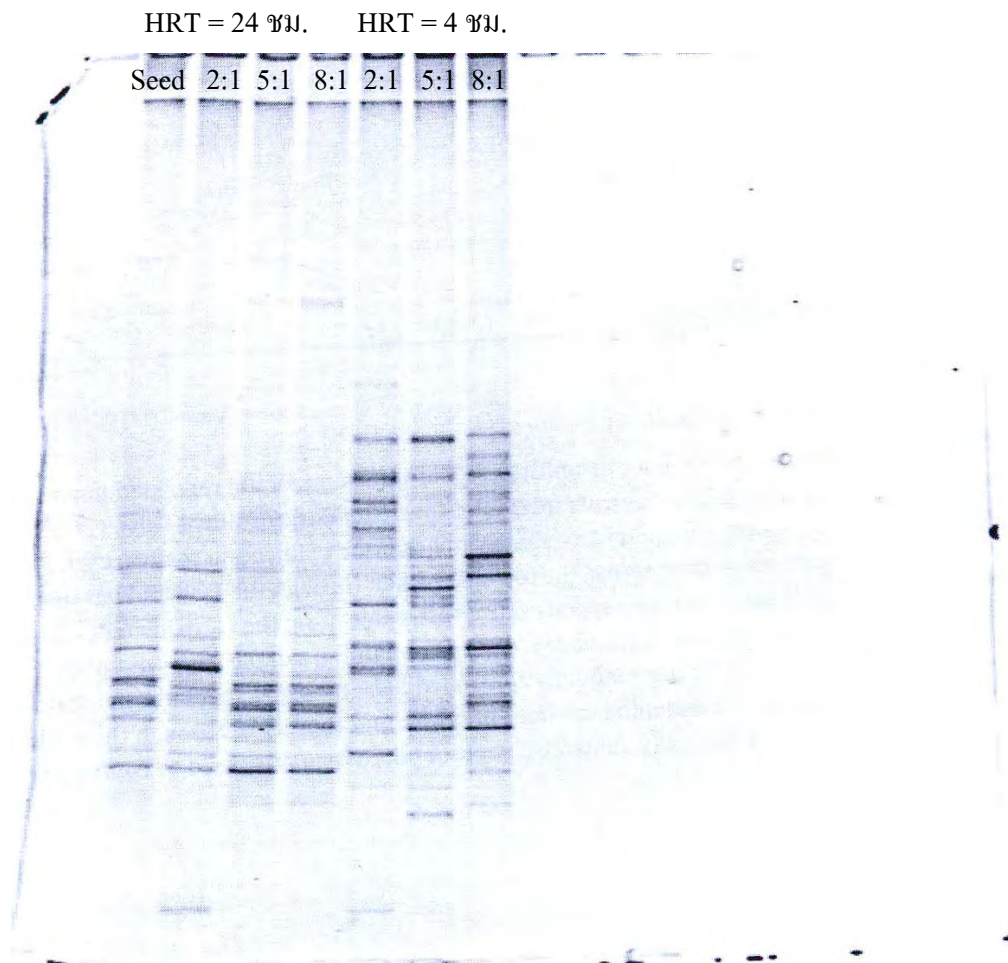
รูปที่ 4.12 ภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเม็ดตะกอนจูลินทรีย์
 จากถังปฏิกรณ์ที่มีค่าอัตราส่วนซีไอคือ 8:1

4.4.2 การศึกษาประชากรจุลินทรีย์กลุ่มเด่นและการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกันในเม็ดตะกอนยูเอเอสพีด้วยเทคนิคการเพิ่มจำนวนในช่วงสายของยีน 16S rDNA ร่วมกับ PCR-DGGE

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบความหลากหลายของจุลินทรีย์ในเม็ดตะกอนต่างๆ ได้แก่ (1) เม็ดตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศของบริษัทเสริมสุขจำกัด ซึ่งใช้เป็นหัวเชื้อในการเริ่มเดินระบบ (2) เม็ดตะกอนจุลินทรีย์จากทุกถังถึงถังปฏิกรณ์ของชุดการทดลองที่ 1 ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 5:1 และ 8:1 ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 ชม. และ (3) เม็ดตะกอนจุลินทรีย์จากทุกถังถึงถังปฏิกรณ์ของชุดการทดลองที่ 2 ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 5:1 และ 8:1 ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 4 ชั่วโมง

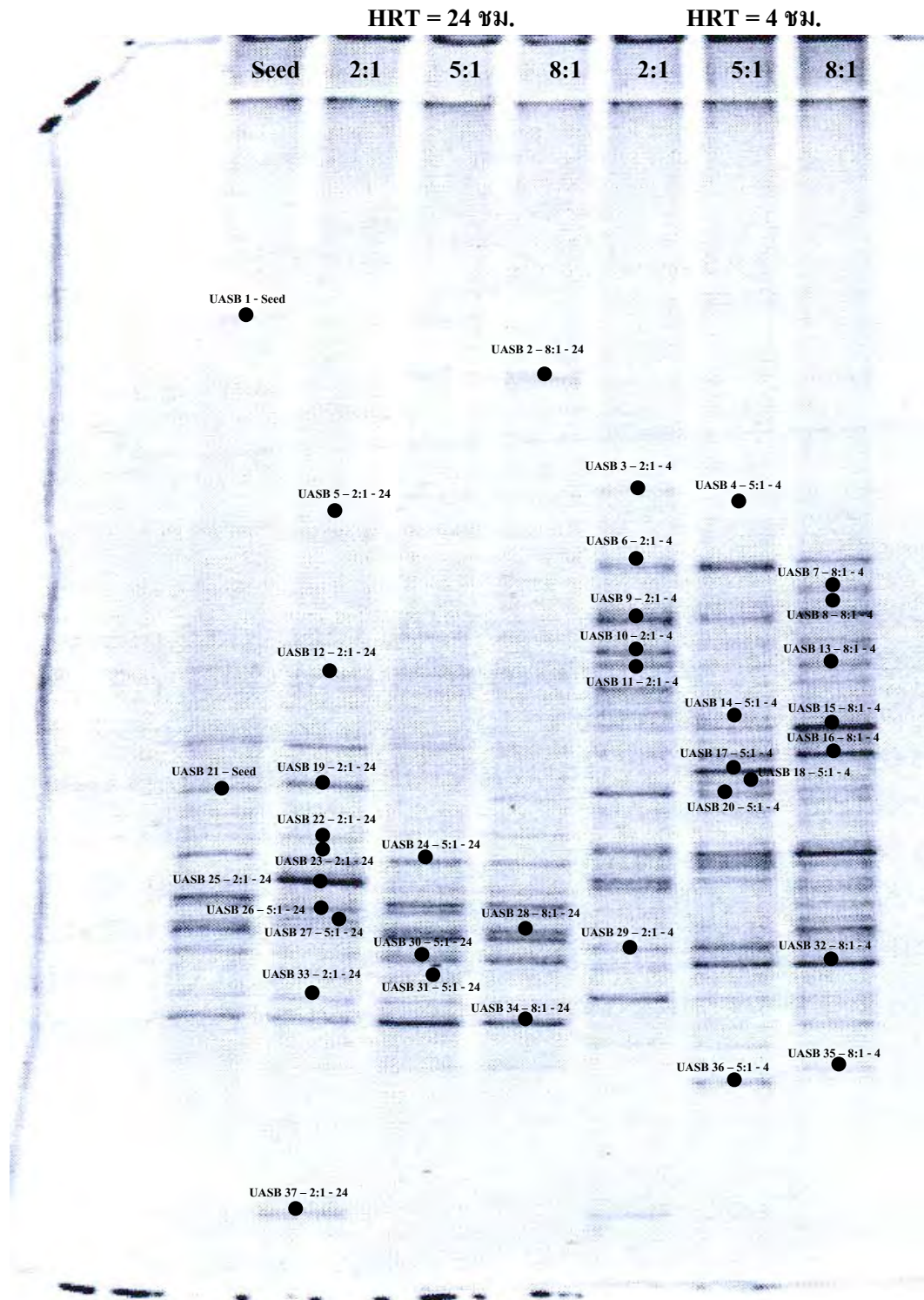
โดยเมื่อทำการสกัดแยกดีเอ็นเอรวมจากแต่ละตัวอย่างดังกล่าวและทำการเพิ่มจำนวนยีนในช่วงสายของ 16S rDNA และวิเคราะห์เพื่อจำแนกความแตกต่างของดีเอ็นเอด้วย DGGE ผลการวิเคราะห์แสดงดังรูปที่ 4.13 พบว่าจำนวนแถบ (Band) ที่เกิดขึ้นและลักษณะการเคลื่อนที่ของแถบ (Band pattern) จากตัวอย่างเม็ดตะกอนเริ่มต้นและที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดต่างๆ (2:1 5:1 และ 8:1) ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 ชั่วโมง มีความคล้ายคลึงกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างต่างๆ ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 4 ชั่วโมง พบว่าลักษณะการเคลื่อนที่ของแถบยังคงมีความคล้ายคลึงกันแต่แตกต่างกันที่ปริมาณแถบซึ่งมีน้อยกว่าที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 4 ชั่วโมง โดยแถบเหล่านี้จะแสดงถึงชนิดของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในระบบ ถ้ามีปริมาณแถบมากแสดงว่ามีความหลากหลายของจุลินทรีย์ในระบบมากส่วนความเข้มของแถบที่แตกต่างกันจะแสดงถึงความเป็นกลุ่มเด่นของจุลินทรีย์ชนิดนั้นในระบบ

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าระยะเวลาพักเก็บน้ำที่แตกต่างกัน (การเพิ่มภาระบรรทุกอินทรีย์คาร์บอนและไนเตรดในโตรเจนให้แก่ระบบ) จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบ โดยทั้งชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ที่พบที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 ชม. จะแตกต่างจากที่ 4 ชม. ซึ่งที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 ชม. การเติมไนเตรดและสารอินทรีย์คาร์บอนลงในระบบตามอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่กำหนดจะมีผลทำให้กลุ่มจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไปจากเริ่มต้นที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด 2:1 กลุ่มจุลินทรีย์จะใกล้เคียงกับหัวเชื้อเริ่มต้น แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดเป็น 5:1 และ 8:1 จุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่ปรากฏในระบบจะเปลี่ยนไปโดยจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบจะคล้ายคลึงกันในสองอัตราส่วนดังกล่าว ส่วนที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 4 ชม. การเติมไนเตรดและสารอินทรีย์คาร์บอนที่มากขึ้นลงในระบบจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทั้งปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบในระบบอย่างเห็นได้ชัด โดยปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบในระบบทุกอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดจะเพิ่มขึ้นและมีความคล้ายคลึงกัน



รูปที่ 4.13 การเคลื่อนที่ของแถบดีเอ็นเอบน DGGE ของจุลินทรีย์ในตัวอย่างตะกอน
เริ่มต้นและตัวอย่างจากถังปฏิกรณ์ยูเอสบีที่อัตราส่วนซีโอดีต่อในเทรต
2:1 5:1 และ 8:1 ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 และ 4 ชม. เมื่อใช้ความเข้มข้น
อะคริลาไมด์ 8% และมีความเข้มข้นของยูเรียในช่วง 20% - 60%

จากเจล DGGE ต้นแบบในรูป 4.13 ได้ทำการคัดเลือกแถบบนเจลที่มีความเข้มชัดเจน
เพื่อนำไปทำการเพิ่มจำนวนยีนในช่วงสาย 16S rDNA แสดงดังรูปที่ 4.14 และวิเคราะห์แยกสาย
ดีเอ็นเออีกครั้งด้วย DGGE ในเจลใหม่ เพื่อให้แถบที่ได้มีมีความบริสุทธิ์มากขึ้น พบว่าได้แถบที่มี
ความบริสุทธิ์ทั้งสิ้น 37 แถบ เพื่อนำไปศึกษาต่อในขั้นตอนการวิเคราะห์การจัดเรียงลำดับเบสบน
ช่วงสายดีเอ็นเอ (DNA Sequence Analysis)



รูปที่ 4.14 จุดแสดงแถบดีเอ็นเอบนเจล DGGE ของจุลินทรีย์ในตัวอย่างตะกอนเมื่อดำเนินการและตัวอย่างจากถังปฏิกรณ์ยูเอสบีที่คัดเลือกเพื่อนำไปหาลำดับเบส (โดยแต่ละจุดแสดงระบุด้วยลักษณะของ UASB-No.-COD:NO₃⁻-HRT)

ตารางที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงชนิดของจุลินทรีย์เริ่มต้นและจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ยูเอสบีของ อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตต่างๆ ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 และ 4 ชั่วโมง

แถบดีเอ็นเอ	Seed	ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 ชม.			ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 4 ชม.		
		2:1*	5:1*	8:1*	2:1*	5:1*	8:1*
UASB 1 - Seed	✓*						
UASB 2 - 8:1- 24				✓*			
UASB 3 - 2:1-4					✓*		
UASB 4 - 5:1- 4						✓*	
UASB 5 - 2:1- 4		✓*					
UASB 6 - 2:1 - 4					✓*	/	/
UASB 7 - 8:1 - 4							✓*
UASB 8 - 8:1 - 4							✓*
UASB 9 - 2:1 - 4					✓*	/	/
UASB 10 - 2:1- 4					✓*	/	/
USBA 11 - 2:1 - 4					✓*	/	/
UASB 12 - 2:1- 24	/	✓*	/	/	/	/	/
UASB 13 - 8:1- 4	/	/	/	/	/	/	✓*
UASB 14 - 5:1- 4					/	✓*	/
UASB 15 - 8:1- 4					/	/	✓*
UASB 16 - 8:1- 4	/	/	/	/	/	/	✓*
UASB 17 - 5:1 - 4	/	/	/	/	/	✓*	/
UASB 18 - 5:1- 4	/	/	/	/	/	✓*	/
UASB 19 - 2:1 - 24	/	✓*	/	/	/	/	/
UASB 20 - 5:1 - 4	/	/	/	/	/	✓*	/
UASB 21 - Seed	✓*						
UASB 22 - 2:1 - 24	/	✓*	/	/	/	/	/
UASB 23 - 2:1 - 24	/	✓*	/	/	/	/	/
UASB 24 - 5:1 - 24	/	/	✓*	/	/	/	/
UASB 25 - 2:1 - 24		✓*	/	/	/	/	/
UASB 26 - 5:1 - 24	/	/	✓*	/	/	/	/
UASB 27 - 5:1 - 24	/	/	✓*	/	/	/	/
UASB 28 - 8:1 - 24	/	/	/	✓*	/	/	/
UASB 29 - 2:1 - 4					✓*	/	/

ตารางที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงชนิดของจุลินทรีย์เริ่มต้นและจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดต่างๆ ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 และ 4 ชั่วโมง (ต่อ)

แถบดีเอ็นเอ	Seed	ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 ชม.			ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 4 ชม.		
		2:1*	5:1*	8:1*	2:1*	5:1*	8:1*
UASB 30 – 5:1 – 24			✓*	✓			
UASB 31 – 5:1 – 24			✓*	✓			
UASB 32 – 8:1 – 4						✓	✓*
UASB 33 – 5:1 – 24	✓	✓	✓*	✓	✓	✓	✓
UASB 34 – 8:1 -24	✓	✓	✓	✓*			✓
UASB 35 – 8:1 – 4							✓*
UASB 36 – 5:1 – 4						✓*	
UASB 37 – 2:1 - 24		✓*			✓	✓	

หมายเหตุ : * อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรด , ** แถบที่นำไปหาลำดับเบส

เมื่อได้ผลการจัดเรียงลำดับเบส (Base sequence) ของดีเอ็นเอ 37 แถบ ได้นำผลการทดลองมาทำการเปรียบเทียบกับข้อมูลที่เกี่ยวข้องรวบรวมไว้ด้วยโปรแกรม The Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) ซึ่งเป็นทางเลือกในฐานะข้อมูลสารพันธุกรรมของญี่ปุ่น (DNA Database in Japan; DDBI) ผลการทดลองที่ได้แสดงผลดังตารางที่ 4.3 พบว่าแถบตัวอย่างที่แยกได้เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีการเก็บรวบรวมไว้ มีความเหมือนของการจัดเรียงลำดับเบสอยู่ในช่วง 96 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 27 แถบ มีความเหมือนในช่วง 91 ถึง 95% จำนวน 10 แถบ และนำผลการเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลทั้งหมดดังกล่าวมาทำการสร้างต้นไม้แห่งวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ด้วยโปรแกรม ARB โดยการเปรียบเทียบกับ ssu rRNA ที่มีความยาวของลำดับเบส 1000 bp และเลือกใช้ unidentified archaeon (AB019733) เป็นสายพันธุ์นอกกลุ่ม (Outgroup species) และใช้ตัวย่อแทนแถบดีเอ็นเอที่ได้ทำการศึกษานี้ โดยแสดงดังรูปที่ 4.15

ตารางที่ 4.3 ผลการเปรียบเทียบลำดับเบสของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากการทดลองกับฐานข้อมูลลำดับเบสของจุลินทรีย์ที่มีการเก็บรวบรวมไว้และการจำแนกกลุ่มของจุลินทรีย์

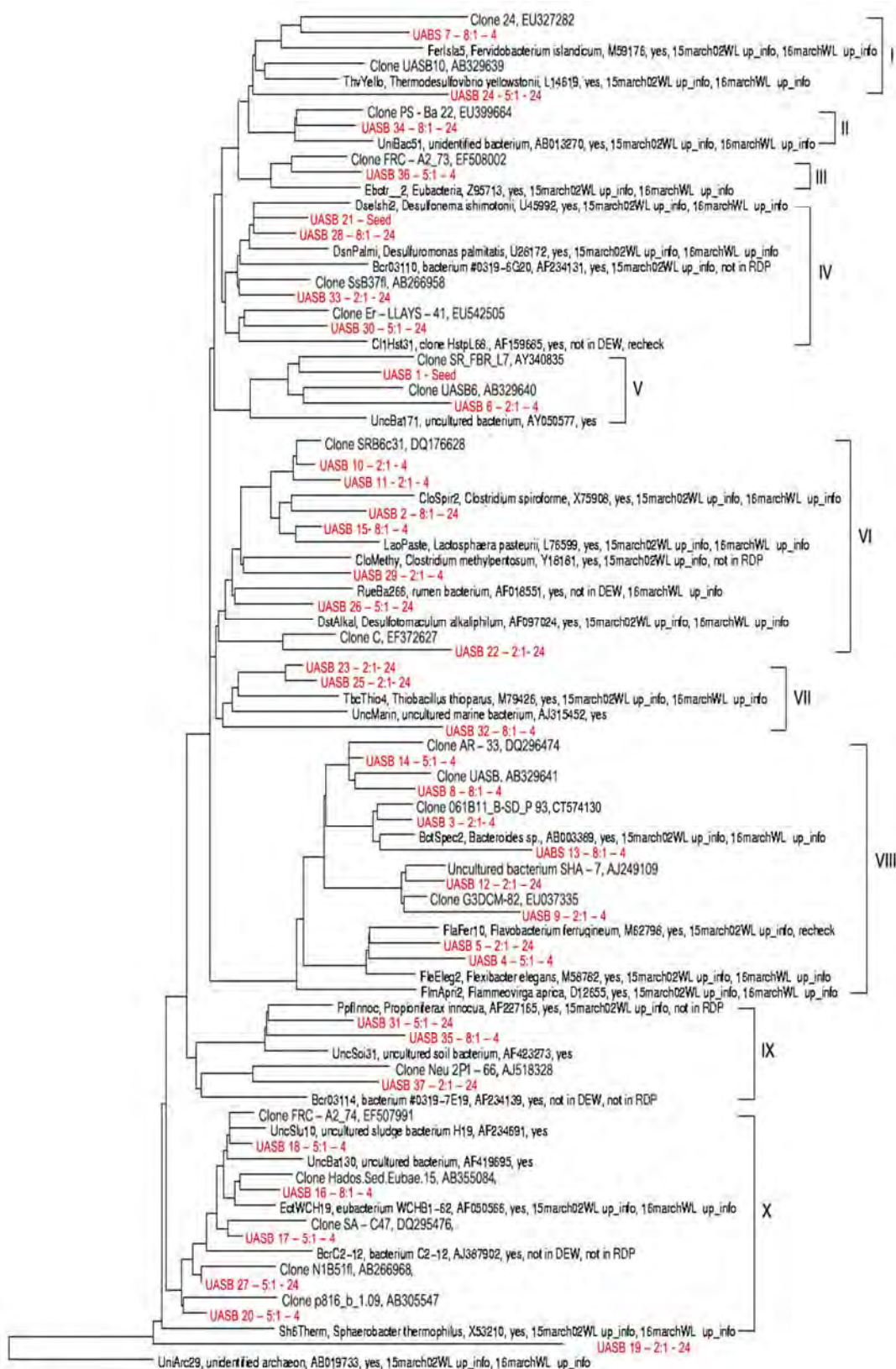
แลบตีเอ็นเอ	Closest species in GenBank	Similarity (%)	Clone	กลุ่มจุลินทรีย์
UASB 1 - Seed	Uncultured bacterium	100%	SR_FBR_L7	<i>Chlorobi</i>
UASB 2 - 8:1- 24	Uncultured bacterium	97%	Er-LLAYS-18	<i>Firmicutes</i>
UASB 3 - 2:1-4	Uncultured bacterium	96%	061B11_B_SD_P93	<i>Bacteroidetes</i>
UASB 4 - 5:1- 4	Uncultured bacterium	96%	F8	<i>Bacteroidetes</i>
UASB 5 - 2:1- 4	Uncultured bacterium	96%	AW03C03	<i>Bacteroidetes</i>
UASB 6 - 2:1 - 4	Uncultured bacterium	98%	UASB6	<i>Chlorobi</i>
UASB 7 - 8:1 - 4	Uncultured bacterium	98%	24	<i>Nitrospirae</i>
UASB 8 - 8:1 - 4	Uncultured bacterium	95%	UASB	<i>Bacteroidetes</i>
UASB 9 - 2:1 - 4	Uncultured bacterium	95%	G3DCM-82	<i>Bacteroidetes</i>
UASB 10 - 2:1- 4	Uncultured low G+C Gram-positive bacterium	91%	SRB6c31	<i>Firmicutes</i>
UASB 11 - 2:1- 24	Uncultured low G+C Gram-positive bacterium	93%	SRB6c31	<i>Firmicutes</i>
UASB 12 - 2:1 - 24	Uncultured bacterium	98%	SHA-7	<i>Bacteroidetes</i>
UASB 13 - 8:1- 4	Uncultured bacterium	92%	G10	<i>Bacteroidetes</i>
UASB 14 - 5:1- 4	Uncultured bacterium	98%	AR-33	<i>Bacteroidetes</i>
UASB 15 - 8:1- 4	Uncultured bacterium	99%	KFeR3-13	<i>Firmicutes</i>
UASB 16 - 8:1- 4	Uncultured bacterium	99%	Hados.Sed.Eubac.15	<i>Thermomicrobia</i>
UASB 17 - 5:1 - 4	Uncultured bacterium	96%	SA-C47	<i>Thermomicrobia</i>
UASB 18 - 5:1- 4	Uncultured bacterium	97%	FRC-A2_74	<i>Thermomicrobia</i>
UASB 19 - 2:1 - 24	Uncultured bacterium	93%	B51	<i>Thermomicrobia</i>
UASB 20 - 5:1 - 4	Uncultured bacterium	96%	p816_b_1.09	<i>Thermomicrobia</i>
UASB 21 - Seed	Uncultured bacterium	99%	D25_41	<i>Deltaproteobacteria</i>
UASB 22 - 2:1 - 24	Uncultured bacterium	91%	C	<i>Firmicutes</i>
UASB 23 - 2:1 - 24	Uncultured bacterium	96%	PA-B18	<i>Beta-proteobacteria</i>
UASB 24 - 5:1 - 24	Uncultured bacterium	98%	UASB10	<i>Nitrospirae</i>
UASB 25 - 2:1 - 24	Uncultured bacterium	97%	PA-B18	<i>Beta-proteobacteria</i>
UASB 26 - 5:1 - 24	Uncultured bacterium	99%	HnB87	<i>Firmicutes</i>
UASB 27 - 5:1 - 24	Uncultured bacterium	100%	N1B51fl	<i>Thermomicrobia</i>
UASB 28 - 8:1 - 24	Uncultured bacterium	99%	110	<i>Deltaproteobacteria</i>
UASB 29 - 2:1 - 4	Uncultured bacterium	98%	OTU6	<i>Firmicutes</i>

ตารางที่ 4.3 ผลการเปรียบเทียบลำดับเบสของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากการทดลองกับฐานข้อมูลลำดับเบสของจุลินทรีย์ที่มีการเก็บรวบรวมไว้และการจำแนกกลุ่มของจุลินทรีย์ (ต่อ)

แลตตีเอ็นเอ	Closest species in GenBank	Similarity (%)	Clone	กลุ่มจุลินทรีย์
UASB 30 – 5:1 – 24	Uncultured bacterium	97%	Er-LLAYS-41	<i>Deltaproteobacteria</i>
UASB 31 – 5:1 – 24	Uncultured bacterium	96%	UASB13	<i>Actinobacteria</i>
UASB 32 – 8:1 – 4	Uncultured bacterium	98%	PL-38B12	<i>Beta-proteobacteria</i>
UASB 33 – 5:1 – 24	Uncultured bacterium	94%	SsB37fl	<i>Deltaproteobacteria</i>
UASB 34 – 8:1 -24	Uncultured bacterium	96%	PS-Ba22	<i>OP8</i>
UASB 35 – 8:1 – 4	Uncultured bacterium	93%	ADC4	<i>Actinobacteria</i>
UASB 36 – 5:1 – 4	Uncultured bacterium	97%	FRC-A2_73	<i>Acidobacteria</i>
UASB 37 – 2:1 - 24	Uncultured bacterium	95%	Neu2P1-66	<i>Actinobacteria</i>

จากรูปที่ 4.15 พบว่าจากลำดับเบสทั้งหมด 37 แถบ ที่แยกได้จากตัวอย่างตะกอนที่ใช้ในการศึกษานี้สามารถจัดลำดับกลุ่มของจุลินทรีย์ภายในต้นไม้แห่งวิวัฒนาการที่สร้างขึ้นได้ทั้งหมด 10 กลุ่ม ได้แก่

1. *Nitrospirae* คือแบคทีเรียที่เปลี่ยนสารประกอบไนโตรเจนเป็นไนเตรด ซึ่งพบได้ในน้ำ และตะกอนจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสีย (Stevenson และคณะ, 2004)
2. *OP8* คือแบคทีเรียที่พบได้ในตะกอนดินทะเล (Parkes และคณะ, 2007)
3. *Acidobacteria* คือแบคทีเรียที่พบในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารหลากหลายชนิด โดยที่ *Acidobacteria* จะย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนน้อย (Microaerophilic) (Stevenson และคณะ, 2004)
4. *Deltaproteobacteria* คือแบคทีเรียลคซัลเฟตที่พบในถังย่อยไร้อากาศของการบำบัดเบนซิน (Flores และคณะ, 2006) และในตะกอนดินทะเล (Parkes และคณะ, 2007)
5. *Chlorobi* คือแบคทีเรียที่พบในตะกอนดิน (Asakawa และคณะ, 2008)
6. *Firmicutes* คือแบคทีเรียที่พบในถังย่อยไร้อากาศ (Marina และคณะ, 2007)
7. *Betaproteobacteria* คือแบคทีเรียที่พบในตะกอนดิน (Jian และคณะ, 2008)
8. *Bacteroidetes* คือแบคทีเรียที่มีลักษณะรูปร่างเป็นเส้นสาย (Filamentous) (Xia และคณะ, 2007) พบในถังย่อยไร้อากาศ (Marina และคณะ, 2007)
9. *Actinobacteria* คือแบคทีเรียที่ใช้ในเทอร์ตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนด้วยกระบวนการรีดิวซ์ไนเตรดในระบบไร้อากาศ (Tan และ Reinhold-Hurek, 2003) ซึ่งพบได้ในถังย่อยไร้อากาศ (Marina และคณะ, 2007)
10. *Thermomicrobia* คือแบคทีเรียในถังกรองไร้อากาศ (Friedrich และคณะ, 2005)



รูปที่ 4.15 ต้นไม้แห่งวิวัฒนาการจากการเปรียบเทียบลำดับเบสของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากถังปฏิกรณ์
ยูเอสบีที่สภาวะต่างๆกับฐานข้อมูลลำดับเบส เมื่อใช้ความยาวของลำดับเบสเท่ากับ 1000 bp

ตารางที่ 4.4 แสดงการแจกแจงของจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นบนต้นไม้แห่งวิวัฒนาการ

ลำดับกลุ่ม	กลุ่มจุลินทรีย์	จำนวนแถบดีเอ็นเอ จากการทดลอง
I	<i>Nitrospirae</i>	2
II	<i>OP8</i>	1
III	<i>Acidobacteria</i>	1
IV	<i>Deltaproteobacteria</i>	4
V	<i>Chlorobi</i>	2
VI	<i>Firmicutes</i>	7
VII	<i>Betaproteobacteria</i>	3
VIII	<i>Bacteroidetes</i>	8
IX	<i>Actinobacteria</i>	3
X	<i>Thermomicrobia</i>	6

ผลการศึกษาข้างต้นพบว่าจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่ทำการศึกษาเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มไร้อากาศทั้งสิ้น โดยจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบ คือ *Bacteroidetes*, *Firmicutes* และ *Thermomicrobia* ซึ่งมีการกระจายตัวของจุลินทรีย์อยู่ในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้น และอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตต่างๆ ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่จุลินทรีย์กลุ่มย่อย คือ *Nitrospirae*, *OP8*, *Actinobacteria*, *Chlorobi*, *Deltaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* และ *Acidobacteria* ที่มีการกระจายตัวของจุลินทรีย์เหมือนกับจุลินทรีย์กลุ่มเด่น ซึ่งในการจัดเรียงกลุ่มจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์นั้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนมากนัก ดังนั้นการพิจารณาความแตกต่างของการจัดเรียงแถบในเจลดันแบบ ปริมาณแถบและความเข้มของแถบในแต่ละอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่เกิดขึ้นทำให้ทราบว่าระยะเวลาพักเก็บน้ำมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ภายในถังปฏิกรณ์มากกว่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตต่างๆ เนื่องจากเมื่อการะบรทุกอินทรีย์คาร์บอนและไนเตรตในโตรเจนเพิ่มขึ้นผลให้ปริมาณและของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสนับสนุน โดยรายงานการวิจัยเกี่ยวกับความหลากหลายของกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบบำบัดแบบไร้อากาศต่างๆ แสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบผลการศึกษาคความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์จากงานวิจัยนี้กับงานวิจัยอื่นๆในระบบยูเอเอสบี

สถานะการศึกษา	เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์	แบคทีเรียชนิดเด่น	ที่มา
กระบวนการดีไนตริฟิเคชันในเมื่อดตะกอนจุลินทรีย์จากระบบยูเอเอสบี	PCR - DGGE	<i>Proteobacteria</i> <i>Bacteroidetes</i> <i>Chloroflexi</i> <i>Actinobacteria</i> <i>Fimicutes</i>	Nuria และคณะ, (2007)
การศึกษาตะกอนจุลินทรีย์จากระบบยูเอเอสบีที่บำบัดน้ำเสียจากไวน์	PCR - DGGE	<i>Fimicutes</i> <i>Nitrospirae</i> <i>Deferribacteres</i>	Emiliano และคณะ, (2006)
การศึกษาจุลินทรีย์ในถังปฏิกริยาเมมเบรนในสถานะ Anoxic/anaerobic	PCR - DGGE	β - <i>Proteobacteria</i> <i>Actinobacteria</i>	Zubair และคณะ, (2006)
การศึกษาคความหนาแน่นของดีไนตริไฟเออร์ในระบบ Fluidized bed reactor	PCR- DGGE	β - <i>Proteobacter</i> α - <i>Proteobactei</i> γ - <i>Proteobactei</i> (low G + C) <i>Grampositive bacteria</i>	Gentile และคณะ, (2006)
งานวิจัยนี้	PCR- DGGE	<i>Fimicutes</i> <i>Bacteroidetes</i> <i>Thermomicrobia</i>	

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษาหาประสิทธิภาพของระบบยูเอเอสบีในการบำบัดไนเตรตควบคู่กับซีโอดีและระยะเวลาเก็บน้ำเสียที่เหมาะสมสำหรับการเดินระบบโดยกำหนดให้น้ำเสียมีอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ 2:1 5:1 และ 8:1 และระยะเวลาเก็บน้ำเสียที่ 24 12 8 และ 4 ชั่วโมง ป้อนน้ำเสียด้วยความเร็วไหลขึ้น 0.25 ม./ชม. ใช้น้ำตาลทรายเป็นแหล่งคาร์บอน และมีความเข้มข้นของไนเตรตที่ 100 มก./ลิตร สรุปผลการทดลองได้ดังนี้

5.1.1 อิทธิพลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรต

สำหรับความเข้มข้นไนเตรตเริ่มต้น 100 มก./ลิตร ระยะเวลาเก็บน้ำ 24 ชั่วโมง อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ 2:1 มีประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี ไนเตรตและไนไตรต์ที่ 85.00 และ 58.00 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ 5:1 มีประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี ไนเตรตและไนไตรต์ที่ 93.68 และ 96.62 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ 8:1 มีประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี ไนเตรตและไนไตรต์ที่ 95.99 และ 99.82 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ไม่สามารถบำบัดไนเตรตและไนไตรต์ได้หมดคือ 2:1 ซึ่งมีความเข้มข้นของซีโอดีในน้ำเสียดำทำให้ประสิทธิภาพการบำบัดต่ำ ในขณะที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ 5:1 และ 8:1 สามารถบำบัดไนเตรตและไนไตรต์ได้หมดพอดี คาดว่ามีซีโอดีมากเกินไปสำหรับการเกิดปฏิกิริยาดิไนตริฟิเคชันทำให้มีประสิทธิภาพการบำบัดสูง แสดงว่าอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่เหมาะสมต่อการบำบัดซีโอดีและไนเตรตในระบบยูเอเอสบีคือ 5:1 – 8:1

5.1.2 อิทธิพลของภาระบรรทุกไนเตรตในโตรเจน

สำหรับความเข้มข้นไนเตรตเริ่มต้น 100 มก./ลิตร การเปลี่ยนแปลงระยะเวลาเก็บน้ำในช่วง 12-4 ชั่วโมง มีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดไนเตรตและไนไตรต์ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ 5:1 และ 8:1 น้อยมาก ซึ่งประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี ไนเตรตและไนไตรต์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ 2:1 มีประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดี ไนเตรตและไนไตรต์ที่ 70-80 และ 10-40 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าระยะเวลาไม่มีผลต่อการบำบัดไนเตรตและไนไตรต์ เนื่องจากการลดระยะเวลาเก็บน้ำเสียดังแต่ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี ไนเตรตและไนไตรต์ยังคงมีลักษณะคล้ายที่ระยะเวลาเก็บน้ำเสียที่ 24 ชั่วโมง ในทุกอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่กำหนด แต่ในทางปฏิบัติถ้าสามารถลดระยะเวลาเก็บน้ำเสียให้น้อยที่สุดได้ จะทำให้

สามารถบำบัดน้ำได้ปริมาณมากขึ้นหรือสามารถลดขนาดถังปฏิกรณ์ได้ ดังนั้นระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการบำบัดในเทรตในระบบยูเอเอสบีคือ 4 ชั่วโมง

5.1.3 ความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกริยาเยเอสบี

สำหรับตะกอนจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเทรตต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลองเกิดการเกาะกลุ่มเป็นเม็ดอีกครั้ง และนำมาถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscopy: SEM ;JEOL รุ่น JSM- 5410LV) แสดงให้เห็นว่า โครงสร้างบริเวณผิวรอบนอกของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน แต่เมื่อพิจารณาที่โครงสร้างภายในของเม็ดตะกอนจุลินทรีย์พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน เนื่องจากลักษณะของจุลินทรีย์ที่พบมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันทั้งในเม็ดตะกอนจุลินทรีย์เริ่มต้นและเม็ดตะกอนจุลินทรีย์ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเทรตต่างๆ

สำหรับตะกอนตัวอย่างในการทดสอบความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค PCR-DGGE คือ ตะกอนเม็ดเริ่มต้นจากระบบบำบัดไร้อากาศของบริษัทเสริมสุขจำกัด ตะกอนเม็ดจากระบบยูเอเอสบีที่อัตราส่วนซีโอดีต่อไนเทรตที่ 2:1 5:1 และ 8:1 ตามลำดับ พบว่าที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 4 ชม. (การบรรพทุกอินทรีย์คาร์บอนและไนเทรตในโตรเจนเพิ่มขึ้น) ยังผลให้ปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น โดยที่ในทุกอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเทรตมีปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์มากกว่าที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 ชม. และพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่พบในถังปฏิกรณ์ยูเอเอสบีคือ *Bacteroidetes*, *Firmicutes* และ *Thermomicrobia* ซึ่งมีการกระจายตัวอยู่ในตะกอนเม็ดจุลินทรีย์เริ่มต้นและในทุกอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเทรต ที่ระยะเวลาพักเก็บน้ำ 24 และ 4 ชม. และจุลินทรีย์กลุ่มย่อยที่พบคือ *Nitrospirae*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Chlorobi*, *Betaproteobacteria* และ *OP8* ซึ่งจัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มไร้อากาศทั้งสิ้นที่พบในตะกอนดินและในระบบบำบัดแบบไร้อากาศ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรทำการศึกษาประสิทธิภาพของระบบยูเอเอสบีโดย

1. การนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจริงของไนเทรต เช่น น้ำเสียจากโรงงานผลิตปุ๋ย อุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมเคมี

2. ควรทำการศึกษาความหลากหลายของประชากรจุลินทรีย์โดยใช้ PCR primer ทั้งชนิดที่เป็น Universal primer และ primers สำหรับ Archaea เพื่อให้เห็นผลการศึกษาที่ชัดเจนและครอบคลุมกลุ่มจุลินทรีย์ทุกชนิดทั้งกลุ่มที่ต้องการอากาศ กึ่งไร้อากาศ และไร้อากาศ

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กรรมนิภา ศรีปัญญา. การกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในบ่ออนุบาลลูกกุ้งโดยกระบวนการไนตริฟิเคชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาคุุณบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2545.

จิระศักดิ์ เงินทวี, ธนาพรรณ พงพันธ์ และ ประพันธ์ พงษ์เกียรติกุล. ผลของเวลากักเก็บน้ำต่อสมรรถนะของระบบยูเอเอสบี. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2541.

ธีระ เกรอด. วิศวกรรมน้ำเสียการบำบัดทางชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์. การกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทางชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพมหานคร: สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย, 2544.

พีรณย์ หมั่นภักดี. การเกิดตะกอนเมืงของระบบยูเอเอสบีด้วยตะกอนแห้งแอกติเวเต็ดสลัดจ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2546

พีรพงษ์ ทิพยากร. การบำบัดน้ำเสียความเข้มข้นต่ำด้วยระบบยูเอเอสบี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2530.

ภูคำ พิมพ์จักร. การใช้กระบวนการยูเอเอสบี-แอนอกซิก-แอโรบิก ในการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มและไนโตรเจนสูงจากน้ำเสียสะพานปลา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2546.

มันสิน ดัชนีกุลเวสน์. เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม. เล่มที่1และ2. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2542.

สมเพลิน คำศรี. การกำจัดไนเตรดถึงกรองไร้อากาศแบบไหลขึ้นที่มีกิจกรรมดีไนตริฟิเคชัน เมธาโนเจนซิส และ แอมโมนิฟิเคชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2542.

สุทธาศินี อ่วมจันทร์. การเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแบคทีเรียในตัวกรองชีวภาพแบบไนตริฟิเคชันและดีไนตริฟิเคชันสำหรับเพราะเลี้ยงทางน้ำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2546.

ศิริวัฒน์ คูเจริญไพบุลย์. การกำจัดสารประกอบไนโตรเจนในตู้เลี้ยงปลาน้ำจืดระบบปิดโดยกระบวนการไนตริฟิเคชันและดีไนตริฟิเคชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2544.

ภาษาอังกฤษ

- Akunna, J. C., Bizeau, C. and Moletta, R. Denitrification in anaerobic digesters: possibilities and influence of wastewater COD/N-NO_x ratio. Environmental Technology, 13 (1992): 825-836.
- Asakawa, S. and Makoto, K. Comparison of bacterial community structures at main habitats in paddy field ecosystem based on DGGE analysis. Soil Biology & Biochemistry . 40 (2008): 1322–1329.
- Bilanovic, D., Battistioni, P., Cecchi, F., Pavan, P. and Mata, J. Denitrification under high nitrate concentration and alternating anoxic conditions. Water Research. 33 (1999): 3311-3320.
- Bitton, G. Wastewater microbiology. Wiley- Liss: U.S.A. (1994).
- Delwiche , C.C. Denitrification Nitrification and Atmospheric Nitrous Oxide. NewYork. John Wiley and Sons. (1981): 286.
- EI-Mamouni, R., Leduc, R. and Guiot, S. R. Influence of Synthetic and Natural Polymers on the Anaerobic Granulation Process. Water Science and Technology. 38 (1998): 341-347.
- Emiliano, E. D., Alfons, J. M., Stams, R. A. and Jose, L. S. Phenotypic Properties and Microbial Diversity of Methanogenic Granules from a Full-Scale Upflow Anaerobic Sludge Bed Reactor Treating Brewery Wastewater. Applied and Environmental Microbiology. (2006): 4942–4949.
- Fang, H. H. P. and Liu, H. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture. Bioresource Technology. 82 (1) (2002): 87-93.
- Flores, A. S. P., Gwon, E. M., Sim, D. M., Nisola, G., Galera, M. M., Chon, S. S., Chung, W. J., Pak, D. W., Ahn, Z. S. Performance evaluation of pilot scale sulfur-oxidizing denitrification for treatment of metal plating wastewater. J. Environ. Sci. Heal. 41 (2006): 101–116.
- Franco, A., Roca, E. and Lema, J. M. Granulation in high-load denitrifying upflow sludge bed (USB) pulsed reactor. Water Research. 40 (2006): 871-880.
- Friedrich, M. W. Methyl-coenzyme M reductase genes: unique functional markers for methanogenic and anaerobic methane-oxidizing Archaea. Methods Enzymol. 397 (2005): 428–442.
- Gentile1, M., Yan, T., Tiquia, S. M., Fields, M. W., Nyman, J., Zhou, J. and Criddle, C. S. Stability in a Denitrifying Fluidized Bed Reactor. Microbial Ecology. 52 (2006): 311–321.

- Gonzalez, G. G., Lens, P. N. L., Van, A. A., Van, A. H., Versprille, A. I. and Letting, G. Cluster Structure of Anaerobic Aggregates of an Expanded Granular Sludge Bed Reactor. Applied And Environmental Microbiology. (2001): 3683-3692.
- Guiot, S. R., Pauss, A. and Costerton, J. W. A structured model of the anaerobic granules consortium. Water Science Technology. 25 (1992): 1-10.
- Hulshoff, P. L., Dolfing, J., Zeeuw, W. J. and Lettinga, G. Cultivation of Well Adapted Pelletized Methanogenic Sludge. Biotechnology Letters. 4 (1982): 329-332.
- Hulshoff, P. L., Zeeuw, W. J., Velzeboer, C. T. M. and Lettinga, G. Granulation in UASB Reactor. Water Science and Technology. 15 (1983): 291-304.
- Hulshoff, P. L.W., Castro Lopes, S. I., Lettinga, G. and Lens, P. N. L. Anaerobic sludge granulation. Water Research. 38 (2004): 1376–1389.
- Jian, H. Q., Hong, L. Y., En, T. W., Cui, L. and Huai, Z. H. Bacterial diversity in sediments of the eutrophic Guanting Reservoir, China, estimated by analyses of 16S rDNA sequence. Biodivers Conserv 17 (2008): 1667–1683.
- Jun, H. B., Park, S. M., Park, J. K., Choi, C. O. and Lee, J. S. Nitrogen removal in upflow sludge blanket (USB) reactor combined by anaerobic biofiltration systems. Water Sci Tech. 49(5)(2004): 191-197.
- 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 three different types of UASB granules. Systematic and applied microbiology. 24 (2005): 552-560.
- Lettinga, G., Van, V. A. F. M., Hobma, S. W. De, Z. W. and Klapwijk, A. Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological waste water treatment, especially for anaerobic treatment. Biotechnol Bioeng. 22 (1980): 699-734.
- MacLeod, F. A., Guiot, S. R. and Costerton, J. W. Layered structure of bacteria aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. Appl Environ Microbiol. 56 (1990): 1598-1607.
- Marina, M., Jean, P. D. and Jean, J. G. Differences in the aerosolization behavior of microorganisms as revealed through their transport by biogas. Science of the Total Environment .379 (2007): 75–88.
- McCarty, P. L., Beck, L. A. and St. Amant, P. P. Biological denitrification of wastewaters by addition of organic materials. Proc. 24 th Ind. Waste Conf. Purdue U. (1969): 1271-1285.

- Muyzer, G. 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.
- Nuria, F., Reyes, S. A., James, A. F., Ricardo, A. and Jose, L. S. Microbial community dynamics in a chemolithotrophic denitrification reactor inoculated with methanogenic granular sludge. Chemosphere. 70 (2007): 462–474
- Parkes, J. R., Barry, A., Cragg, N. B., Fiona, B., Gordon, W., John, C. F., Hornibrook, Richard, D. P., Sam, K., Nina, K., Bo, B., Jorgensen, J. R. and Andrew, J. W. Biogeochemistry and biodiversity of methane cycling in subsurface marine sediments (Skagerrak, Denmark). Environmental Microbiology. 9 (5) (2007): 1146–1161.
- Ruiz, G., Jeison, D. and Chamy, R. Development of denitrifying and methanogenic activities in USB reactor for the treatment of wastewater : effect of COD/N ratio. Process Biochemistry. 41 (2006): 1338-1342.
- Stevenson, B. S., Eichorst, S. A, Wertz, J. F, Schmidt, T. M and Breznak, J. A. New strategies for cultivation and detection of previously uncultured microbes. Appl Environ Microbiol. 70 (2004): 4748–4755
- Speece, R.E. Anaerobic Biotechnology. Published by Archae Press, 1996
- Tan, Z. Y, Reinhold, H. B. *Dechlorosoma suillum* Achenbach et al. 2001 is a later subjective synonym of *Azospira oryzae* Reinhold-Hurek and Hurek 2000. Int J Syst Evol Micr. 53 (2003): 1139–1142
- Ying, C. C. and Ming, S. C. Determination of optimal COD/nitrate ratio for biological denitrification. International Biodeterioration&Biodegradation. 51 (2003): 43-49.
- Yoshie, S., Noda, N., Miyano, T., Tsuneda, S., Hirata, A. and Inamori, Y. Microbial community analysis in the denitrification process of saline-wastewater by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR- amplified 16S rDNA and the cultivation method. Journal of Bioscience and Bioengineering. 92 (2001): 346-353.
- Wen, J., Pan, L., Du, L. and Mao, G. The denitrification treatment of low C/N ratio nitrate - nitrogen wastewater in a gas-liquid-solid fluidized bed bioreactor. Chem Eng J. 94 (2003): 155-159.
- Xia, Y., Kong, Y., and Nielsen, P. H. In situ detection of protein-hydrolyzing microorganisms in activated sludge. FEMS Microbiol Ecol. 60 (2007): 156–165.

- Zhang, T. and Fang, H. H. Phylogenetic diversity of a SBR- rich marine biofilm. Appl Microbiol Biotechnol. 57 (2001): 437-440
- Zubair, A., Byung, R. L., Jinwoo, C. and Kyu, H. A. Effects of the internal recycling rate on biological nutrient removal and microbial community structure in a sequential anoxic/anaerobic membrane bioreactor. Bioprocess Biosyst Eng. 30 (2007): 61–69.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
รายการคำนวณ

ก. 1 การคำนวณอัตราไหลของเครื่องสูบน้ำเสียและเครื่องสูบน้ำทิ้งเวียนกลับ

กำหนด HRT = 1 วัน

ปริมาตรถังปฏิกรณ์ = 5 ลิตร

จะได้ $Q = 5$ ลิตร/วัน

$$= 3.5 \text{ ชม.}^3/\text{นาที}$$

จะได้ความเร็วไหลขึ้นของเครื่องสูบน้ำเสียจาก

$$A = \pi d^2/4$$

$$= \pi(5.4)^2/4$$

$$= 23 \text{ ชม.}^2$$

จาก $V = Q/A$

$$= 3.5 (\text{ชม.}^3/\text{นาที})/23 \text{ ชม.}^2$$

$$= 0.09 \text{ ม/ชม}$$

กำหนดความเร็วไหลขึ้นเฉลี่ยเท่ากับ 0.25 ม/ชม

จะได้ความเร็วไหลขึ้นของเครื่องสูบน้ำทิ้งเวียนกลับจาก

$$0.25 - 0.09 = 0.16 \text{ ม/ชม}$$

และจาก $V = Q/A$

จะได้ $Q = 0.16 (\text{ม/ชม}) * 23 \text{ ชม.}^2$

$$= 6 \text{ ชม.}^3/\text{นาที}$$

ก. 2 การคำนวณสารอาหารที่ใช้ในการทดลอง

การคำนวณสารอาหารเสริม

ใช้สารอาหารตามสูตรของ Speece แต่เนื่องจากสารอาหารบางชนิดที่ใช้เป็นแบบ Industrial หรือ Commercial Grade จึงต้องคำนวณค่าความบริสุทธิ์ของสารด้วย และจากการเตรียมสารอาหารได้เตรียมเก็บไว้เพื่อความสะดวกในการใช้ดังนี้

1. สารที่ไม่ได้ผสมเก็บไว้ (เตรียมน้ำเสีย 5 ลิตร/วัน)

NaHCO_3 ใช้ $6000 \text{ มก/ลิตร} \times 5 \text{ ลิตร/วัน} \times 1/\text{purity} = 6000 \times 5 \times 1/0.99 = 30.3 \text{ กรัม}$

2. สารอาหารหลักและสารอาหารเสริมรอง ทำ stock ไว้ 20 เท่า ในปริมาตรน้ำ 150 ลิตร

NH_4Cl เตรียม $400 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 400 \times 150 \times 1/0.995 \times 20 = 1206 \text{ กรัม}$

KCl $400 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 400 \times 150 \times 1/0.99 \times 20 = 1212 \text{ กรัม}$

$\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $400 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 400 \times 150 \times 1/0.985 \times 20 = 1218 \text{ กรัม}$

$(\text{NH}_4)\text{HPO}_4$ $80 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 80 \times 150 \times 1/0.9815 \times 20 = 245 \text{ กรัม}$

สารที่มี purity 100 %

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เตรียม $50 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 20 \text{ เท่า} = 150 \text{ กรัม}$

$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ เตรียม $40 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 20 \text{ เท่า} = 120 \text{ กรัม}$

$\text{CoCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ เตรียม $10 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 20 \text{ เท่า} = 30 \text{ กรัม}$

$(\text{NaPO}_3)_6$ เตรียม $10 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 20 \text{ เท่า} = 30 \text{ กรัม}$

KI เตรียม $10 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 20 \text{ เท่า} = 30 \text{ กรัม}$

สารที่ใช้ปริมาณน้อยมาก (ไม่คิด% purity)

$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ เตรียม $0.5 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 1.5 \text{ กรัม}$

NH_4VO_3 เตรียม $0.5 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 1.5 \text{ กรัม}$

$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เตรียม $0.5 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 1.5 \text{ กรัม}$

ZnCl_2 เตรียม $0.5 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 1.5 \text{ กรัม}$

$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เตรียม $0.5 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 1.5 \text{ กรัม}$

H_2BO_3 เตรียม $0.5 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 1.5 \text{ กรัม}$

$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เตรียม $0.5 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 1.5 \text{ กรัม}$

$\text{NaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ เตรียม $0.5 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 1.5 \text{ กรัม}$

NaSeO_3 เตรียม $0.5 \text{ มก/ลิตร} \times 150 \text{ ลิตร} \times 1/\text{purity} \times 20 \text{ เท่า} = 1.5 \text{ กรัม}$

ก. 3 การทดสอบความสามารถจำเพาะของเม็ดจุลินทรีย์ (Specific methanogenic activity: SMA)

การทำเอสเอ็มเอ็มมีวัตถุประสงค์ในการวัดปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบ โดยทำการทดลองในขวดไวอัล ขนาด 125 มิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีการทดลองดังนี้

1. เตรียมเม็ดตะกอนที่ผ่านการอบแห้งแล้วประมาณ 2 กรัมต่อ 1 ตัวอย่าง
2. เตรียมสารอาหาร โดยแบ่งเป็น 3 ชุดการทดลองดังนี้

ชุดที่ 1 ใช้กรดอะซิติกเป็นตัวแทนของค่าซีไอดี 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับอาหารเสริมสำหรับระบบบำบัดแบบไร้อากาศ ซึ่งทำการปรับพีเอชให้อยู่ระดับที่เป็นกลาง (6.8-7.0) โดยการเติมสาร โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3)

ชุดที่ 2 ใช้น้ำตาลเป็นตัวแทนของค่าซีไอดี 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับสารอาหารเช่นเดียวกัน พร้อมทั้งบัฟเฟอร์กรดโดยการเติม โซเดียมไบคาร์บอเนต และทำการปรับพีเอชให้อยู่ในระดับที่เป็นกลางด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl)

ชุดที่ 3 หลังจากทำการทดลองโดยใช้กรดอะซิติกเป็นแหล่งซีไอดีจนเสร็จสิ้นแล้ว จึงทำการเปลี่ยนสารอาหารในขวดไวอัลอีกครั้ง โดยใช้กรดโพไฟอีนิกความเข้มข้นประมาณ 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นแหล่งซีไอดีแทนกรดอะซิติก ทำการเติมสารอาหารและปรับพีเอชให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนตเช่นเดียวกัน
3. ทำการใส่เม็ดตะกอนแห้งในข้อแรกและสารอาหารที่เตรียมไว้ในข้อ 2 ลงในขวดไวอัล โดยให้มีปริมาตรของของเหลวในขวดประมาณ 80 มิลลิลิตร
4. ทำการไล่อากาศออกจากขวดโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 30 เปอร์เซ็นต์ และไนโตรเจน 70 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นจึงปิดฝาขวดด้วยจุกยางลวดล้อมด้วยฝาลูมิเนียมจนแน่น เพื่อป้องกันการรั่วไหลของก๊าซที่เกิดขึ้น
5. ทำการวัดปริมาตรก๊าซที่เกิดขึ้นที่ระยะเวลาต่างๆ โดยวิธีการแทนที่น้ำ
6. นำไปหาเปอร์เซ็นต์สัดส่วนของก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องจีซี (Gas Chromatograph, GC) คอลัมน์ TCD
7. นำค่าปริมาณก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นไปสร้างกราฟ โดยใช้ความสัมพันธ์ระหว่างค่ามิลลิลิตรมีเทนสะสมกับเวลา
8. นำเม็ดตะกอนหลังการเสร็จสิ้นการทดลองทั้งหมดไปหาค่าวีเอสเอส (Volatile Suspended Solid, VSS)
9. นำค่าความชันกราฟในช่วงที่ได้สูงสุดไปคำนวณหาค่าเอสเอ็มเอ็มดังนี้

$$\text{Specific Methanogenic Activity, SMA} = \frac{gCH_4 - COD}{t \times B}$$

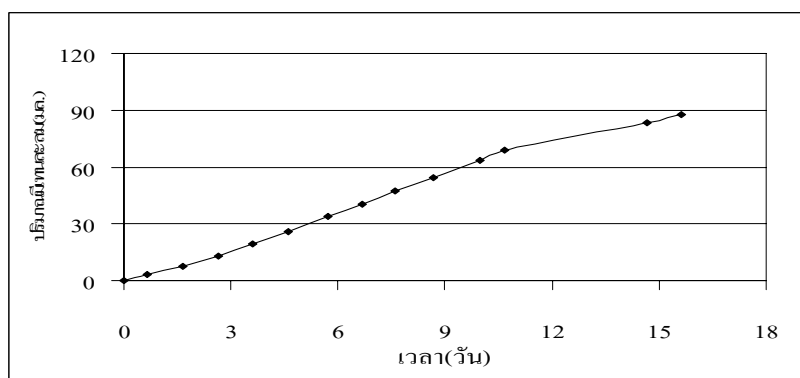
เมื่อ $gCH_4 - COD/t$ = ค่าความชันกราฟในช่วงสูงสุด

B = ปริมาณจุลินทรีย์หลังจากเสร็จสิ้นการทดลอง (กรัมวีเอสเอส)

10. เมื่อสิ้นสุดการทดลองในรอบแรกแล้ว จะทำการเปลี่ยนสารอาหารภายในขวดไว้อัล โดยนำสารอาหารที่มีอยู่เดิมออก แล้วเติมสารอาหารที่เตรียมขึ้นใหม่ลงไป โดยยังมีค่าซีไอดีและความเข้มข้นของสารอาหารเสริมหลักและสารอาหารเสริมรองต่างๆ คงเดิม แล้วทำการทดลองต่อไปตามขั้นตอนที่ได้กล่าวมา ทำเช่นนี้ประมาณ 3-4 รอบ (ขึ้นอยู่กับผลการทดลองที่ได้) เพื่อศึกษาถึงระยะเวลาการฟื้นตัวของแบคทีเรีย

ก. 4 แสดงตัวอย่างการคำนวณค่าความสามารถจำเพาะของเม็ดจุลินทรีย์ในการสร้างมีเทน

จากข้อมูลการทดลอง SMA ก่อนการเติมเทรต ที่อัตราส่วนซีไอดีต่อในเทรต 2:1



จากกราฟจะเห็นว่าช่วงที่มีความชันสูงสุดเท่ากับ 5.93 มล./วัน

แต่ที่อุณหภูมิ 0 °ซ ความดัน 1 บรรยากาศ มีก๊าซมีเทนเท่ากับ 0.35 มล. ที่ 1 กรัมซีไอดี

ดังนั้นที่ 35 °ซ จะมีก๊าซมีเทนเท่ากับ $\frac{PV_1}{T_1} = \frac{P_2V_2}{T_2}$

$$\frac{0.35}{273} = \frac{V_2}{273 + 35}$$

ดังนั้น $V_2 = 0.395$ มล.

จะได้ $5.93/395 = 0.015$ กรัมซีไอดี-มีเทน/วัน

และจากการทดลองใช้จุลินทรีย์ประมาณ 0.0187 กรัมวีเอสเอส

$$\text{จาก SMA} = \frac{gCH_4 - COD}{t \times B}$$

ดังนั้น SMA = 0.015 (กรัมซีไอดี-มีเทน/วัน)/ 0.0187 กรัมวีเอสเอส

= 0.802 กรัมซีไอดี- มีเทน/กรัมวีเอสเอส-วัน

ก. 5 แสดงตัวอย่างการคำนวณค่าความสามารถจำเพาะของเม็ดจุลินทรีย์ในการไนเตรต

จากข้อมูลการทดลอง SDA ที่อัตราส่วนซีโอดีต่อ ไนเตรต 5:1 ระยะเวลาที่กักเก็บน้ำ 24 ชม.

จากกราฟจะเห็นว่าช่วงที่มีความชันสูงสุดเท่ากับ 0.694 มล./วัน

แต่ที่อุณหภูมิ 0 °ซ ความดัน 1 บรรยากาศ มีก๊าซมีเทนเท่ากับ 181 มล. ที่ 1 กรัมไนเตรต

$$\text{ดังนั้นที่ } 35 \text{ °ซ จะมีก๊าซมีเทนเท่ากับ } \frac{P_1V_1}{T_1} = \frac{P_2V_2}{T_2}$$

$$\frac{181}{273} = \frac{V_2}{273 + 35}$$

$$\text{ดังนั้น } V_2 = 204 \text{ มล.}$$

จะได้ $0.694/204 = 0.034$ กรัมไนเตรต-ไนโตรเจน/วัน

และจากการทดลองใช้จุลินทรีย์ประมาณ 0.0278 กรัมวีเอสเอส

ดังนั้น SDA = 0.0034 (กรัมซีโอดี-มีเทน/วัน)/ 0.0278 กรัมวีเอสเอส

$$= 0.122 \text{ กรัมไนเตรต-ไนโตรเจน/กรัมวีเอสเอส-วัน}$$

ภาคผนวก ข
ผลการทดลอง

ตาราง ข. 1 แสดงค่าพีเอชของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ 2:1 ก่อนเติมไนเตรต

วัน/เดือน/ปี	พีเอช			วัน/เดือน/ปี	พีเอช		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
2/10/2549	8.90	8.10	8.30	4/11/2549	8.70	6.80	7.10
3/10/2549	8.10	7.70	7.90	5/11/2549	8.50	6.50	6.80
4/10/2549	8.70	8.40	8.30	6/11/2549	8.70	7.20	7.30
5/10/2549	8.80	7.50	8.10	7/11/2549	8.50	7.30	7.30
6/10/2549	8.70	8.40	8.30	8/11/2549	8.60	7.40	7.50
7/10/2549	8.70	7.51	7.70	9/11/2549	8.60	7.60	7.70
8/10/2549	8.50	7.20	7.90	10/11/2549	8.70	7.60	7.50
9/10/2549	8.60	7.10	8.60	11/11/2549	8.50	7.60	7.70
10/10/2549	8.50	6.80	8.10	12/11/2549	8.40	7.50	7.60
11/10/2549	8.60	6.50	8.00	13/11/2549	8.70	7.70	7.60
12/10/2549	8.70	6.50	7.90	14/11/2549	8.60	7.00	7.30
13/10/2549	8.50	6.80	7.50	15/11/2549	8.60	7.30	7.30
14/10/2549	8.40	7.10	7.20	16/11/2549	8.70	7.60	7.70
15/10/2549	8.80	7.30	7.80	17/11/2549	8.50	7.80	8.10
16/10/2549	8.50	7.30	8.10	18/11/2549	8.40	7.70	7.80
17/10/2549	8.60	7.40	7.90	19/11/2549	8.30	7.40	7.70
18/10/2549	8.70	7.70	7.80	20/11/2549	8.60	7.50	7.90
19/10/2549	8.80	7.80	8.00	21/11/2549	8.50	7.60	7.70
20/10/2549	8.70	7.50	7.70	22/11/2549	8.80	7.50	7.90
21/10/2549	8.60	7.60	7.70	23/11/2549	8.60	7.60	7.90
22/10/2549	8.70	7.60	7.80	24/11/2549	8.70	7.50	7.80
23/10/2549	8.50	7.50	7.60	25/11/2549	8.40	7.60	7.90
24/10/2549	8.50	8.00	8.20	26/11/2549	8.70	7.50	7.80
25/10/2549	8.70	7.70	8.00	27/11/2549	8.50	7.50	7.90
26/10/2549	8.60	7.60	7.90	28/11/2549	8.60	7.40	7.80
27/10/2549	8.70	7.50	7.70	29/11/2549	8.80	7.30	7.60
28/10/2549	8.40	7.50	7.60	30/11/2549	8.90	7.30	7.50
29/10/2549	8.40	7.60	7.70	1/12/2549	8.70	7.20	7.50
30/10/2549	8.30	7.40	7.50	2/12/2549	8.60	7.30	7.60
31/10/2549	8.20	7.30	7.50	3/12/2549	8.70	7.40	7.60
1/11/2549	8.60	7.40	7.50	n	63	63	63
2/11/2549	8.70	7.40	7.50	ค่าเฉลี่ย	8.59	7.44	7.74
3/11/2549	8.60	7.60	7.70	SD	0.16	0.36	0.31

ตาราง ข. 2 แสดงค่าพีเอชของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่ 5:1 ก่อนเติมไนเตรด

วัน/เดือน/ปี	พีเอช			วัน/เดือน/ปี	พีเอช		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
2/10/2549	9.00	8.10	8.40	4/11/2549	8.70	7.00	7.50
3/10/2549	8.00	7.80	7.90	5/11/2549	8.50	7.20	7.40
4/10/2549	8.60	8.40	8.50	6/11/2549	8.70	7.50	7.70
5/10/2549	8.90	7.60	7.90	7/11/2549	8.80	7.60	7.70
6/10/2549	8.60	8.40	8.50	8/11/2549	8.50	7.50	7.80
7/10/2549	8.80	7.35	7.76	9/11/2549	8.70	7.40	7.50
8/10/2549	8.60	8.50	8.70	10/11/2549	8.60	7.60	7.70
9/10/2549	8.70	8.10	8.50	11/11/2549	8.80	7.80	7.90
10/10/2549	8.50	7.80	8.20	12/11/2549	8.70	7.70	7.80
11/10/2549	8.50	7.80	7.90	13/11/2549	8.80	7.50	7.80
12/10/2549	8.80	7.20	7.30	14/11/2549	8.70	7.30	7.60
13/10/2549	8.70	7.10	7.30	15/11/2549	8.70	7.50	7.70
14/10/2549	8.70	7.10	7.20	16/11/2549	8.80	7.70	7.80
15/10/2549	8.60	7.00	7.20	17/11/2549	8.70	7.60	7.70
16/10/2549	8.50	6.80	7.10	18/11/2549	8.60	7.50	7.80
17/10/2549	8.70	6.60	7.10	19/11/2549	8.50	7.50	7.80
18/10/2549	8.60	6.50	7.00	20/11/2549	8.90	7.40	7.50
19/10/2549	8.70	7.00	7.10	21/11/2549	8.80	7.00	7.30
20/10/2549	8.70	7.10	7.30	22/11/2549	8.70	7.60	7.80
21/10/2549	8.70	7.30	7.40	23/11/2549	8.70	7.50	7.60
22/10/2549	8.80	7.50	7.50	24/11/2549	8.80	7.40	7.70
23/10/2549	8.90	7.30	7.40	25/11/2549	8.70	7.50	7.80
24/10/2549	8.50	7.20	7.30	26/11/2549	8.60	7.20	7.50
25/10/2549	8.80	7.60	7.80	27/11/2549	8.60	7.20	7.60
26/10/2549	8.70	7.50	7.80	28/11/2549	8.70	7.40	7.50
27/10/2549	8.60	7.60	7.70	29/11/2549	8.90	7.30	7.50
28/10/2549	8.50	7.80	7.90	30/11/2549	8.80	7.50	7.80
29/10/2549	8.80	7.50	7.70	1/12/2549	8.80	7.30	7.50
30/10/2549	8.50	7.60	7.60	2/12/2549	8.60	7.40	7.60
31/10/2549	8.40	7.50	7.70	3/12/2549	8.70	7.50	7.70
1/11/2549	8.70	7.40	7.50	n	63	63	63
2/11/2549	8.50	7.50	7.60	ค่าเฉลี่ย	8.67	7.46	7.67
3/11/2549	8.60	7.60	7.70	SD	0.15	0.37	0.35

ตาราง ข. 3 แสดงค่าพีเอชของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ 8:1 ก่อนเติมไนเตรต

วัน/เดือน/ปี	พีเอช			วัน/เดือน/ปี	พีเอช		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
2/10/2549	9.00	8.30	8.40	4/11/2549	8.50	7.40	7.60
3/10/2549	8.00	7.80	7.60	5/11/2549	8.70	7.20	7.50
4/10/2549	8.60	8.40	8.30	6/11/2549	8.90	7.10	7.30
5/10/2549	8.90	7.60	8.00	7/11/2549	8.80	6.90	7.10
6/10/2549	8.60	8.40	8.30	8/11/2549	8.70	6.70	7.00
7/10/2549	8.80	7.49	7.66	9/11/2549	8.60	7.10	7.20
8/10/2549	8.60	7.80	7.60	10/11/2549	8.50	7.40	7.50
9/10/2549	8.70	8.20	8.50	11/11/2549	8.70	7.60	7.80
10/10/2549	8.60	7.90	8.20	12/11/2549	8.80	7.50	7.60
11/10/2549	8.70	7.60	7.90	13/11/2549	8.00	7.70	8.00
12/10/2549	8.80	7.60	7.70	14/11/2549	8.90	7.60	7.70
13/10/2549	8.70	7.40	7.60	15/11/2549	8.70	7.50	7.80
14/10/2549	8.90	7.50	7.70	16/11/2549	8.50	7.60	7.70
15/10/2549	8.70	7.30	7.50	17/11/2549	8.70	7.50	7.60
16/10/2549	8.80	7.20	7.40	18/11/2549	8.80	7.80	7.90
17/10/2549	8.50	7.50	7.50	19/11/2549	8.50	7.50	7.60
18/10/2549	8.70	7.10	7.30	20/11/2549	8.60	7.60	7.80
19/10/2549	8.60	7.00	7.20	21/11/2549	8.70	7.50	7.70
20/10/2549	8.70	7.10	7.30	22/11/2549	8.70	7.50	7.80
21/10/2549	8.70	6.80	7.10	23/11/2549	8.90	7.60	7.70
22/10/2549	8.50	6.50	6.80	24/11/2549	8.50	7.70	7.60
23/10/2549	8.70	7.10	7.10	25/11/2549	8.70	7.50	7.70
24/10/2549	8.80	7.40	7.50	26/11/2549	8.80	7.60	7.90
25/10/2549	8.50	7.30	7.50	27/11/2549	8.60	7.40	7.70
26/10/2549	8.60	7.20	7.40	28/11/2549	8.70	7.30	7.50
27/10/2549	8.70	7.50	7.70	29/11/2549	8.50	7.20	7.40
28/10/2549	8.80	7.50	7.60	30/11/2549	8.80	7.40	7.60
29/10/2549	8.50	7.80	7.90	1/12/2549	8.70	7.50	7.50
30/10/2549	8.60	7.60	7.90	2/12/2549	8.60	7.40	7.60
31/10/2549	8.70	7.50	7.80	3/12/2549	8.70	7.60	7.70
1/11/2549	8.90	7.70	7.90	n	63	63	63
2/11/2549	8.70	7.40	7.80	ค่าเฉลี่ย	8.67	7.47	7.64
3/11/2549	8.60	7.30	7.50	SD	0.17	0.35	0.32

ตารางที่ ข. 4 แสดงค่าพีเอชของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่ 2:1 ระยะเวลาเก็บน้ำเสีย 24 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	พีเอช			วัน/เดือน/ปี	พีเอช		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
4/12/2549	9.10	7.40	7.60	19/01/2550	8.30	6.80	7.40
5/12/2549	8.90	7.40	7.60	20/01/2550	8.30	7.00	7.10
6/12/2549	9.10	7.60	7.70	21/01/2550	8.20	6.90	7.60
7/12/2549	8.00	7.60	7.80	22/01/2550	8.30	7.10	7.70
8/12/2549	8.00	7.70	7.80	23/01/2550	8.30	6.90	7.10
9/12/2549	8.10	7.70	7.90	24/01/2550	8.50	7.30	7.70
10/12/2549	8.10	7.80	7.90	25/01/2550	8.70	7.40	7.80
11/12/2549	8.00	8.10	8.20	26/01/2550	8.80	7.00	7.00
12/12/2549	8.90	8.10	8.20	27/01/2550	9.00	6.60	7.10
13/12/2549	8.70	8.40	8.30	28/01/2550	9.20	6.70	7.00
14/12/2549	9.10	8.20	8.40	29/01/2550	8.70	7.40	7.80
15/12/2549	8.90	8.20	8.40	30/01/2550	8.90	7.20	7.70
16/12/2549	8.90	8.10	8.30	31/01/2550	8.70	7.30	8.00
17/12/2549	8.70	7.00	8.00	1/02/2550	8.60	7.20	7.40
18/12/2549	8.80	7.50	8.10	2/02/2550	8.68	7.20	7.10
19/12/2549	8.70	7.80	8.00	3/02/2550	8.40	7.00	7.50
20/12/2549	8.70	8.50	8.70	4/02/2550	8.50	7.10	7.60
21/12/2549	8.80	8.40	8.70	5/02/2550	8.60	7.40	7.90
22/12/2549	8.70	8.20	8.50	6/02/2550	8.50	7.10	7.70
23/12/2549	8.80	8.10	8.50	7/02/2550	8.60	7.10	7.70
24/12/2549	8.50	8.20	8.60	8/02/2550	8.50	7.10	7.60
25/12/2549	8.60	8.20	8.60	9/02/2550	8.40	7.00	7.80
26/12/2549	8.50	8.10	8.50	10/02/2550	8.40	7.10	7.40
27/12/2549	8.70	8.30	8.70	11/02/2550	8.40	7.20	7.80
28/12/2549	8.80	8.30	8.50	12/02/2550	8.46	7.50	7.60
29/12/2549	8.60	8.20	8.60	13/02/2550	8.60	7.10	7.60
30/12/2549	8.70	7.51	7.70	14/02/2550	8.50	7.20	8.00
31/12/2549	8.50	7.40	7.84	15/02/2550	8.29	7.20	7.40
1/01/2550	8.40	7.50	7.67	16/02/2550	8.80	7.40	7.80
2/01/2550	8.50	7.30	7.80	17/02/2550	9.00	7.30	7.80
3/01/2550	8.50	7.10	7.80	18/02/2550	8.50	7.20	7.40
4/01/2550	8.50	7.20	7.60	19/02/2550	8.00	6.70	7.10
5/01/2550	8.70	6.90	7.30	20/02/2550	8.20	7.00	7.20
6/01/2550	8.40	6.70	7.20	21/02/2550	8.20	7.00	7.50
7/01/2550	8.30	6.80	7.00	22/02/2550	8.20	6.80	7.30
8/01/2550	8.30	6.90	7.00	23/02/2550	8.30	7.00	7.20
9/01/2550	8.40	6.80	7.00	24/02/2550	8.30	6.80	7.40
10/01/2550	8.50	6.80	6.80	25/02/2550	8.20	7.10	7.70
11/01/2550	8.70	6.80	7.10	26/02/2550	8.35	7.20	7.30
12/01/2550	8.50	6.90	7.20	27/02/2550	8.20	7.00	7.20
13/01/2550	8.50	6.80	6.90	28/02/2550	8.30	7.10	7.30
14/01/2550	8.80	6.80	6.90	1/03/2550	8.20	7.24	7.65
15/01/2550	8.40	6.70	7.10	n	88	88	88
16/01/2550	8.50	6.80	7.20	ค่าเฉลี่ย	8.53	7.32	7.66
17/01/2550	8.30	6.80	7.30	SD	0.27	0.5	0.5
18/01/2550	8.20	6.80	7.00				

ตารางที่ ข. 5 แสดงค่าฟิโฆสและไออาร์ฟิฆของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่ 2:1 ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย 12 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆส			วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆส		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
2/03/2550	8.30	7.00	7.60	21/03/2550	8.50	7.20	7.40
3/03/2550	8.70	7.30	7.70	22/03/2550	8.40	7.10	7.20
4/03/2550	8.20	7.10	7.30	23/03/2550	8.50	7.00	7.30
5/03/2550	8.20	7.10	7.50	24/03/2550	8.50	7.10	7.40
6/03/2550	8.88	7.23	7.65	25/03/2550	8.40	7.20	7.30
7/03/2550	8.30	7.11	7.50	26/03/2550	8.40	7.20	7.40
8/03/2550	8.20	7.10	7.30	27/03/2550	8.40	7.10	7.30
9/03/2550	8.30	7.10	7.30	28/03/2550	8.50	7.10	7.40
10/03/2550	8.20	7.00	7.20	29/03/2550	8.40	7.10	7.30
11/03/2550	8.20	7.20	7.30	30/03/2550	8.50	7.10	7.30
12/03/2550	8.30	7.20	7.30	31/03/2550	8.30	7.20	7.40
13/03/2550	8.20	7.10	7.30	1/04/2550	8.20	7.20	7.50
14/03/2550	8.40	7.50	7.40	2/04/2550	8.40	7.30	7.40
15/03/2550	8.50	7.30	7.40	3/04/2550	8.50	7.10	7.30
16/03/2550	8.40	7.40	7.30	4/04/2550	8.20	7.10	7.40
17/03/2550	8.20	7.20	7.40	n	34	34	34
18/03/2550	8.30	7.10	7.50	ค่าเฉลี่ย	8.37	7.16	7.38
19/03/2550	8.40	7.10	7.30	SD	0.16	0.11	0.12
20/03/2550	8.20	7.10	7.50				

ตารางที่ ข. 6 แสดงค่าฟิโฆสฟิฆของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่ 2:1 ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย 8 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆส			วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆส		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
5/04/2550	8.40	7.20	7.30	25/04/2550	8.50	7.20	7.50
6/04/2550	8.50	7.10	7.40	26/04/2550	8.40	7.00	7.30
7/04/2550	8.40	7.10	7.30	27/04/2550	8.30	7.10	7.30
8/04/2550	8.40	7.00	7.40	28/04/2550	8.30	7.10	7.30
9/04/2550	8.50	7.20	7.30	29/04/2550	8.40	7.10	7.40
10/04/2550	8.40	7.40	7.50	30/04/2550	8.40	7.00	7.30
11/04/2550	8.60	7.50	7.60	1/05/2550	8.30	7.10	7.20
12/04/2550	8.40	7.40	7.50	2/05/2550	8.40	7.10	7.30
13/04/2550	8.40	7.30	7.50	3/05/2550	8.40	7.10	7.30
14/04/2550	8.50	7.30	7.50	4/05/2550	8.30	6.90	7.10
15/04/2550	8.40	7.40	7.60	5/05/2550	8.30	7.00	7.30
16/04/2550	8.30	7.10	7.50	6/05/2550	8.40	7.00	7.30
17/04/2550	8.40	7.40	7.50	7/05/2550	8.40	7.10	7.30
18/04/2550	8.40	7.30	7.50	8/05/2550	8.30	7.20	7.30
19/04/2550	8.50	7.40	7.50	9/05/2550	8.30	7.00	7.30
20/04/2550	8.40	7.20	7.60	10/05/2550	8.40	7.10	7.30
21/04/2550	8.40	7.30	7.60	11/05/2550	8.30	7.00	7.30
22/04/2550	8.50	7.10	7.50	n	37.00	37	37
23/04/2550	8.40	6.90	7.70	ค่าเฉลี่ย	8.40	7.15	7.41
24/04/2550	8.40	7.00	7.60	SD	0.07	0.16	0.14

ตารางที่ ข. 7 แสดงค่าฟีดของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่ 2:1 ระยะเวลาเก็บน้ำเสีย 4 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	ฟีด			วัน/เดือน/ปี	ฟีด		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
12/05/2550	8.40	7.00	7.30	31/05/2550	8.60	7.40	7.60
13/05/2550	8.40	6.90	7.30	01/06/2550	8.40	7.40	7.50
14/05/2550	8.40	7.00	7.30	02/06/2550	8.40	7.46	7.50
15/05/2550	8.40	7.00	7.30	03/06/2550	8.30	7.40	7.60
16/05/2550	8.40	7.00	7.30	04/06/2550	8.00	7.40	7.60
17/05/2550	8.40	7.00	7.30	05/06/2550	8.50	7.50	7.50
18/05/2550	8.40	7.10	7.30	06/06/2550	8.40	7.47	7.50
19/05/2550	8.40	7.10	7.30	07/06/2550	8.30	7.40	7.50
20/05/2550	8.40	7.10	7.40	08/06/2550	8.50	7.30	7.60
21/05/2550	8.40	7.10	7.30	09/06/2550	8.70	7.35	7.60
22/05/2550	8.30	7.30	7.50	10/06/2550	8.50	7.40	7.50
23/05/2550	8.40	7.30	7.50	11/06/2550	8.60	7.40	7.60
24/05/2550	8.50	7.40	7.50	12/06/2550	8.70	7.40	7.60
25/05/2550	8.50	7.40	7.60	13/06/2550	8.60	7.50	7.60
26/05/2550	8.50	7.40	7.60	14/06/2550	8.40	7.30	7.50
27/05/2550	8.70	7.50	7.70	15/06/2550	8.70	7.50	7.50
28/05/2550	8.60	7.40	7.60	n	35	35	35
29/05/2550	8.40	7.40	7.60	ค่าเฉลี่ย	8.46	7.30	7.49
30/05/2550	8.50	7.40	7.60	SD	0.18	0.18	0.13

ตารางที่ ข . 8 แสดงค่าพีเอชของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่ 5:1 ระยะเวลาเก็บน้ำเสีย 24 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	พีเอช			วัน/เดือน/ปี	พีเอช		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
4/12/2549	9.10	7.40	7.50	29/12/2549	8.50	8.20	8.50
5/12/2549	8.90	7.30	7.50	30/12/2549	8.80	7.35	7.76
6/12/2549	9.10	7.60	7.70	31/12/2549	8.60	7.35	7.82
7/12/2549	8.00	7.70	7.80	1/01/2550	8.50	7.34	7.73
8/12/2549	8.10	7.60	7.80	2/01/2550	8.60	7.00	7.70
9/12/2549	8.00	7.80	7.90	3/01/2550	8.40	7.10	7.60
10/12/2549	8.20	8.50	8.70	4/01/2550	8.60	6.90	7.60
11/12/2549	8.00	8.10	8.50	5/01/2550	8.60	6.60	7.10
12/12/2549	8.80	8.10	8.40	6/01/2550	8.50	6.70	6.90
13/12/2549	8.60	8.40	8.50	7/01/2550	8.40	6.70	7.00
14/12/2549	9.00	8.20	8.40	8/01/2550	8.30	6.80	7.10
15/12/2549	9.00	8.20	8.50	9/01/2550	8.50	6.70	7.10
16/12/2549	9.00	8.10	8.40	10/01/2550	8.50	6.70	7.00
17/12/2549	8.90	7.00	7.90	11/01/2550	8.50	6.60	7.20
18/12/2549	8.90	7.60	7.90	12/01/2550	8.60	6.80	7.10
19/12/2549	8.60	7.90	8.00	13/01/2550	8.40	6.50	7.00
20/12/2549	8.60	8.40	8.80	14/01/2550	8.60	6.60	7.10
21/12/2549	8.70	8.40	8.70	15/01/2550	8.50	6.60	7.10
22/12/2549	8.80	8.20	8.50	16/01/2550	8.20	6.70	7.20
23/12/2549	8.70	8.20	8.50	17/01/2550	8.20	6.60	7.30
24/12/2549	8.60	8.10	8.60	18/01/2550	8.20	6.60	7.20
25/12/2549	8.70	8.10	8.50	n	46	46	46
26/12/2549	8.60	8.20	8.60	ค่าเฉลี่ย	8.56	7.48	7.84
27/12/2549	8.50	8.30	8.60	SD	0.28	0.67	0.6
28/12/2549	8.50	8.20	8.50				

ตารางที่ ข. 9 แสดงค่าฟิโฆของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ 5:1 ระยะเวลาเก็บน้ำเสีย 12 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆ			วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆ		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
19/01/2550	8.40	6.70	7.60	7/02/2550	8.50	7.00	7.40
20/01/2550	8.30	7.00	7.60	8/02/2550	8.50	7.00	7.30
21/01/2550	8.20	7.30	6.90	9/02/2550	8.40	6.90	7.40
22/01/2550	8.30	7.60	7.70	10/02/2550	8.50	7.00	7.50
23/01/2550	8.20	7.00	7.20	11/02/2550	8.50	7.20	7.50
24/01/2550	8.50	7.30	7.60	12/02/2550	8.60	7.50	7.70
25/01/2550	8.70	7.50	7.70	13/02/2550	8.70	7.10	7.30
26/01/2550	8.00	7.10	6.90	14/02/2550	8.70	7.30	7.70
27/01/2550	8.10	6.80	6.80	15/02/2550	8.44	7.20	7.70
28/01/2550	8.60	6.60	6.90	16/02/2550	8.80	7.20	7.80
29/01/2550	8.60	7.50	7.70	17/02/2550	8.70	7.30	7.90
30/01/2550	8.60	7.30	7.50	18/02/2550	8.40	7.20	7.40
31/01/2550	8.70	7.10	7.60	19/02/2550	8.20	6.60	6.80
1/02/2550	8.20	7.10	7.20	20/02/2550	8.20	6.60	7.10
2/02/2550	8.55	7.10	7.40	21/02/2550	8.30	6.90	7.30
3/02/2550	8.50	7.10	7.30	22/02/2550	8.40	6.70	6.90
4/02/2550	8.50	7.20	7.50	n	35	35	35
5/02/2550	8.40	7.20	8.10	ค่าเฉลี่ย	8.45	7.09	7.41
6/02/2550	8.50	7.00	7.40	SD	0.19	0.26	0.32

ตารางที่ ข. 10 แสดงค่าฟิโฆของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรตที่ 5:1 ระยะเวลาเก็บน้ำเสีย 8 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆ			วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆ		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
23/02/2550	8.40	7.00	7.10	17/03/2550	8.50	7.00	7.50
24/02/2550	8.30	6.70	7.30	18/03/2550	8.40	7.20	7.20
25/02/2550	8.30	7.20	7.20	19/03/2550	8.50	7.30	7.40
26/02/2550	8.30	6.90	7.40	20/03/2550	8.40	7.40	7.40
27/02/2550	8.30	7.00	7.20	21/03/2550	8.40	7.50	7.40
28/02/2550	8.20	7.00	7.20	22/03/2550	8.50	7.00	7.30
01/03/2550	8.20	6.95	7.75	23/03/2550	8.40	7.00	7.30
02/03/2550	8.40	6.60	7.40	24/03/2550	8.50	7.00	7.40
03/03/2550	8.90	6.80	7.60	25/03/2550	8.40	7.10	7.50
04/03/2550	8.30	7.00	7.40	26/03/2550	8.50	7.10	7.50
05/03/2550	8.20	6.80	7.10	27/03/2550	8.40	7.10	7.50
06/03/2550	8.80	6.82	7.58	28/03/2550	8.50	7.10	7.40
07/03/2550	8.20	6.84	7.30	29/03/2550	8.40	7.30	7.40
08/03/2550	8.20	6.85	7.10	30/03/2550	8.10	7.20	7.30
09/03/2550	8.50	6.90	7.50	31/03/2550	8.40	7.20	7.40
10/03/2550	8.30	6.90	7.30	01/04/2550	8.20	7.30	7.40
11/03/2550	8.20	7.10	7.30	02/04/2550	8.30	7.10	7.40
12/03/2550	8.30	7.20	7.40	03/04/2550	8.20	7.20	7.50
13/03/2550	8.20	7.40	7.40	04/04/2550	8.20	7.20	7.30
14/03/2550	8.40	7.50	7.40	n	41.00	41.00	41.00
15/03/2550	8.50	7.10	7.50	ค่าเฉลี่ย	8.36	7.88	8.18
16/03/2550	8.20	7.10	7.50	SD	0.16	0.2	0.14

ตารางที่ ข. 11 แสดงค่าพีเอชของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่ 5:1 ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย 4 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	พีเอช			วัน/เดือน/ปี	พีเอช		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
5/04/2550	8.40	7.10	7.50	22/04/2550	8.40	7.20	7.70
6/04/2550	8.60	7.10	7.40	23/04/2550	8.40	7.10	7.60
7/04/2550	8.40	7.10	7.50	24/04/2550	8.50	7.20	7.50
8/04/2550	8.40	7.00	7.50	25/04/2550	8.50	7.30	7.60
9/04/2550	8.50	7.00	7.40	26/04/2550	8.20	7.10	7.50
10/04/2550	8.50	7.50	7.60	27/04/2550	8.40	7.10	7.50
11/04/2550	8.60	7.40	7.60	28/04/2550	8.40	7.00	7.20
12/04/2550	8.50	7.30	7.70	29/04/2550	8.40	7.10	7.30
13/04/2550	8.50	7.40	7.70	30/04/2550	8.40	7.10	7.20
14/04/2550	8.40	7.30	7.60	1/05/2550	8.30	7.20	7.30
15/04/2550	8.40	7.30	7.70	2/05/2550	8.40	7.10	7.40
16/04/2550	8.40	7.00	7.60	3/05/2550	8.40	7.10	7.30
17/04/2550	8.30	7.20	7.70	4/05/2550	8.40	7.00	7.30
18/04/2550	8.50	7.10	7.70	n	30	30	30
19/04/2550	8.50	7.10	7.70	ค่าเฉลี่ย	8.43	7.16	7.52
20/04/2550	8.50	7.10	7.70	SD	0.08	0.13	0.16
21/04/2550	8.40	7.20	7.50				

ตารางที่ ข. 12 แสดงค่าพีเอชของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่ 8:1 ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย 24 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	พีเอช			วัน/เดือน/ปี	พีเอช		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
4/12/2549	9.10	7.40	7.80	29/12/2549	8.50	8.30	8.50
5/12/2549	8.90	7.30	7.60	30/12/2549	8.80	7.49	7.66
6/12/2549	9.10	7.60	7.60	31/12/2549	8.60	7.42	7.74
7/12/2549	8.00	7.70	7.80	1/01/2550	8.50	7.45	7.62
8/12/2549	8.10	7.60	7.80	2/01/2550	8.60	7.30	7.50
9/12/2549	8.00	7.80	7.60	3/01/2550	8.40	7.20	7.20
10/12/2549	8.20	7.80	7.60	4/01/2550	8.60	7.20	7.30
11/12/2549	8.00	8.30	7.80	5/01/2550	8.60	6.70	6.70
12/12/2549	8.80	8.30	8.50	6/01/2550	8.50	6.80	6.80
13/12/2549	8.60	8.40	8.30	7/01/2550	8.40	6.80	6.90
14/12/2549	9.00	8.10	8.30	8/01/2550	8.30	6.80	6.80
15/12/2549	9.00	8.20	8.20	9/01/2550	8.50	6.80	7.20
16/12/2549	9.00	8.30	8.40	10/01/2550	8.50	6.80	6.80
17/12/2549	8.90	7.00	7.80	11/01/2550	8.50	6.80	7.20
18/12/2549	8.90	7.60	8.00	12/01/2550	8.60	6.90	7.10
19/12/2549	8.60	8.00	8.10	13/01/2550	8.40	6.70	6.80
20/12/2549	8.60	8.40	8.90	14/01/2550	8.60	6.90	6.90
21/12/2549	8.70	8.40	8.80	15/01/2550	8.50	6.80	6.90
22/12/2549	8.80	8.30	8.70	16/01/2550	8.20	6.90	7.00
23/12/2549	8.70	8.30	8.70	17/01/2550	8.20	6.90	7.10
24/12/2549	8.60	8.20	8.70	18/01/2550	8.20	6.90	7.00
25/12/2549	8.70	8.20	8.50	n	46	46	46
26/12/2549	8.60	8.30	8.50	ค่าเฉลี่ย	8.56	7.56	7.74
27/12/2549	8.50	8.20	8.60	SD	0.28	0.62	0.67
28/12/2549	8.50	8.20	8.50				

ตารางที่ ข. 13 แสดงค่าฟิโฆของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่ 8:1 ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย 12 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆ			วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆ		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
19/01/2550	8.40	6.90	7.30	7/02/2550	8.40	7.10	7.20
20/01/2550	8.30	6.80	7.30	8/02/2550	8.60	7.00	7.30
21/01/2550	8.20	7.70	7.70	9/02/2550	8.40	6.90	7.40
22/01/2550	8.30	7.00	7.90	10/02/2550	8.40	7.00	7.60
23/01/2550	8.20	6.90	7.10	11/02/2550	8.50	7.10	7.50
24/01/2550	8.50	7.20	7.60	12/02/2550	8.80	7.50	7.40
25/01/2550	8.70	7.40	7.70	13/02/2550	8.40	7.10	7.50
26/01/2550	8.00	6.80	6.90	14/02/2550	8.80	7.40	7.80
27/01/2550	7.90	6.70	6.80	15/02/2550	8.34	7.40	7.70
28/01/2550	8.20	6.70	6.80	16/02/2550	8.90	7.50	7.90
29/01/2550	8.70	7.40	7.90	17/02/2550	8.20	7.40	7.90
30/01/2550	8.50	7.10	7.60	18/02/2550	8.40	7.10	7.50
31/01/2550	8.70	7.10	7.40	19/02/2550	8.10	6.60	6.90
1/02/2550	8.60	7.10	7.70	20/02/2550	8.10	7.70	7.00
2/02/2550	8.63	7.00	7.40	21/02/2550	8.30	7.00	7.10
3/02/2550	8.60	7.00	7.40	22/02/2550	8.30	6.50	7.00
4/02/2550	8.60	7.00	7.50	n	35	35	35
5/02/2550	8.60	7.10	7.90	ค่าเฉลี่ย	8.43	7.09	7.42
6/02/2550	8.40	7.00	7.20	SD	0.23	0.29	0.33

ตารางที่ ข. 14 แสดงค่าฟิโฆของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่ 8:1 ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย 8 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆ			วัน/เดือน/ปี	ฟิโฆ		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
23/02/2550	8.30	6.90	7.00	17/03/2550	8.50	7.20	7.30
24/02/2550	8.20	6.60	7.10	18/03/2550	8.50	7.10	7.00
25/02/2550	8.30	7.00	7.60	19/03/2550	8.40	7.10	7.30
26/02/2550	8.40	7.00	7.30	20/03/2550	8.40	7.20	7.40
27/02/2550	8.20	6.90	7.10	21/03/2550	8.30	7.40	7.40
28/02/2550	8.20	7.10	7.30	22/03/2550	8.50	7.30	7.50
01/03/2550	8.20	6.99	8.05	23/03/2550	8.40	7.10	7.30
02/03/2550	8.10	7.00	7.20	24/03/2550	8.40	7.10	7.30
03/03/2550	8.70	7.10	7.70	25/03/2550	8.50	7.00	7.30
04/03/2550	8.20	7.10	7.30	26/03/2550	8.50	7.10	7.30
05/03/2550	8.30	7.10	7.50	27/03/2550	8.50	7.10	7.30
06/03/2550	8.71	7.03	7.62	28/03/2550	8.30	7.20	7.30
07/03/2550	8.30	7.10	7.50	29/03/2550	8.30	7.30	7.50
08/03/2550	8.30	7.10	7.30	30/03/2550	8.20	7.20	7.40
09/03/2550	8.40	7.10	7.40	31/03/2550	8.40	7.20	7.40
10/03/2550	8.50	7.00	7.30	01/04/2550	8.20	7.20	7.40
11/03/2550	8.50	7.10	7.40	02/04/2550	8.30	7.10	7.30
12/03/2550	8.40	7.10	7.40	03/04/2550	8.40	7.20	7.30
13/03/2550	8.40	7.20	7.40	04/04/2550	8.20	7.30	7.30
14/03/2550	8.50	7.30	7.50	n	41	41.00	41
15/03/2550	8.50	7.20	7.37	ค่าเฉลี่ย	8.37	7.11	7.36
16/03/2550	8.50	7.20	7.30	SD	0.14	0.14	0.18

ตารางที่ ข. 15 แสดงค่าพีเอชของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนเตรดที่ 8:1 ระยะเวลาพักเก็บน้ำเสีย 4 ชั่วโมง

วัน/เดือน/ปี	พีเอช			วัน/เดือน/ปี	พีเอช		
	น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก		น้ำเข้า	น้ำในระบบ	น้ำออก
5/04/2550	8.20	7.20	7.50	22/04/2550	8.40	7.20	7.60
6/04/2550	8.50	7.20	7.50	23/04/2550	8.40	7.20	7.60
7/04/2550	8.30	7.10	7.40	24/04/2550	8.40	7.20	7.60
8/04/2550	8.30	7.20	7.40	25/04/2550	8.40	7.20	7.60
9/04/2550	8.40	7.10	7.40	26/04/2550	8.40	7.00	7.40
10/04/2550	8.40	7.40	7.50	27/04/2550	8.30	7.10	7.40
11/04/2550	8.60	7.30	7.70	28/04/2550	8.40	7.10	7.40
12/04/2550	8.40	7.40	7.60	29/04/2550	8.40	7.10	7.40
13/04/2550	8.50	7.40	7.60	30/04/2550	8.40	7.20	7.40
14/04/2550	8.40	7.40	7.60	1/05/2550	8.40	7.30	7.40
15/04/2550	8.30	7.40	7.60	2/05/2550	8.40	7.10	7.30
16/04/2550	8.40	6.90	7.60	3/05/2550	8.40	7.20	7.40
17/04/2550	8.40	7.10	7.60	4/05/2550	8.40	6.80	7.40
18/04/2550	8.40	7.00	7.60	n	30	30	30
19/04/2550	8.40	7.10	7.70	ค่าเฉลี่ย	8.39	7.17	7.51
20/04/2550	8.40	7.00	7.50	SD	0.06	0.15	0.11
21/04/2550	8.40	7.20	7.60				

ตารางที่ ข. 16 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรด = 2:1 COD 200 mg/l เวลาพักเก็บ 24 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	SCOD เข้า (มก./ลิตร)	Alkalinity เข้า (มก./ลิตร CaCO ₃)	NH ₃ -N เข้า (มก./ลิตร)	SCOD ออก (มก./ลิตร)	Alkalinity ออก (มก./ลิตร CaCO ₃)	NH ₃ -N ออก (มก./ลิตร)	ประสิทธิภาพการบำบัด(%)
2/10/49	1	-332	300	220	125	100	230	120	67
5/10/49	4	-308	264	250	128	90	256	117	66
9/10/49	8	-300	290	245	124	90	260	119	69
12/10/49	11	-255	300	268	126	70	278	114	77
16/10/49	15	-260	330	279	120	120	290	113	64
19/10/49	18	-271	325	259	130	113	270	109	65
23/10/49	22	-270	320	210	135	90	220	110	72
26/10/49	25	-271	330	230	126	60	245	115	82
30/10/49	29	-261	330	250	122	60	265	118	82
2/11/49	32	-255	330	249	127	50	268	113	85
6/11/49	36	-311	280	230	129	40	250	107	86
9/11/49	39	-302	320	290	130	100	300	105	69
13/11/49	43	-300	320	210	135	80	240	112	75
16/11/49	46	-232	350	234	128	70	245	104	80
20/11/49	50	-230	380	258	138	35	260	117	91
23/11/49	53	-239	300	220	126	50	235	120	83
27/11/49	57	-240	330	240	129	20	265	116	94
30/11/49	60	-235	270	250	138	17	270	125	94
n		18	18	18	18	18	18	18	18
ค่าเฉลี่ย		-271	314.94	244.00	128.67	69.72	258.17	114.11	77.70
SD		3.10	28.60	22.29	5.08	30.56	20.53	5.60	9.97

ตารางที่ ข. 17 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 5:1 COD 500 mg/l เวลาพักเก็บ 24 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	SCOD เข้า (มก./ลิตร)	Alkalinity เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	NH ₃ -N เข้า (มก./ลิตร)	SCOD ออก (มก./ลิตร)	Alkalinity ออก มก./ลิตร CaCO ₃	NH ₃ -N ออก (มก./ลิตร)	ประสิทธิภาพ การบำบัด(%)
2/10/49	1	-312.6	560	540	123	90	590	119	83.93
5/10/49	4	-317.4	530	550	125	60	600	120	88.68
9/10/49	8	-310.5	440	554	121	110	610	115	75.00
12/10/49	11	-277.8	650	560	121	90	612	118	86.15
16/10/49	15	-270.5	650	560	107	90	620	95	86.15
19/10/49	18	-273.3	660	578	125	72	630	105	89.09
23/10/49	22	-275.3	650	543	110	75	600	101	88.46
26/10/49	25	-270.3	620	540	118	70	610	112	88.71
30/10/49	29	-275.8	670	560	128	75	620	108	88.81
2/11/49	32	-297.8	670	570	135	35	630	120	94.78
6/11/49	36	-291.4	700	530	128	60	625	117	91.43
9/11/49	39	-238.2	710	520	121	50	634	115	92.96
13/11/49	43	-235.2	700	512	123	55	645	107	92.14
16/11/49	46	-240.1	690	578	125	82	620	109	88.12
20/11/49	50	-253.1	820	548	130	75	600	102	90.85
23/11/49	53	-251.1	780	567	128	76	590	109	90.26
27/11/49	57	-250.8	750	590	123	85	620	103	88.67
30/11/49	60	-254.2	590	548	122	64	570	108	89.15
n		18	18	18	18	18	18	18	18
ค่าเฉลี่ย		-272	657.78	552.67	122.94	73.00	612.56	110.17	88.52
SD		25.87	89.74	20.36	6.61	17.50	18.49	7.32	4.24

ตารางที่ ข. 18 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 8:1 COD 800 mg/l เวลาพักเก็บ 24 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	SCOD เข้า (มก./ลิตร)	Alkalinity เข้า (มก./ลิตร CaCO ₃)	NH ₃ -N เข้า (มก./ลิตร)	SCOD ออก (มก./ลิตร)	Alkalinity ออก (มก./ลิตร CaCO ₃)	NH ₃ -N ออก (มก./ลิตร)	ประสิทธิภาพ การบำบัด(%)
2/10/49	1	-310	820	870	121	85	900	95	89.63
5/10/49	4	-347	830	860	129	65	930	102	92.17
9/10/49	8	-330	900	865	121	115	940	101	87.22
12/10/49	11	-272	880	869	125	95	930	110	89.20
16/10/49	15	-271	900	830	132	150	900	123	83.33
19/10/49	18	-276	900	890	139	117	920	120	87.00
23/10/49	22	-278	920	900	115	100	935	110	89.13
26/10/49	25	-275	950	835	125	90	900	115	90.53
30/10/49	29	-273	990	840	120	90	900	113	90.91
2/11/49	32	-272	900	860	130	60	910	107	93.33
6/11/49	36	-300	940	809	111	40	870	99	95.74
9/11/49	39	-233	850	870	120	125	940	113	85.29
13/11/49	43	-275	900	890	115	115	945	107	87.22
16/11/49	46	-255	960	810	102	110	934	108	88.54
20/11/49	50	-251	1000	830	112	100	890	77	90.00
23/11/49	53	-242	1100	820	114	100	878	103	90.91
27/11/49	57	-245	1000	878	115	60	930	110	94.00
30/11/49	60	-236	860	845	120	80	960	115	90.70
n		18	18	18	18	18	18	18	18.00
ค่าเฉลี่ย		-274	922.22	853.94	120.33	94.28	917.33	107.11	89.72
SD		30.96	69.92	27.78	8.80	26.84	24.83	10.40	3.07

ตารางที่ ข. 19 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 2:1 COD 200 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 24 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity เข้า (มก./ลิตร CaCO ₃)	Alkalinity ออก (มก./ลิตร CaCO ₃)	SCOD เข้า (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N เข้า (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N เข้า (มก./ ลิตร)	SCOD ออก (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N ออก (มก./ ลิตร)
4/12/49	1	-247	212	220	240	50	129	70	16.7	0	16.7	100
7/12/49	4	-255	235	250	230	50	125	45	20.5	12.5	33	98
11/12/49	8	-258	255	270	240	98	130	55	70.3	20.3	90.6	93
14/12/49	11	-255	243	250	260	98	128	75	71.6	24.1	95.7	98
18/12/49	15	-257	250	280	210	99	126	45	70.5	20.5	91	95
21/12/49	18	-245	280	300	250	97	135	55	70	15.8	85.8	100
25/12/49	22	-250	255	330	260	92	127	75	65.2	16.8	82	90
28/12/49	25	-250	267	280	200	98	138	53	65.1	15.9	81	98
1/1/50	29	-254	259	265	210	100	135	60	60.2	20.1	80.3	100
4/1/50	32	-255	246	270	200	95.4	129	70	55.3	18.5	73.8	95
8/1/50	36	-258	287	290	230	98.5	130	74	50.4	15.3	65.7	90
11/1/50	39	-256	254	260	215	102.5	135	55	53.5	15.1	68.6	90
15/1/50	43	-254	289	310	220	100.5	128	33	48.2	12.4	60.6	95
18/1/50	46	-247	258	280	210	102.3	130	50	45.3	10.2	55.5	85
22/1/50	50	-256	269	290	212	108.5	132	47	44.3	12.1	56.4	81
25/1/50	53	-260	250	270	260	99.5	120	61	40.5	10.5	51	84
29/1/50	57	-251	248	260	218	98.9	133	61	35.6	13.6	49.2	96
1/2/50	60	-259	238	250	220	99.7	131	49	33.4	10.3	43.7	97
5/2/50	64	-258	279	290	226	103.4	122	35	30.4	11.5	41.9	98
8/2/50	67	-257	250	325	307	106.2	124	35	31.5	9.4	40.9	89
12/2/50	71	-258	224	240	230	100.8	117	37	34	6.2	40.2	95
15/2/50	74	-255	258	270	223	101.5	140	35	33	7.1	40.1	108
19/2/50	78	-256	250	260	269	105.5	122	38	33.5	11.4	44.9	113
22/2/50	81	-257	230	250	250	108.5	116	34	34.4	11.2	45.6	108
26/2/50	85	-254	249	260	209	105.8	110	32	32.4	11.4	43.8	101
1/3/50	88	-257	247	250	212	101.2	117	30	33	11.2	44.2	78
n		26	26	26	6	26	26	6	6	6	6	26
ค่าเฉลี่ย		-255	253.15	271.92	217	96.95	127	34.33	33.38	9.75	43.13	95
SD		3.93	18.18	25.5	25.2	14.3	7	14.7	0.66	2.2	2.18	8

ตารางที่ ข. 20 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 2:1 COD 200 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 12 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	Alkalinity ออก มก./ลิตร CaCO ₃	SCOD เข้า (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N เข้า (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N เข้า (มก./ ลิตร)	SCOD ออก (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO _x -N ออก (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N ออก (มก./ ลิตร)
5/3/50	1	-255	245	230	210	102.5	120	50	55.6	20.3	75.9	100
7/3/50	3	-255	239	235	218	100.5	125	55	52.6	27.5	80.1	110
9/3/50	5	-257	240	220	215	102.3	120	60	50.4	25.3	75.7	115
12/3/50	8	-255	255	245	220	105.1	125	55	48.5	20.4	68.9	110
14/3/50	10	-255	265	260	215	106.5	120	50	47.8	19.3	67.1	101
16/3/50	12	-254	235	250	210	107.6	124	55	50.2	20.6	70.8	100
19/3/50	15	-248	260	265	237	102.6	126	62	55.3	27.1	82.4	96
21/3/50	17	-250	210	250	252	101.8	116	82	26.4	41.3	67.7	104
23/3/50	19	-250	240	280	201	103.5	96	75	10.1	49.5	59.6	93
26/3/50	22	-256	220	250	240	101.6	104	75	19.3	37.2	56.5	99
28/3/50	24	-256	230	250	227	105.4	127	56	22.5	38.5	61	68
30/3/50	26	-258	210	240	225	101.5	121	24	24.1	39.7	63.8	94
2/4/50	29	-253	220	230	229	103.5	108	66	24	40.1	64.1	89
4/4/50	31	-258	180	240	180	103.8	124	48	24.1	40.4	64.5	80
n		14	14	14	4	14	14	4	4	4	4	14
ค่าเฉลี่ย		-254	232.07	246.07	215.25	103.44	118.34	48.5	23.68	39.68	63.35	97.07
SD		3.20	22.70	10.20	17.70	2.05	9.30	14.30	0.69	0.72	1.37	12.30

ตารางที่ ข. 21 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 2:1 COD 200 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 8 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	Alkalinity ออก มก./ลิตร CaCO ₃	SCOD เข้า (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N เข้า (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N เข้า (มก./ ลิตร)	SCOD ออก (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO _x -N ออก (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N ออก (มก./ ลิตร)
9/4/50	1	-258	240	280	220.8	101.9	113	27.6	37.94	54.3	92.24	91
11/4/50	3	-257	220	280	215	103.8	120	30	40.5	50.3	90.8	100
13/4/50	5	-254	270	260	220	105.5	125	35	50.2	45.1	95.3	120
16/4/50	8	-255	250	270	210	102.7	127	40	55.3	40.5	95.8	118
18/4/50	10	-261	270	290	221	104.7	115	35	58.4	35.1	93.5	110
20/4/50	12	-258	267	290	210	105.6	120	40	50.5	37.5	88	115
23/4/50	15	-258	259	270	207	101.5	151	62	45.7	30.6	76.3	145
25/4/50	17	-256	246	280	290	102.3	125	76	40.1	33.1	73.2	108
27/4/50	19	-257	287	298	315	104.5	119	70	60	20.5	80.5	106
30/4/50	22	-259	254	280	280	101.5	121	84	72.3	16.5	88.8	107
2/5/50	24	-255	289	310	270	102.3	120	80	70.8	15.5	86.3	110
4/5/50	26	-257	258	280	300	102.8	120	31	73.1	15.3	88.4	104
7/5/50	29	-251	269	290	256	105	125	30	71.2	18.4	89.6	120
9/5/50	31	-259	250	275	221	104.5	122	35	70.3	18.5	88.8	108
11/5/50	33	-255	248	270	229	105	121	30	70.4	17.2	87.6	108
n		15	15	15	6	15	15	6	6	6	6	15
ค่าเฉลี่ย		-257	258.47	281.53	259.33	103.57	122.93	48.33	71.35	16.90	88.25	111.33
SD		2.46	17.80	12.60	37.20	1.48	8.60	20.84	1.02	1.26	1.05	18.40

ตารางที่ ข. 22 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 2:1 COD 200 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 4 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity	Alkalinity	SCOD	NO ₃ ⁻ -N	NH ₃ -N	SCOD	NO ₃ ⁻ -N	NO ₂ ⁻ -N	NO _x -N	NH ₃ -N
			เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	ออก มก./ลิตร CaCO ₃	เข้า (มก./ ลิตร)	เข้า (มก./ ลิตร)	เข้า (มก./ ลิตร)	ออก (มก./ ลิตร)	ออก (มก./ ลิตร)	ออก (มก./ ลิตร)	ออก (มก./ ลิตร)	ออก (มก./ ลิตร)
16/5/50	1	-257	268	290	276	103.5	123	87	68.4	28.5	96.9	110
18/5/50	3	-256	279	280	268	101.7	143	59	70.5	25.1	95.6	120
21/5/50	5	-255	259	279	250	105	135	55	70.3	20.1	90.4	125
23/5/50	8	-258	210	250	260	109	130	60	72.4	22.3	94.7	128
25/5/50	10	-254	230	260	272	106.5	125	65	69.5	18.4	87.9	120
28/5/50	12	-259	250	280	265	105	130	68	66.4	15.3	81.7	125
30/5/50	15	-256	249	290	278	108	125	70	62.3	13.5	75.8	122
1/6/50	17	-255	230	260	280	103	130	72	60.7	10.8	71.5	120
4/6/50	19	-251	290	300	287	102.6	128	75	58.4	13.5	71.9	125
6/6/50	22	-258	210	250	275	104.6	130	70	55.6	10.5	66.1	126
8/6/50	24	-259	234	280	280	102.6	135	72	50.1	12.5	62.6	129
11/6/50	26	-252	258	270	308	105.4	134	75	55.4	10.3	65.7	108
13/6/50	29	-258	220	270	290	108.9	124	70	56.3	10.5	66.8	121
15/6/50	31	-256	240	280	280	108.7	126	72.3	55.5	10.3	65.8	120
n	14	14	14	14	6	14	14	6	6	6	6	14
ค่าเฉลี่ย		-256	244.79	274.21	286.67	105.32	129.86	72.33	55.22	11.27	66.48	121.36
SD		2.56	24.40	15.00	13.90	2.54	5.47	7.90	2.49	1.26	2.76	6.18

ตารางที่ ข. 23 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต 5:1 COD 500 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 24 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity	Alkalinity	SCOD	NO ₃ ⁻ -N	NH ₃ -N	SCOD	NO ₃ ⁻ -N	NO ₂ ⁻ -N	NO _x -N	NH ₃ -N
			เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	ออก มก./ลิตร CaCO ₃	เข้า (มก./ ลิตร)	เข้า (มก./ ลิตร)	เข้า (มก./ ลิตร)	ออก (มก./ ลิตร)	ออก (มก./ ลิตร)	ออก (มก./ ลิตร)	ออก (มก./ ลิตร)	ออก (มก./ ลิตร)
4/12/49	1	-255.6	570	610	580	50	121	35	0	0.74	0.74	110
7/12/49	4	-254.6	560	590	520	50	125	35	0	2.4	2.4	95
8/12/49	8	-258.1	567	582	580	97.2	115	33	9.1	5	14.1	100
14/12/49	11	-265.1	546	580	640	98.1	118	45	10.5	4	14.5	110
18/12/49	15	-248.1	550	595	490	97.5	120	23	51.3	7.7	59	115
21/12/49	18	-249.5	590	620	590	98.7	128	50	23.4	12	35.4	118
25/12/49	22	-246.9	560	615	600	99	121	60	31.5	14	45.5	117
28/12/49	25	-251.4	650	580	450	96.4	123	22	30.5	14	44.5	119
1/1/50	29	-255.9	570	600	490	99	125	25	25.1	10.5	35.6	120
4/1/50	32	-253.8	530	620	480	98	120	26	15.3	8	23.3	117
8/1/50	36	-257.7	610	630	550	99	117	34	2.8	0.7	3.5	115
15/1/50	39	-258.9	578	600	560	99	115	36	2.85	0.5	3.35	111
18/1/50	43	-255.4	548	610	550	99	120	35	2.8	0.4	3.2	110
n	13	13	13	13	3	13	13	3	3	3	3	13
ค่าเฉลี่ย		-254.7	571.46	602.46	553.33	90.84	120.62	35	2.82	0.53	3.35	112.08
SD		4.93	31.23	16.57	55.3	18.14	3.9	10.98	0.02	0.12	0.12	7.43

ตารางที่ ข. 24 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 5:1 COD 500 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 12 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	Alkalinity ออก มก./ลิตร CaCO ₃	SCOD เข้า (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N เข้า (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N เข้า (มก./ ลิตร)	SCOD ออก (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO _x -N ออก (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N ออก (มก./ ลิตร)
22/1/50	1	-256.1	600	900	454	103.5	118	15	4.5	2.2	6.7	112
25/1/50	4	-254.3	580	870	624	105	109	45	23.3	16.3	39.6	100
29/1/50	8	-256.4	590	890	565	95.8	131	41	10.3	4.3	14.6	120
1/2/50	11	-258.1	590	850	624	98.7	107	51	12.2	7.3	19.5	80
5/2/50	15	-259.2	640	910	664	103.6	125	31	27.3	8.3	35.6	100
8/2/50	18	-249.7	600	860	480	106.5	110	31	16.2	8.8	25	91
12/2/50	22	-248.5	610	920	518	106.37	118	27	3.8	0.13	3.93	79
15/2/50	25	-256.3	570	870	625	105.4	115	12	2.1	0.17	2.27	99
19/2/50	29	-255.7	550	860	520	104.6	116	11	2.05	0.16	2.21	99
22/2/50	32	-257.8	590	920	515	104.7	120	13	2	0.18	2.18	100
n		10	10	10	4	10	10	4	4	4	4	10
ค่าเฉลี่ย		-255.2	592.00	885.00	544.5	103.42	116.90	15.75	2.49	0.16	2.65	98.00
SD		3.5	23.9	26.35	74.73	3.46	7.37	14.7	0.75	0.02	0.74	12.59

ตารางที่ ข. 25 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 5:1 COD 500 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 8 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	Alkalinity ออก มก./ลิตร CaCO ₃	SCOD เข้า (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N เข้า (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N เข้า (มก./ ลิตร)	SCOD ออก (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO _x -N ออก (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N ออก (มก./ ลิตร)
26/2/50	1	-254.9	510	565	442	105.9	116	41	3.4	0.78	4.18	104
1/3/50	3	-257.2	550	580	498	101.5	121	40	2.1	0.82	2.92	95
5/3/50	7	-257.7	535	550	635	109.4	129	83	3.1	0.85	3.95	102
7/3/50	9	-258.5	570	560	522	107.8	121	70	5.4	0.64	6.04	101
9/3/50	11	-256.8	578	590	520	105.6	125	70	5.5	0.14	5.64	110
12/3/50	14	-253.3	560	600	632	102.6	123	44	5.1	0.5	5.6	95
14/3/50	16	-255.4	547	580	620	103.5	125	45	5.4	0.31	5.71	115
16/3/50	18	-256.7	589	610	625	105.4	121	40	3.1	0.3	3.4	117
19/3/50	21	-248.6	567	580	530	101.8	121	38	3.4	0.22	3.62	89
21/3/50	23	-250.7	543	570	537	101.6	120	44	3.5	0.2	3.7	77
23/3/50	25	-251.6	523	560	568	102.5	106	35	7.6	0.03	7.63	98
26/3/50	28	-253.6	560	590	568	103.7	111	38	5.6	0.02	5.62	99
28/3/50	30	-254.9	520	600	599	104.5	119	30	4.8	0.01	4.81	79
30/3/50	32	-252.7	565	595	585	108.6	130	36	4.5	0.01	4.51	109
2/4/50	35	-257.4	546	580	565	106.4	120	48	4.6	0.02	4.62	93
4/4/50	37	-255.7	574	621	540	105.8	112	42	4.6	0.02	4.62	77
n		16	16	16	5	16	16	5	5	5	5	16
ค่าเฉลี่ย		-254.7	552.31	583.19	571.4	104.79	120.00	38.8	4.82	0.02	4.84	97.50
SD		2.79	22.3	19.4	53.87	2.49	6.33	14.7	0.4	0	0.4	12.48

ตารางที่ ข. 26 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต 5:1 COD 500 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 4 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	Alkalinity ออก มก./ลิตร CaCO ₃	SCOD เข้า (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N เข้า (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N เข้า (มก./ ลิตร)	SCOD ออก (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ -N ออก (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N ออก (มก./ ลิตร)
9/4/50	1	-254.9	545	597	550	105.4	114	55	9.4	0.1	9.5	103
11/4/50	3	-255.3	586	630	530	103.2	115	55	9.8	0	9.8	110
13/4/50	5	-258.3	579	610	525	103.5	120	60	7.5	0.4	7.9	115
16/4/50	8	-257.4	547	585	530	105.3	130	61	5.6	0	5.6	120
18/4/50	10	-253.8	565	590	560	103.8	103	64	3.4	0	3.4	78
20/4/50	12	-255.1	550	580	520	105.5	120	60	4.1	0	4.1	110
23/4/50	15	-257.5	590	595	517	104.8	128	53	3.4	0	3.4	124
25/4/50	17	-255.2	578	625	604	103.9	135	60	3.5	0	3.5	122
27/4/50	19	-254.7	575	623	624	104.3	123	50	3.6	0	3.6	121
30/4/50	22	-259.1	585	615	580	105.7	126	64	3.5	0	3.5	120
2/5/50	24	-257.5	570	620	550	103.6	130	55	3.4	0	3.4	125
4/5/50	26	-253.6	567	635	570	104.9	122	40	3.5	0	3.5	116
n		12	12	12	6	12	12	6	6	6	6	12
ค่าเฉลี่ย		-256	569.75	608.75	574.17	104.49	122.17	56.42	3.48	0.00	3.48	113.67
SD		1.83	15.6	18.7	34.25	0.88	8.69	6.76	0.07	0	0.07	12.9

ตารางที่ ข. 27 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต 8:1 COD 800 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 24 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	Alkalinity ออก มก./ลิตร CaCO ₃	SCOD เข้า (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N เข้า (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N เข้า (มก./ ลิตร)	SCOD ออก (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ -N ออก (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N ออก (มก./ ลิตร)
4/12/49	1	-238	870	950	950	50.0	128	43	0.0	0	0.0	114
7/12/49	4	-244	860	965	880	50.0	120	80	0.5	0	0.5	116
8/12/49	8	-251	856	978	800	94.0	129	73	27.0	0	27.0	120
14/12/49	11	-254	890	980	920	97.0	125	90	16.0	0.5	16.5	118
18/12/49	15	-255	845	900	780	98.0	121	38	11.0	0	11.0	110
21/12/49	18	-247	868	890	940	99.0	124	54	26.0	0.1	26.1	109
25/12/49	22	-243	890	910	920	94.0	123	74	36.0	0.2	36.2	107
28/12/49	25	-241	830	890	780	99.0	119	55	28.0	0	28.0	113
1/1/50	29	-258	890	923	780	99.0	120	40	10.9	0	10.9	115
4/1/50	32	-253	820	860	790	98.9	120	35	8.5	0	8.5	110
8/1/50	36	-262	810	876	890	99.7	118	34	0.5	0	0.5	107
15/1/50	39	-254	860	890	880	105.2	120	36	0.0	0	0.0	110
18/1/50	43	-256	870	930	850	105.3	125	35	0.0	0	0.0	120
n		13	13	13	3	13	13	3	3	3	3	13
ค่าเฉลี่ย		-250	858.38	918.62	873.33	91.47	122.46	35	0.18	0.00	0.18	113.00
SD		7.36	26.1	39.48	65.3	18.7	3.5	19.86	0.1	0	0.1	4.58

ตารางที่ ข. 28 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต 8:1 COD 800 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 12 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	Alkalinity ออก มก./ลิตร CaCO ₃	SCOD เข้า (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N เข้า (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N เข้า (มก./ ลิตร)	SCOD ออก (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO _x -N ออก (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N ออก (มก./ ลิตร)
22/1/50	1	-244	890	900	794	103.5	123	23	8.0	0.96	9.0	105
25/1/50	4	-254	850	870	907	107.6	120	60	12.0	0.06	12.1	107
29/1/50	8	-256	810	890	902	105.2	129	38	0.0	0	0.0	116
1/2/50	11	-254	825	850	878	103.5	132	43	2.5	1.5	4.0	123
5/2/50	15	-257	850	910	820	103.6	139	27	2.8	0	2.8	120
8/2/50	18	-252	835	860	768	104.2	115	39	1.9	0	1.9	110
12/2/50	22	-255	860	920	768	109.5	140	35	0.2	0	0.2	116
15/2/50	25	-256	858	870	780	103.4	125	38	0.1	0	0.1	115
19/2/50	29	-253	840	860	840	103.5	125	30	0.1	0	0.1	118
22/2/50	32	-255	890	920	830	102.4	130	32	0.1	0	0.1	120
n		10	10	10	4	10	10	4	4	4	4	10
ค่าเฉลี่ย		-254	850.80	885.00	805	104.64	127.80	34	0.12	0.00	0.12	115.00
SD		3.9	25.6	26.3	52.8	2.2	7.9	10.2	0.0	0	0	5.9

ตารางที่ ข. 29 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต 8:1 COD 800 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 8 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	Alkalinity ออก มก./ลิตร CaCO ₃	SCOD เข้า (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N เข้า (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N เข้า (มก./ ลิตร)	SCOD ออก (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO _x -N ออก (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N ออก (มก./ ลิตร)
26/2/50	1	-254	870	890	748	103.4	117	50	2.1	0	2.1	97
1/3/50	3	-252	856	870	764	102.5	114	40	3.8	0	3.8	94
5/3/50	7	-257	860	880	820	107.3	126	32	2.4	0	2.4	114
7/3/50	9	-256	830	855	835	107.8	123	49	3.6	0	3.6	111
9/3/50	11	-258	867	875	840	105.2	125	45	1.8	0	1.8	118
12/3/50	14	-256	855	845	790	105.4	120	40	1.7	0	1.7	109
14/3/50	16	-257	868	890	820	107.6	130	45	2.3	0	2.3	120
16/3/50	18	-251	867	850	830	105.3	131	40	2.5	0	2.5	128
19/3/50	21	-254	855	885	842	102.1	123	44	3.1	0	3.1	106
21/3/50	23	-257	856	875	915	101.5	124	50	1.5	0	1.5	115
23/3/50	25	-258	869	910	789	102.6	106	25	2.2	0	2.2	113
26/3/50	28	-259	890	945	915	101.5	112	31	3.2	0	3.2	107
28/3/50	30	-256	879	920	852	102.6	122	19	3.3	0	3.3	108
30/3/50	32	-257	870	900	867	101.7	132	36	3.4	0	3.4	129
2/4/50	35	-251	845	870	875	103.5	131	24	3.2	0	3.2	103
4/4/50	37	-252	854	890	990	105.6	125	30	3.4	0	3.4	94
n		16	16	16	5	16	16	5	5	5	5	16
ค่าเฉลี่ย		-255	861.94	884.38	900	104.10	122.56	28	3.30	0.00	3.30	110.38
SD		2.65	13.9	26	61	2.2	7.34	9.76	0.00	0.00	0.00	10.50

ตารางที่ ข. 30 ข้อมูลการทดลองที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต 8:1 COD 800 mg/l, Nitrate 100 mg/l

เวลากักเก็บ 4 ชม.

วันที่	วัน	ORP (mV)	Alkalinity เข้า มก./ลิตร CaCO ₃	Alkalinity ออก มก./ลิตร CaCO ₃	SCOD เข้า (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N เข้า (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N เข้า (มก./ ลิตร)	SCOD ออก (มก./ ลิตร)	NO ₃ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO ₂ ⁻ -N ออก (มก./ ลิตร)	NO _x -N ออก (มก./ ลิตร)	NH ₃ -N ออก (มก./ ลิตร)
9/4/50	1	-249	865	935	883	107.6	117	28	6.1	0	6.1	110
11/4/50	3	-250	875	914	850	105.3	115	30	6.8	0	6.8	113
13/4/50	5	-252	835	870	820	103.4	120	27	6.5	0	6.5	105
16/4/50	8	-256	870	927	825	105.8	115	25	6.8	0	6.8	110
18/4/50	10	-254	879	935	925	105.3	102	40	5.3	0	5.3	100
20/4/50	12	-258	856	885	880	102.8	125	35	5.1	0	5.1	120
23/4/50	15	-250	865	890	871	101.5	132	38	3.8	0	3.8	114
25/4/50	17	-255	860	910	876	103.4	133	35	4.1	0	4.1	130
27/4/50	19	-256	875	915	914	104.7	121	40	2.1	0	2.1	111
30/4/50	22	-258	886	934	885	105.4	122	35	2.0	0	2.0	119
2/5/50	24	-240	880	922	860	106.4	125	30	2.2	0	2.2	120
4/5/50	26	-253	895	930	870	105.2	120	25	2.0	0	2.0	110
n		12	12	12	4	12	12	4	4	4	4	12
ค่าเฉลี่ย		-253	870.08	913.92	882	104.73	120.58	33	4.40	0	4.4	113.50
SD		5.1	15.6	21.6	30.87	1.7	8.24	5.53	1.4	0	1.4	7.89

ตารางที่ ข. 31 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 2:1 ก่อนเติมไนเตรต ที่ระยะเวลาเก็บ 24 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
2/10/2549	50.00	23.33	9/11/2549	50.00	10.00
5/10/2549	40.00	20.00	13/11/2549	43.33	10.00
9/10/2549	23.33	16.67	16/11/2549	80.00	20.00
12/10/2549	56.67	16.67	20/11/2549	26.67	16.67
16/10/2549	30.00	16.67	23/11/2549	66.67	3.33
19/10/2549	26.67	20.00	27/11/2549	43.33	10.00
23/10/2549	63.33	20.00	30/11/2549	26.67	10.00
26/10/2549	76.67	33.33	n	18	18
30/10/2549	56.67	13.33	ค่าเฉลี่ย	49.07	16.30
2/11/2549	66.67	20.00	SD	17.82	6.66
6/11/2549	56.67	13.33			

ตารางที่ ข. 32 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนโตรเจน = 5:1 ก่อนเติมไนโตรเจน ที่ระยะเวลาพักเก็บ 24 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
2/10/49	46.67	16.67	9/11/49	30.00	16.67
5/10/49	40.00	20.00	13/11/49	50.00	40.00
9/10/49	26.67	10.00	16/11/49	63.33	6.67
12/10/49	70.00	16.67	20/11/49	55.60	30.00
16/10/49	56.67	13.33	23/11/49	36.67	30.00
19/10/49	76.67	6.67	27/11/49	30.00	6.67
23/10/49	36.67	15.67	30/11/49	53.33	10.00
26/10/49	76.67	33.33	n	18	18
30/10/49	70.00	13.33	ค่าเฉลี่ย	49.20	18.65
2/11/49	33.33	26.67	SD	16.88	9.93
6/11/49	33.33	23.33			

ตารางที่ ข. 33 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนโตรเจน = 8:1 ก่อนเติมไนโตรเจน ที่ระยะเวลาพักเก็บ 24 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
2/10/49	80.00	36.67	9/11/49	49.87	15.43
5/10/49	53.33	13.33	13/11/49	50.67	20.34
9/10/49	50.00	23.33	16/11/49	36.67	30.00
12/10/49	53.33	20.00	20/11/49	30.00	20.00
16/10/49	50.00	10.00	23/11/49	23.33	10.00
19/10/49	43.33	10.00	27/11/49	20.00	6.67
23/10/49	50.00	23.33	30/11/49	26.67	16.67
26/10/49	96.67	6.67	n	18	18
30/10/49	33.33	23.33	ค่าเฉลี่ย	46.08	18.26
2/11/49	46.67	30.00	SD	18.94	8.54
6/11/49	35.60	12.87			

ตารางที่ ข. 34 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนโตรเจน = 2:1 ระยะเวลาพักเก็บ 24 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
4/12/49	33.33	16.67	22/1/50	76.67	6.67
7/12/49	26.67	16.67	25/1/50	36.67	0.00
11/12/49	23.33	10.00	29/1/50	76.67	33.33
14/12/49	53.33	16.67	1/2/50	80.00	6.67
18/12/49	33.33	20.00	5/2/50	26.67	26.67
21/12/49	10.00	23.33	8/2/50	53.33	3.33
25/12/49	23.33	16.67	12/2/50	66.67	20.00
28/12/49	23.33	6.67	15/2/50	33.33	16.67
1/1/50	56.67	16.67	19/2/50	40.00	20.00
4/1/50	10.00	23.33	22/2/50	76.67	33.33
8/1/50	20.00	20.00	26/2/50	80.00	6.67
11/1/50	26.67	10.00	1/3/50	26.67	26.67
15/1/50	70.00	16.67	n	24	24
18/1/50	56.67	13.33	ค่าเฉลี่ย	43.85	16.41
22/1/50	76.67	6.67	SD	24.00	8.90

ตารางที่ ข. 35 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 2:1 ระยะเวลาพักเก็บ 12 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
5/3/50	23.33	6.67	26/3/50	73.33	3.33
7/3/50	56.67	16.67	28/3/50	33.33	23.33
9/3/50	43.33	16.67	30/3/50	40.00	20.00
12/3/50	30.00	16.67	2/4/50	43.33	10.00
14/3/50	50.00	40.00	4/4/50	26.67	23.33
16/3/50	63.33	6.67	n	14	14
19/3/50	23.33	30.00	ค่าเฉลี่ย	44.76	16.67
21/3/50	53.33	13.33	SD	16.40	10.20
23/3/50	66.67	6.67			

ตารางที่ ข. 36 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 2:1 ระยะเวลาพักเก็บ 8 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
9/4/50	23.33	16.45	30/4/50	50.67	18.90
11/4/50	33.33	20.00	2/5/50	67.45	23.33
13/4/50	26.67	20.00	4/5/50	75.44	34.56
16/4/50	80.00	36.67	7/5/50	35.60	12.87
18/4/50	53.33	13.33	9/5/50	49.87	15.43
20/4/50	50.00	23.33	11/5/50	50.67	20.34
23/4/50	53.33	20.00	n	15	15
25/4/50	56.67	13.33	ค่าเฉลี่ย	50.81	21.21
27/4/50	55.78	29.65	SD	16.20	7.40

ตารางที่ ข. 37 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 2:1 ระยะเวลาพักเก็บ 4 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
16/5/50	36.67	30.00	6/6/50	46.67	20.00
18/5/50	30.00	6.67	8/6/50	43.33	3.33
21/5/50	53.33	10.00	11/6/50	16.67	3.33
23/5/50	46.67	13.33	13/6/50	43.33	30.00
25/5/50	56.67	16.67	15/6/50	45.30	32.40
28/5/50	30.00	6.67	n	14	14
30/5/50	80.00	10.00	ค่าเฉลี่ย	44.90	15.17
1/6/50	53.33	13.33	SD	14.80	9.80
4/6/50	46.67	16.67			

ตารางที่ ข. 38 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 5:1 ระยะเวลาพักเก็บ 24 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
4/12/49	80.00	6.67	1/1/50	70.00	13.33
7/12/49	26.67	26.67	4/1/50	33.33	26.67
8/12/49	53.33	3.33	8/1/50	33.33	23.33
14/12/49	66.67	20.00	15/1/50	78.65	20.00
18/12/49	66.67	6.67	18/1/50	70.00	16.67
21/12/49	73.33	3.33	n	13	13
25/12/49	50.00	36.67	ค่าเฉลี่ย	61.43	16.15
28/12/49	96.67	6.67	SD	20.80	10.50

ตารางที่ ข. 39 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 5:1 ระยะเวลาพักเก็บ 12 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
22/1/50	76.67	33.33	15/2/50	30.00	33.33
25/1/50	80.00	6.67	19/2/50	53.33	33.33
29/1/50	26.67	26.67	22/2/50	56.67	13.33
1/2/50	53.33	3.33	n	10	10
5/2/50	66.67	20.00	ค่าเฉลี่ย	58.33	18.00
8/2/50	66.67	6.67	SD	18.34	12.90
12/2/50	73.33	3.33			

ตารางที่ ข. 40 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 5:1 ระยะเวลาพักเก็บ 8 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
26/2/50	26.67	10.00	23/3/50	50.00	23.33
1/3/50	56.78	20.00	26/3/50	53.33	20.00
5/3/50	70.00	16.67	28/3/50	50.00	10.00
7/3/50	56.67	13.33	30/3/50	30.00	20.00
9/3/50	76.67	6.67	2/4/50	33.33	26.67
12/3/50	23.33	16.67	4/4/50	33.33	23.33
14/3/50	33.33	20.00	n	16	16
16/3/50	26.67	20.00	ค่าเฉลี่ย	47.09	18.54
19/3/50	80.00	36.67	SD	18.30	7.30
21/3/50	53.33	13.33			

ตารางที่ ข. 41 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 5:1 ระยะเวลาพักเก็บ 4 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
9/4/50	50.00	36.67	27/4/50	26.67	16.67
11/4/50	96.67	6.67	30/4/50	33.33	16.67
13/4/50	70.00	13.33	2/5/50	43.33	13.33
16/4/50	96.67	6.67	4/5/50	36.67	23.33
18/4/50	50.00	10.00	n	12	12
20/4/50	30.00	20.00	ค่าเฉลี่ย	48.06	15.00
23/4/50	23.33	10.00	SD	6.60	8.70
25/4/50	20.00	6.67			

ตารางที่ ข. 42 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 8:1 ระยะเวลาพักเก็บ 24 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
4/12/49	56.67	30.00	1/1/50	46.67	20.00
7/12/49	83.33	33.33	4/1/50	80.00	3.33
8/12/49	46.67	13.33	8/1/50	66.67	23.33
14/12/49	56.67	16.67	15/1/50	67.45	36.78
18/12/49	30.00	6.67	18/1/50	43.33	16.67
21/12/49	80.00	10.00	n	13	13
25/12/49	53.33	13.33	ค่าเฉลี่ย	58.27	18.47
28/12/49	46.67	16.67	SD	16.30	10.00

ตารางที่ ข. 43 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 8:1 ระยะเวลาพักเก็บ 12 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
22/1/50	33.33	23.33	15/2/50	50.00	16.67
25/1/50	23.33	33.33	19/2/50	70.00	20.00
29/1/50	43.33	10.00	22/2/50	26.67	13.33
1/2/50	26.67	23.33	n	10	10
5/2/50	33.33	16.67	ค่าเฉลี่ย	46.33	18.67
8/2/50	76.67	10.00	SD	21.80	7.00
12/2/50	80.00	20.00			

ตารางที่ ข. 44 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 8:1 ระยะเวลาพักเก็บ 8 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
26/2/50	56.67	20.00	23/3/50	33.33	23.33
1/3/50	56.67	23.33	26/3/50	46.67	30.00
5/3/50	60.00	20.00	28/3/50	60.00	23.33
7/3/50	53.33	13.33	30/3/50	43.33	10.00
9/3/50	30.00	36.67	2/4/50	50.00	23.33
12/3/50	36.67	30.00	4/4/50	96.67	6.67
14/3/50	30.00	6.67	n	16	16
16/3/50	53.33	10.00	ค่าเฉลี่ย	52.08	19.58
19/3/50	63.33	20.00	SD	16.50	8.70
21/3/50	63.33	16.67			

ตารางที่ ข. 45 ของแข็งแขวนลอยและของแข็งระเหยง่ายที่อัตราส่วน COD/ไนเตรต = 8:1 ระยะเวลาพักเก็บ 4 ชม.

วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)	วัน/เดือน/ปี	SS (มก./ล.)	VSS (มก./ล.)
9/4/50	33.33	23.33	27/4/50	56.67	23.33
11/4/50	46.67	30.00	30/4/50	30.00	6.67
13/4/50	60.00	23.33	2/5/50	53.33	13.33
16/4/50	43.33	10.00	4/5/50	66.67	23.33
18/4/50	50.00	23.33	n	12	12
20/4/50	96.67	6.67	ค่าเฉลี่ย	52.22	16.67
23/4/50	36.67	3.33	SD	17.80	8.80
25/4/50	53.33	13.33			

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววลัยภรณ์ วุฒิเมธา เกิดเมื่อวันที่ 30 พฤศจิกายน 2524 สำเร็จการศึกษาปริญญา
วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยรามคำแหง เมื่อปี พ.ศ. 2547
และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2547