

การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังด้วย แบคทีเรียท้องถิ่นที่มีประสิทธิภาพที่คัดเลือกได้จากน้ำเสีย Tapioca Flour Plant Wastewater Treatment with Isolated Effective Indigenous Bacteria from Wastewater

กุลยา โรจน์พานิช, นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์ และคณิตา ตังคณานุรักษ์*

ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาเขตบางเขน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Kunlaya Rojpanit, Nipon Tungkananuruk and Kanita Tungkananuruk*

Department of Environmental Science, Faculty of environment, Kasetsart University,

Bangkheng Campus, Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังขนาดกลางและขนาดย่อม ค่าซีโอดีจากการวิเคราะห์น้ำเสียตัวอย่างเท่ากับ 19,200 มก./มล. ทดลองโดยคัดเลือกแบคทีเรียประจำถิ่นที่มีความสามารถในการย่อยสลายแป้งได้ดีจากน้ำเสียตัวอย่าง พบว่า *Bacillus* OSH2 มีความสามารถในการย่อยสลายแป้งในน้ำเสียสังเคราะห์ได้ดี จากนั้นศึกษาสภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตในน้ำเสียสังเคราะห์ 100 มล. พบว่าเจริญเติบโตได้ดีที่ pH 8 เติบโตในโซเดียมกลูตาเมต 0.3 ก. และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 ก. เมื่อปรับสภาพน้ำเสียสังเคราะห์ตามผลการศึกษาพบว่า *Bacillus* OSH2 สามารถย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังได้หมดภายใน 6 ชั่วโมง และเมื่อศึกษาในน้ำเสียจริงลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 86.67 เมื่อทดลองในถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการด้วยน้ำเสียจริง หน่วยการทดลองบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศที่ปรับสภาพน้ำเสียมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีได้สูงที่สุด คือ ร้อยละ 75.06 แต่ถ้าน้ำที่ผ่านการบำบัดยังมีค่าซีโอดีเกินค่ามาตรฐานน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมของกรมควบคุมมลพิษ แก้ไขปัญหาโดยการเจือจางน้ำเสียก่อนบำบัด หรือบำบัดซ้ำอีกครั้ง ซึ่งลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 90.90 และร้อยละ 83.50 ตามลำดับ

คำสำคัญ : น้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง; แบคทีเรียท้องถิ่น; ซีโอดี

Abstract

The purpose of this research was to develop the effective wastewater treatment for SME tapioca flour plant. The COD from analysis of wastewater sample was 19,200 mg/L. The experiment was isolation of indigenous microorganism with good ability to degrade residual starch from wastewater

samples. It was found that *Bacillus* OSH2 had higher effective ability to degrade starch. After that, the optimum condition for 100 mL of synthetic wastewater was established at pH 8, with adding 0.3 g monosodium glutamate and 0.1 g KH_2PO_4 . The *Bacillus* OSH2 could degrade tapioca flour completely in 6 hours in adjusted synthetic wastewater and reduce COD at 86.67 % in raw wastewater at optimum condition. The lab scale reactor experiments was investigated. The treatment unit which adjusted pH raw wastewater with adding N, P nutrients and aerobic condition, was the best COD removal efficiency at 75.06 %. If the treated water had COD value above the industrial standard criteria of PCD, this problem could be solved by retreatment with the same condition or dilution the raw wastewater before treatment. It was noticed that dilution method had more efficiency to reduce COD at 90.09 % while retreatment method reduced COD at 86.67 %.

Keywords: tapioca flour plant wastewater; indigenous bacteria; COD

1. คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังรายใหญ่ที่สุดของโลกโดยมีส่วนแบ่งตลาดสูงถึงร้อยละ 70 ส่วนในตลาดอาเซียนนั้นประเทศไทยสามารถครองอันดับ 1 ในการส่งออกมาเป็นเวลานานกว่า 10 ปี (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2559) สำหรับการผลิตแป้งมันสำปะหลังนั้นประเทศไทยมีโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังสำเร็จรูปจำนวน 69 โรงงาน (กรมการค้าต่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์, 2558) ซึ่งในกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังนั้นต้องใช้น้ำปริมาณมากจึงเกิดเป็นน้ำเสียจากกระบวนการล้าง การปอกเปลือก และการสกัดแป้ง ซึ่งการผลิตแป้งมันสำปะหลัง 1 ตัน จะเกิดน้ำเสียประมาณ 10-20 ลบ.ม. และเป็นน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์สูงที่มีบีโอดี ประมาณ 55-200 กก. ซีโอดี ประมาณ 130-400 กก. สารแขวนลอย ประมาณ 40 -140 กก. ฟอสฟอรัสทั้งหมดประมาณ 0.2-0.6 กก. และไนโตรเจนทั้งหมดประมาณ 3-10 กก. ดังนั้นหากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังขนาดเล็กลักลอบปล่อยน้ำเสียที่ยังไม่ผ่านการบำบัดลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะจะทำให้เกิดการเน่าเสียได้

การบำบัดน้ำเสียที่ถูกวิธีจะทำให้หน้าที่ออกจากกระบวนการบำบัดมีสารอินทรีย์ลดลงจนอยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียโดยสร้างสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีสมบัติในการย่อยแบ่งที่มีอยู่แล้วในน้ำเสียให้มีการเจริญเติบโตได้ดีจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียให้ดียิ่งขึ้น โดยมีแนวทางคือคัดเลือกแบคทีเรียที่มีสมบัติในการย่อยสลายแบ่งได้จากน้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง นำมาศึกษาสภาวะการเจริญเติบโตที่เหมาะสม และอาหารที่เหมาะสมที่จะทำให้เชื้อเจริญได้ดียิ่งขึ้น รวมทั้งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียเพื่อให้โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังขนาดเล็กนำไปปรับใช้กับระบบบำบัดน้ำเสียเดิมและสามารถปล่อยน้ำที่ผ่านการบำบัดลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะได้อย่างปลอดภัย

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมแบคทีเรีย

เพาะเลี้ยงแบคทีเรียใน nutrient broth ที่อุณหภูมิห้อง โดยเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที

เป็นเวลา 10 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) ปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อให้มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.0 เพื่อให้มีความเข้มข้น 1×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (วิชญ์พงศ์, 2557; Demain, 1975)

2.2 การเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์

เตรียมน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้ KH_2PO_4 877 มก. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 56.7 มก. $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 11 มก. $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 30.8 มก. $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 7.5 มก. และน้ำกลั่น 1 ล. แล้วปรับค่าซีโอดีด้วย dextrose 10 ก. นำไปบ่มฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยน้ำเสียสังเคราะห์

2.3 การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเบื้องต้นของน้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

วิเคราะห์คุณภาพน้ำเสียเบื้องต้นของน้ำเสียดิบตามวิธีที่กำหนดไว้ใน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, AWWA and WEF, 2005) พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์ คือ พีเอช (pH) ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ย่อยสลายสารอินทรีย์ (biochemical oxygen demand, BOD) วิธี azide modification ปริมาณออกซิเจนที่สารเคมีใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (chemical oxygen demand, COD) วิธี closed-reflex ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total Kjeldahl nitrogen, TKN) ปริมาณฟอสฟอรัสละลายน้ำ (orthophosphate) สารแขวนลอยทั้งหมด (total suspended Solid, TSS) สี และกลิ่น

2.4 การนับจำนวนและคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียย่อยแป้งจากน้ำเสียโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

2.4.1 การหาปริมาณแบคทีเรียในน้ำเสียและฟลูจันสายพันธุ์แบคทีเรีย

นำตัวอย่างน้ำเสียมาเจือจางด้วยวิธี ten-

fold serial dilution และเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นแข็ง (nutrient agar) ด้วยวิธี pour plate technique แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนับจำนวนโคโลนีและคำนวณปริมาณแบคทีเรียในหน่วย CFU ต่อ มล. หลังจากนั้นจึงเก็บตัวอย่างแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีต่างกันมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี cross streak แล้วนำไปฟลูจันสายพันธุ์โดยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยย้อมแกรมและย้อมด้วย malachite green เพื่อศึกษาการสร้างสปอร์ของแบคทีเรีย

2.4.2 การคัดเลือกและศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการบำบัดน้ำเสีย

นำเชื้อที่คัดแยกได้ไปเพาะเลี้ยงเพื่อทดสอบการย่อยแป้งโดยจุดลงใน starch agar เป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง จากนั้นหยดสารละลายไอโอดีนลงบนโคโลนีของเชื้อที่เจริญเพื่อทดสอบการย่อยแป้ง เชื้อที่ย่อยแป้งได้จะเกิด clear zone รอบบริเวณโคโลนี จากนั้นนำเชื้อที่ให้ผลเป็นบวกมาทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยเก็บตัวอย่างมาวัดค่าซีโอดีทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน แล้วเลือกเชื้อที่ให้ผลการบำบัดดีที่สุดเพียงเชื้อเดียวมาศึกษาขั้นตอนต่อไป

2.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

2.5.1 การศึกษา pH ที่เหมาะสม

เลี้ยงแบคทีเรียในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปรับค่า pH เป็น 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 นำไปเขย่า 150 รอบต่อนาที ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตด้วยวิธี ten flow dilution และ pour plate technique แล้วเปรียบเทียบเพื่อหาค่า pH ที่แบคทีเรียเจริญได้มากที่สุด

2.5.2 การศึกษาชนิดและปริมาณของสารอาหารไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ทดลองด้วยวิธีเปรียบเทียบการเจริญ

เติบโตของแบคทีเรียระหว่างการเติมแอมโมเนียมไนไตรท์ ผงซุส ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 ปริมาณ 0.1 กรัม ลงในน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาณ 100 มล. เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนับจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตด้วยวิธี ten flow dilution และ pour plate technique (วิชญพงษ์, 2557) แล้วเลือกสารอาหารที่ให้ผลดีที่สุดมาหาปริมาณที่เหมาะสมโดยเลี้ยงแบคทีเรียในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เติมสารอาหารที่เลือก ปริมาณ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 ก. โดยเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตด้วยวิธี ten flow dilution และ pour plate technique

2.5.3 การศึกษาผลของฟอสฟอรัสในการเจริญของแบคทีเรีย

เลี้ยงแบคทีเรียในน้ำเสียสังเคราะห์ 100 มล. ที่เติม KH_2PO_4 ปริมาณ 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 ก. ตามลำดับเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตด้วยวิธี ten flow dilution และ pour plate technique

2.6 การศึกษาการบำบัดน้ำเสียโดยการเติมสารอาหารที่เหมาะสม

2.6.1 ทดสอบการย่อยแ่งในน้ำเสียสังเคราะห์

เปรียบเทียบการย่อยสลายแ่งโดยแบคทีเรียโดยการเติมแ่งมันสำปะหลัง 1 ก. ลงในน้ำเสียสังเคราะห์ 100 มล. ที่มีกรปรับสภาพให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโต และไม่ปรับสภาพจากนั้นเติมแบคทีเรีย นำไปเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที และเก็บตัวอย่างทุก 1 ชั่วโมง นำมาวัดความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (OD_{660}) โดยเติมสารละลายไอโอดีน 1 มล. ก่อนวัดค่าการดูดกลืนแสงทุกครั้ง แล้วนำค่าที่ได้มาสร้างเป็น

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่บอกถึงความขุ่นของเซลล์แบคทีเรียกับระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายแ่ง (Bassinello *et al.*, 2002; Najafi *et al.*, 2005)

2.6.2 การทดสอบบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตแ่งมันสำปะหลังในระดับห้องปฏิบัติการ

เลี้ยงแบคทีเรียในน้ำเสียจริงจากโรงงานผลิตแ่งมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ 100 มล. โดยมีทั้งหมด 3 หน่วยการทดลอง คือ หน่วยการทดลองที่ 1 (T1) เป็นหน่วยการทดลองควบคุมซึ่งไม่มีการปรับสภาพน้ำเสียก่อนการบำบัด หน่วยการทดลองที่ 2 (T2) ปรับสภาพน้ำเสียตามผลการศึกษาทั้งหมดที่ได้จากข้อ 2.5 และเติมแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ และหน่วยการทดลองที่ 3 (T3) ปรับสภาพน้ำเสียตามผลการศึกษาทั้งหมดที่ได้จากข้อ 2.5 แต่ไม่เติมแบคทีเรียที่คัดเลือกได้นำไปเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน แล้วเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ซีโอดีทุก 24 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี

2.6.3 การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตแ่งมันสำปะหลังในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่จำลองขึ้น

ทดลองโดยใช้ถังพลาสติกขนาด 54 ลิตร 4 ถัง บรรจุน้ำเสียจากโรงงานแ่งมันสำปะหลังที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อถึงละ 20 ลิตร แบ่งเป็น 4 หน่วยการทดลอง คือ หน่วยการทดลองที่ 1 และ 3 (T1, T3) เป็นหน่วยการทดลองควบคุมของการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ และใช้อากาศ ตามลำดับ ซึ่งจะไม่มีการปรับสภาพน้ำเสียก่อนบำบัด หน่วยการทดลองที่ 2 (T2) ปรับสภาพน้ำเสียตามผลการศึกษาทั้งหมดที่ได้จากข้อ 2.5 และเติมแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ปริมาณ 2 ลิตร บำบัดด้วยการกวนแบบไร้อากาศ โดยมีอัตราการกวน 180 รอบต่อนาที และหน่วยการทดลองที่ 4 (T4) ปรับสภาพน้ำเสียตามผลการศึกษาทั้งหมดที่ได้จากข้อ

2.5 และเติมแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ปริมาณ 2 ลิตร บำบัดด้วยวิธีการเติมอากาศลงในน้ำเสียโดยตรง ปรับให้อากาศมีอัตราการไหล 2 ลิตรต่อนาที โดย ทดลองที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน แล้วเก็บ ตัวอย่างมาวิเคราะห์ซีไอดีทุก 24 ชั่วโมง เพื่อ เปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดซีไอดี [โดย ดัดแปลงจาก ชัชณพงษ์ (2557)]

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพของน้ำเสีย จากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเบื้องต้นของ น้ำเสียโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังได้ผลดังตาราง ที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานน้ำทิ้งโรงงาน อุตสาหกรรม จะเห็นได้ว่าปริมาณไนโตรเจนและ ฟอสฟอรัสในน้ำเสียนั้นต่ำมาก เนื่องจากตัววัตถุดิบ คือ มันสำปะหลังมีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ต่ำอยู่แล้ว ซึ่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสนั้นเป็นสาร อาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียใน ระบบบำบัดน้ำเสีย จากงานวิจัยของ Bashaar (2004) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต ของแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศ จะต้องมียูทราส่วน COD:N:P ประมาณ 100:5:1

3.2 การศึกษาแบคทีเรียที่พบในน้ำเสีย จากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

การศึกษาพบว่าในน้ำเสียจากโรงงาน ผลิตแป้งมันสำปะหลังมีแบคทีเรียทั้งหมด 2×10^6 cfu/ml เป็นแบคทีเรียในกลุ่มบาซิลลัสเป็นจำนวนมาก และโคลิฟอร์มแบคทีเรียเล็กน้อย ไม่พบ แบคทีเรียในกลุ่มอื่นอีก เนื่องจากเชื้อในกลุ่ม บาซิลลัสมีความสามารถสร้างเ็นโดสปอร์ (endospore) ทำให้ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่ เหมาะสมได้ดี และเมื่อทดสอบการย่อยแป้งด้วย อาหารแข็งสตาร์ช พบว่าเชื้อในกลุ่ม *Bacillus* sp. 2 ไอโซเลตย่อยแป้งได้ คือ *Bacillus* OSH1 มีวงใสรัศมีเฉลี่ยกว้าง 4.33 มิลลิเมตร และ *Bacillus* OSH2 มีวงใสรัศมีเฉลี่ยกว้าง 9.1 มม. เมื่อวัดจากขอบ โคโลนี ดังรูปที่ 1

แบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* sp. หลายสายพันธุ์มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ โดยเอนไซม์ที่ผลิตนั้นเป็น alpha amylase และ beta amylase แล้วแต่สายพันธุ์ของเชื้อสอดคล้อง กับงานวิจัยของ ชัชณพงษ์, 2557 และ Moradi และ คณะ (n.d.) ที่คัดแยกแบคทีเรียประจำถิ่นที่มีความสามารถในการย่อยสลายแป้งได้เป็นเชื้อใน กลุ่ม *Bacillus* sp. เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 1 คุณภาพของน้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังก่อนผ่านกระบวนการบำบัดทางชีวภาพ

พารามิเตอร์	ค่าเฉลี่ยจากการตรวจวัด	ค่ามาตรฐานกระทรวงอุตสาหกรรม*
pH	5.7	5.5-9.0
บีไอดี (มก./ล.)	14,300	≤ 60
ซีไอดี (มก./ล.)	19,200	≤ 400
ของแข็งแขวนลอย (มก./ล.)	4,712.40	≤ 5,000
TKN (มก./ล.)	23.296	≤ 120
Orthophosphate (มก./ล.)	0.13	-
สี	ขาวขุ่น	ไม่เป็นที่พึงรังเกียจ
กลิ่น	กลิ่นแอลกอฮอล์เจือจาง	ไม่เป็นที่พึงรังเกียจ

*ประกาศจากกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3

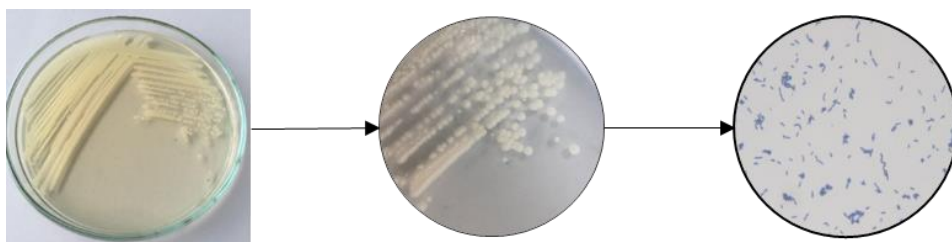


รูปที่ 1 ลักษณะวงโคโลนีที่เกิดจากการย่อยสลายแป้งของ *Bacillus* OSH1 (ซ้าย) และ *Bacillus* OSH2 (ขวา) ในอาหารแข็งสตาร์ชเมื่อหยดสารละลายไอโอดีน

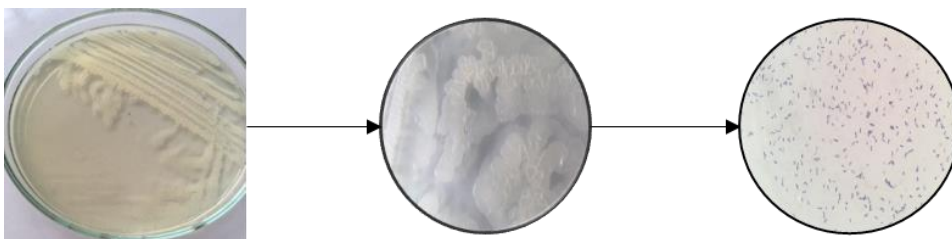
Bacillus OSH1 มีโคโลนีผิวขรุขระ สีขาว ขุ่นไม่มันวาว และมีขอบเรียบ ติดสีแกรมบวก เซลล์เป็นรูปแท่ง และพบการสร้างสปอร์ ดังแสดงในรูปที่ 2

Bacillus OSH2 มีโคโลนีสีขาวขุ่น เยิ้ม และมีขอบหยักแผ่ลามไปบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ เซลล์ติดสีแกรมบวก เป็นรูปท่อนสั้น และพบการสร้างสปอร์ ดังแสดงในรูปที่ 3

เมื่อศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดชีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ที่พบว่า *Bacillus* OSH2 มีประสิทธิภาพในการบำบัดชีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ได้ดีกว่า *Bacillus* OSH1 โดยสามารถบำบัดชีโอดีได้ถึงร้อยละ 26.67 ในวันที่ 4 ของการทดลอง ขณะที่ *Bacillus* OSH1 บำบัดชีโอดีได้เพียงร้อยละ 13.33 เท่านั้น ดังนั้นจึงเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 มาศึกษาต่อไป



รูปที่ 2 ลักษณะโคโลนีของ *Bacillus* OSH1 และรูปร่างเซลล์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า



รูปที่ 3 ลักษณะโคโลนีของ *Bacillus* OSH และรูปร่างเซลล์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2

3.3.1 pH ที่เหมาะสม

การศึกษา pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 พบว่าที่ pH 8.0 *Bacillus* OSH2 เจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดย

มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 2.43×10^9 cfu/mL ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Moradi และคณะ (2004) ที่ศึกษาแบคทีเรียในกลุ่ม amylolytic bacteria ซึ่งคัดแยกได้จากน้ำเสียจากขั้นตอนการผลิตแป้ง กากูเตน และเบียร์ พบแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ รวมทั้งแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* sp. ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้เจริญเติบโตและผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งได้ดีที่ pH 6.0-9.5

3.3.2 ชนิดและปริมาณของสารอาหารไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Bacillus* OSH2

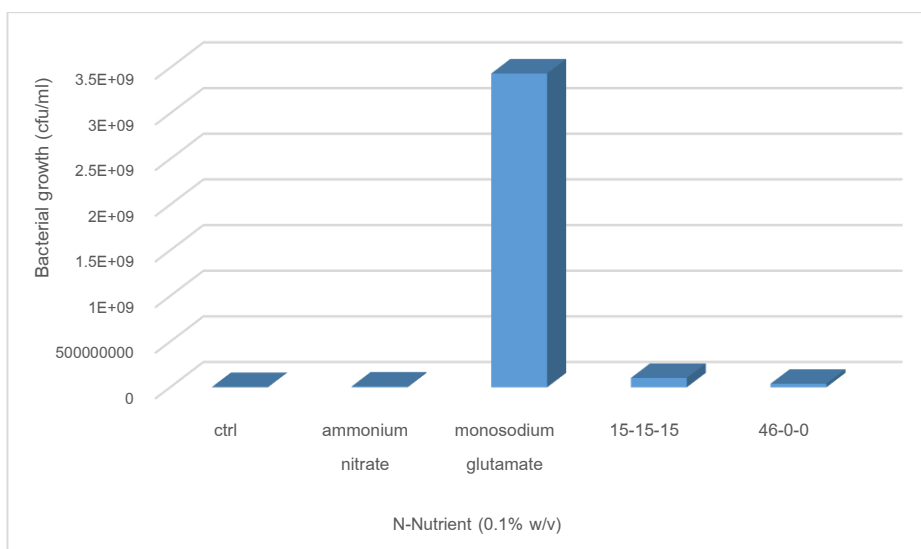
การศึกษพบว่า *Bacillus* OSH2 มีการเจริญเติบโตสูงสุดในชุดทดลองที่ใช้โมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยมีการเจริญเติบโตเฉลี่ยอยู่ที่ 3.44×10^9 cfu/mL ดังรูปที่ 4 เนื่องจาก *Bacillus* OSH2 สามารถใช้สารอาหารไนโตรเจนในรูปของสารอินทรีย์ได้ดีกว่าสารอนินทรีย์ ดังนั้นการเติมโมโนโซเดียมกลูตาเมต หรือผงชูรสลงในน้ำเสียสังเคราะห์จึงเพิ่มอัตราการเจริญได้มากกว่าการเติมสารเคมีและปุ๋ยเคมีสูตรต่าง ๆ

โดยปริมาณผงชูรสที่เหมาะสมในการ

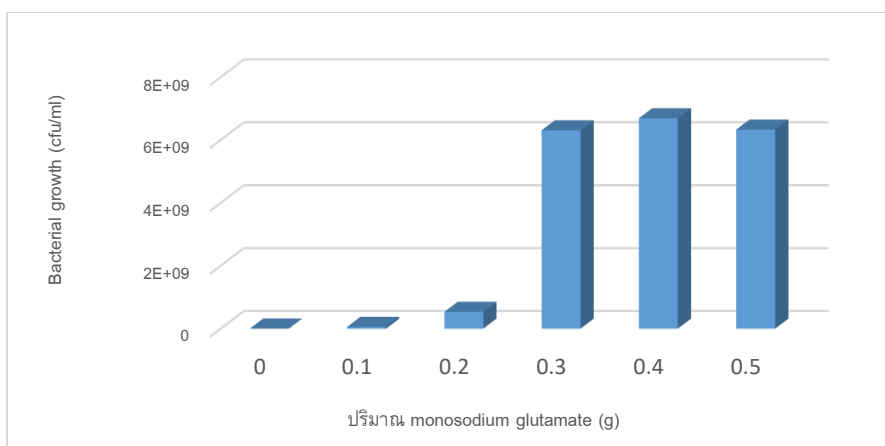
เจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 คือ 0.3 ก. ซึ่งมีเชื้อเจริญเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 6.31×10^9 cfu/mL แต่ในรูปที่ 5 ที่ปริมาณ 0.4 ก. แบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยที่มากกว่าคือ 6.68×10^9 cfu/mL เพิ่มขึ้นจากการเจริญเติบโตจากการเติมผงชูรส 0.3 ก. ร้อยละ 5.73 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการเติมผงชูรส 0.3 ก. มีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจากการเติมผงชูรส 0.2 ก. ถึงร้อยละ 91.52 (ที่การเติมผงชูรส 0.2 ก. มีการเจริญเติบโตเฉลี่ยของแบคทีเรีย 5.34×10^8 cfu/mL) และในการเติมผงชูรส 0.5 ก. การเจริญเติบโตของแบคทีเรียลดลง จึงสรุปได้ว่าการเติมผงชูรส 0.3 ก. เป็นปริมาณที่พอเพียงต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2

3.3.3 ปริมาณสารอาหารฟอสฟอรัสที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2

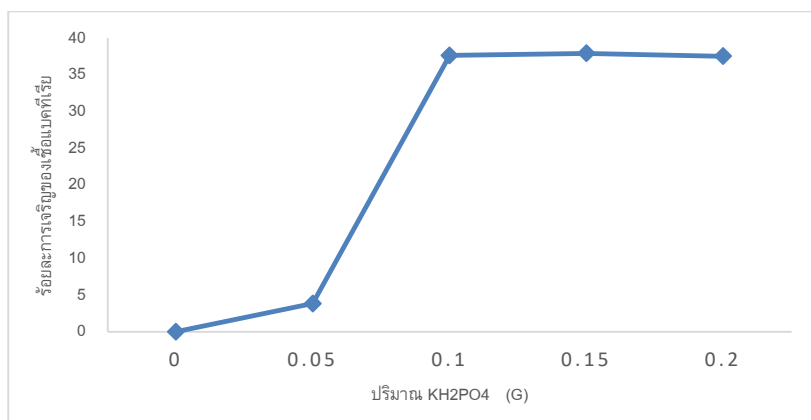
ผลการศึกษพบว่าเมื่อเติม KH_2PO_4 ปริมาณ 0.10 ก. เพิ่มอัตราการเจริญของเชื้อเป็นร้อยละ 37 และไม่เพิ่มมากกว่านี้เมื่อเติมในปริมาณที่มากขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 6



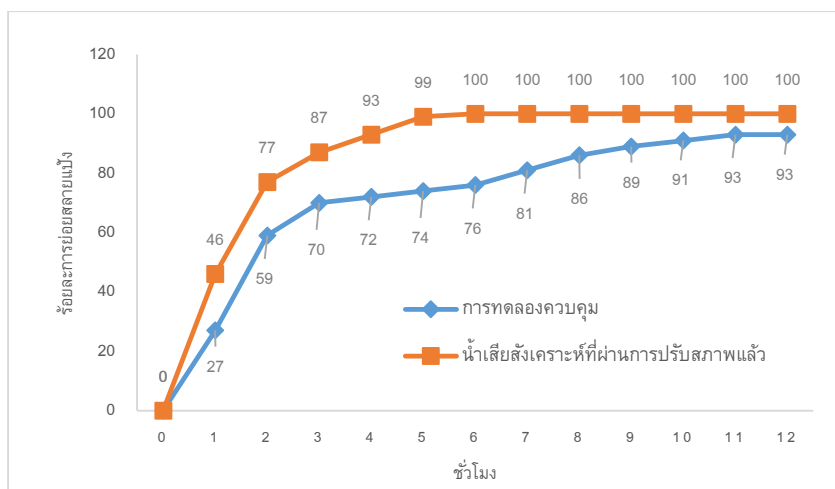
รูปที่ 4 การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 โดยมีแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน



รูปที่ 5 การเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus* รหัส OSH2 โดยมีปริมาณผลชูรสแตกต่างกัน



รูปที่ 6 ร้อยละการเพิ่มขึ้นของปริมาณแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 เมื่อเติม KH₂PO₄



รูปที่ 7 ประสิทธิภาพในการย่อยแป้งของแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2

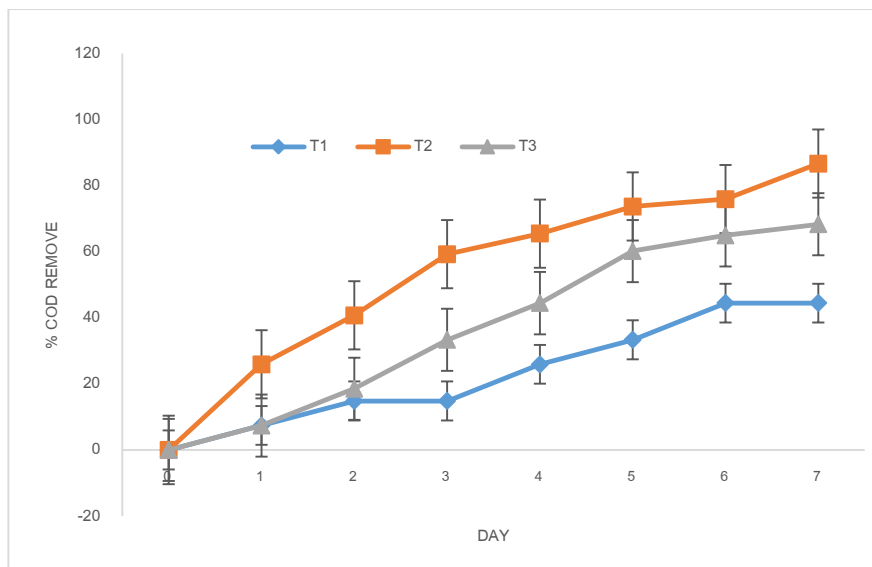
3.4 การศึกษาการบำบัดน้ำเสียโดยการเติมสารอาหารที่เหมาะสม

3.4.1 การทดสอบความสามารถการย่อยแ่งในน้ำเสียสังเคราะห์

เมื่อปรับสภาพน้ำเสียสังเคราะห์ให้เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อตามผลการทดลองที่ได้ศึกษามาในข้อ 3.3 พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 ย่อยสลายแ่งได้ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 2 ของการทดลอง และย่อยสลายแ่งหมดในชั่วโมงที่ 6 ของการทดลอง ซึ่งในชุดทดลองควบคุมที่ไม่ได้มีการปรับสภาพของน้ำเสียสังเคราะห์ให้เหมาะสมกับการเจริญนั้นเมื่อทดลองผ่านไป 12 ชั่วโมงแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 ย่อยสลายแ่งได้ร้อยละ 93 ดังรูปที่ 7

3.4.2 ผลการทดสอบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตแ่งมันสำปะหลังในระดับห้องปฏิบัติการการทดลองพบว่าในชุดทดลองที่ 2 ที่มีการปรับ

สภาพน้ำเสียและเติมแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีเฉลี่ยสูงสุด คือ ร้อยละ 86.67 ในขณะที่หน่วยการทดลองที่ 3 ซึ่งมีการปรับสภาพน้ำเสียแต่ไม่ได้เติมแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 สามารถบำบัดซีโอดีโดยเฉลี่ยได้ร้อยละ 68.30 และหน่วยการทดลองควบคุมซึ่งไม่มีการปรับสภาพน้ำเสียสังเคราะห์สามารถบำบัดซีโอดีโดยเฉลี่ยได้ร้อยละ 44.44 ดังรูปที่ 8 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 มีผลโดยตรงต่อการบำบัดซีโอดีในน้ำเสียจริง และในวันที่ 3 จะเห็นได้ว่าร้อยละการบำบัดซีโอดีของชุดทดลองที่ 3 เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด อนุมานว่าแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 ซึ่งมีอยู่แล้วในน้ำเสียจริงมีการเพิ่มจำนวนขึ้นเพราะสภาวะที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตจากการปรับสภาพน้ำเสียก่อนบำบัดส่งผลให้ค่าซีโอดีลดลงจนแตกต่างจากชุดทดลองควบคุมอย่างอย่างเห็นได้ชัดเจน

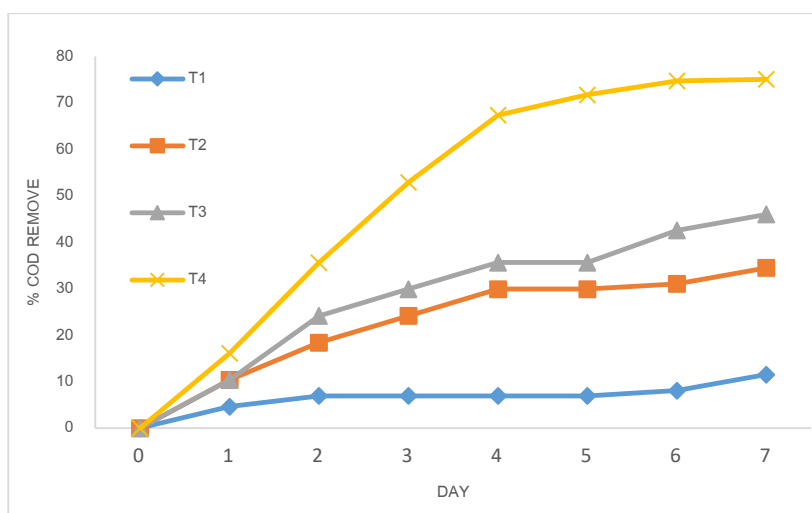


รูปที่ 8 ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีในน้ำเสียจากกระบวนการผลิตแ่งมันสำปะหลัง [ชุดทดลองที่ 1 (T1) คือ ชุดทดลองควบคุม; ชุดทดลองที่ 2 (T2) คือ ปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 และเติมแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2; ชุดทดลองที่ 3 (T3) คือ ปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 แต่ไม่เติมแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2

3.4.3 การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่จำลองขึ้น

เมื่อขยายหน่วยทดลองให้มีขนาดใหญ่ขึ้น พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus OSH2* ยังคงมีประสิทธิภาพการบำบัดชีโอดีที่สูงในหน่วยการทดลองที่ 4 ซึ่งเป็นการบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศแต่มีประสิทธิภาพลดลง คือ บำบัดชีโอดีเฉลี่ยได้ร้อยละ 75.06 น้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วมีค่าชีโอดีเฉลี่ยเท่ากับ 4,693.33 มก./ล. สาเหตุที่ประสิทธิภาพการบำบัดลดลงเป็นเพราะการทดลองมีขนาด

ใหญ่ขึ้นจึงเติมอากาศได้ไม่ทั่วถึง และมีฟองอากาศเกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าของน้ำเสียในถังปฏิกรณ์จำลองทำให้แบคทีเรียบางส่วนเกาะอยู่บนฟองอากาศไม่ได้ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ ในขณะที่ชุดทดลองที่ 2 เป็นการบำบัดแบบกวนไร้อากาศบำบัดชีโอดีได้เพียงร้อยละ 34.48 ซึ่งเป็นเพราะว่าแบคทีเรีย *Bacillus OSH2* เป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตโดยเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในกระบวนการเมตาบอลิซึม ดังแสดงในรูปที่ 9



รูปที่ 9 ประสิทธิภาพการบำบัดชีโอดีในน้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง (T1 คือ หน่วยการทดลองควบคุมการบำบัดแบบกวนไร้อากาศ; T2 คือ การบำบัดแบบกวนไร้อากาศ; T3 คือ หน่วยการทดลองควบคุมการบำบัดแบบเติมอากาศ; T4 คือ การบำบัดแบบเติมอากาศ)

3.5 การแก้ปัญหาเมื่อน้ำที่ผ่านการบำบัดด้วยแบคทีเรีย *Bacillus OSH2* มีค่าชีโอดีเกินค่ามาตรฐานกระทรวงอุตสาหกรรม

3.5.1 การบำบัดซ้ำ

การทดลองพบว่าเมื่อเติมสารอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเพิ่ม และมีการปรับค่า pH ให้กลับมาเท่ากับ 8 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus OSH2* อีกครั้ง แบคทีเรีย *Bacillus OSH2* สามารถบำบัดชีโอดี

ได้ดี โดยสามารถบำบัดชีโอดีโดยเฉลี่ยได้ร้อยละ 83.50 ซึ่งใกล้เคียงกับในครั้งแรกคือ 86.67 โดยในวันที่ 7 ของการบำบัดรอบที่ 2 มีค่าชีโอดีเฉลี่ย 307 มก./ล. ซึ่งต่ำกว่าค่ามาตรฐานน้ำเสียโรงงานของกระทรวงอุตสาหกรรมที่กำหนดไว้ 400 มก./ล.

3.5.2 การเจือจางน้ำเสียก่อนการบำบัด

เมื่อเจือจางน้ำเสียสังเคราะห์ให้มีค่าชีโอดีต่ำลง แล้วจึงบำบัดโดยปรับสภาพน้ำเสียให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Bacillus*

OSH2 พบว่าประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียเพิ่มสูงขึ้นคือสามารถบำบัดชีโอดีเฉลี่ยได้ร้อยละ 90.90 ซึ่งสูงกว่าการบำบัดโดยไม่เจือจางน้ำเสียที่บำบัดชีโอดีเฉลี่ยได้ร้อยละ 83.50 น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดโดยมีการเจือจางก่อนนั้นมีค่าชีโอดีเฉลี่ยเท่ากับ 213.33 มก./ล. ซึ่งต่ำกว่าค่ามาตรฐานน้ำเสียโรงงานของกระทรวงอุตสาหกรรมที่กำหนดไว้ 400 มก./ล.

4. สรุป

น้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังเป็นน้ำเสียที่มีสารอินทรีย์จำพวกแป้งปริมาณมาก ในที่นี้ ตัวอย่างน้ำเสียที่นำมาศึกษามีค่าชีโอดีเฉลี่ยสูงถึง 19,200 มก./ล. และบีโอดีเฉลี่ย 14,300 มก./ล. อีกทั้งยังมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่ำมาก ไม่ได้สัดส่วนที่เหมาะสมกับชีโอดีทำให้แบคทีเรียที่อยู่ในน้ำเสียเจริญเติบโตได้ไม่ดี ย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ไม่เต็มประสิทธิภาพ รวมทั้งแบคทีเรียประจำถิ่นที่มีความสามารถในการย่อยแป้งด้วย พบว่ามีแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* sp. 2 สายพันธุ์ ในน้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังสามารถย่อยแป้งได้ ตั้งรหัสว่า OSH1 และ OSH2 และแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 บำบัดชีโอดีในน้ำเสียสังเคราะห์ได้ดีกว่า *Bacillus* OSH1 จึงเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 มาใช้ทดลองต่อ ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ pH 8 และมีอาหารที่เหมาะสมคือผงชูรส โดยใส่ในปริมาณ 0.3 ก. และ KH_2PO_4 ปริมาณ 0.1 ก. ต่อ น้ำเสีย 100 มล.

เมื่อปรับสภาพน้ำเสียก่อนการบำบัดและเติมแป้ง 1 ก. ลงไป พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 สามารถย่อยสลายแป้งได้หมดภายในเวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งน้ำเสียที่ไม่ผ่านการปรับสภาพนั้นเมื่อผ่านไป 12 ชั่วโมง ยังคงเหลือแป้งอยู่ร้อยละ 7 และเมื่อทดลองโดยปรับสภาพน้ำเสียก่อนการบำบัดให้เหมาะต่อการเจริญเติบโตและเติมแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2

สามารถบำบัดชีโอดีเฉลี่ยได้ถึงร้อยละ 86.67 น้ำที่ผ่านการบำบัดจะมีค่าชีโอดีเฉลี่ยเหลืออยู่ 2,034 มก./ล. แต่หากปรับสภาพน้ำเสียเพียงอย่างเดียวไม่มีการเติมแบคทีเรีย *Bacillus* OSH2 ประสิทธิภาพการบำบัดชีโอดีจะลดลง และใช้เวลาการบำบัดนานขึ้น เมื่อทดลองในถังปฏิกรณ์ระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าการบำบัดด้วยวิธีการเติมอากาศให้ผลการบำบัดดีที่สุดคือร้อยละ 75.06 น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดจะมีค่าชีโอดีเฉลี่ยเหลืออยู่ 4,693 มก./ล.

หากค่าชีโอดีของน้ำที่ผ่านการบำบัดเกินค่ามาตรฐานกระทรวงอุตสาหกรรมที่กำหนดไว้ที่ 400 มก./ล. สามารถแก้ไขโดยบำบัดซ้ำ และการเจือจางน้ำเสียก่อนการบำบัด พบว่าการเจือจางน้ำเสียก่อนการบำบัดให้ผลดีกว่า คือ ลดค่าชีโอดีได้ร้อยละ 90.90 ส่วนการบำบัดซ้ำลดค่าชีโอดีได้ร้อยละ 83.50

5. รายการอ้างอิง

กรมการค้าต่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์, 2558, รายชื่อและที่ตั้งโรงงานอุตสาหกรรมมันสำปะหลัง, แหล่งที่มา : <http://www.dft.go.th/Default.aspx?TabId=168&ctl=DetailUserContent&mid=685&contentID=393>, 28 กุมภาพันธ์ 2559.

ชิษณุพงษ์ ประทุม, 2557, การบำบัดน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนด้วยเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพจากการคัดแยกในน้ำเสียโรงงานผลิตขนมจีนร่วมกับเทคนิคการกรองในหน่วยทดลองขนาดเล็ก, วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2559, อุตสาหกรรมมันสำปะหลัง, แหล่งที่มา : <http://www.nstda.or.th/industry/industry-casava>, 28 กุมภาพันธ์ 2559.

APHA, AWWA and WEF, 2005, Standard Methods

- for the Examination of Water and Wastewater, 21st Ed., American Public Health Association, Washington, DC.
- Bashaar, Y.A., 2004, Nutrients Requirement in biological industrial wastewater treatment, Afr. J. Biotechnol. 3: 236-238.
- Bassinello, P.Z., Cordenunsi, B.R. and Lajolo, F.M., 2002, Amylolytic activity in fruit: Comparison of different substrates and methods using banana as model, J. Agric. Food Chem. 50: 5781-5786.
- Demain, A.L., 1957, Minimal Media for Quantitative Studies with Bacillus Subtilis. Merck Sharp and Dohme Research Laboratories, Rahway, New Jersey.
- Mazumder, D., 2010, Simultaneous COD and ammonification nitrogen removal from a high-strength wastewater in a shaft-type aerobic hybrid bioreactor, Int. J. Environ. Sci. Develop. 1: 327-332.
- Moradi, M., Shariati, P., Tabandeh, F., Yakhchali, B. and Khaniki, G.B., 2004, Screening and isolation of powerful amylolytic bacterial strains, Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 2319-7706: 758-768.
- Najafi, M.F., Deobagkar, D. and Deobagkar, D., 2005, Purification of an extracellular α -amylase from Bacillus subtilis AX20, Protein Expr. Purif. 41: 348-354.