11. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

11. 1 ผลการสำรวจปริมาณน้ำเสีย

ปริมาณน้ำเสียจาก 2 แหล่งคือ สหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่ (H) และสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม (Y) จากกระบวนการแปรรูปน้ำยางเป็นยางแผ่นในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณน้ำเสียจากแต่ละกระบวนการผลิตและปริมาณน้ำเสียรวม ของสหกรณ์โรงอบ/รมยางที่ทำการศึกษาในเขตจังหวัดสงขลา

สหกรณ์	ปริมาณน้ำเสีย (ลบ.ม./วัน)				
โรงอบ/รมยาง	ก	ข	ค	ง	จ
บ้านหูแร่ (H)	4.26	1.65	0.94	0.50	7.35
ยางงาม (Y)	1.53	4.04	0.71	1.20	7.48

เมื่อ ก : น้ำเสียจากตะกงหลังจากคัดแยกเนื้อยาง

ข : น้ำเสียจากรางล้างยาง

ค : น้ำเสียจากการรีดแผ่นยาง

ง : น้ำเสียจากการล้างภาชนะบรรจุ และการล้างพื้น

จ : น้ำเสียรวม

11.2 ลักษณะของน้ำเสียจากการแปรรูปน้ำยางพาราเป็นยางแผ่น

ได้เก็บตัวอย่างน้ำเสียรวมก่อนไหลลงสู่บ่อบำบัด (บ่อผึ่งแห้ง) และจากบ่อบำบัดที่ 1-3 ของทั้ง 2 แหล่งมาศึกษาลักษณะของน้ำเสียดังผลในตารางที่ 2 และวิธีการที่ใช้เพื่อวิเคราะห์พารามิเตอร์ของน้ำเสียในตารางที่ 2 ใช้ วิธีการไตเตรท (Direct titration method) ตาม APHA, AWWA and WPCF, 1998)

ตารางที่ 2 ลักษณะของน้ำเสียจากจุดต่างๆของการบำบัดน้ำเสียแบบบ่อผึ่งแห้งของสหกรณ์โรงอบ/รมยางในจังหวัดสงขลา

Parameter (mg/L)	HA	HB	HC	HD	YA	YB	YC	YD
ความเป็นด่างทั้งหมด (Total alkalinity) ในรูป $CaCO_3$	145	675	644	407	150	688	635	458
ความเป็นด่างเนื่องจากกรดระเหย (VFA) ในรูป $CaCO_3$	320	788	100	31	138	288	211	82
กรดระเหยในรูป Acetic acid	481	1,181	100	31	138	431	316	82
COD	504	6,552	504	202	1,109	5,846	1,814	806

HA : น้ำเสียรวมก่อนที่จะไหลไปลงสู่บ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 1 สหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่
HB : น้ำตัวอย่างจากบ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 1 สหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่
HC : น้ำตัวอย่างจากบ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 2 สหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่
HD : น้ำตัวอย่างจากบ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 3 สหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่
YA : น้ำเสียรวมก่อนที่จะไหลไปลงสู่บ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 1 สหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม
YB : น้ำตัวอย่างจากบ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 1 สหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม
YC : น้ำตัวอย่างจากบ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 2 สหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม
YD : น้ำตัวอย่างจากบ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 3 สหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม

11. 3 ผลการแยกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

การแยกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มเป้าหมายโดยใช้อาหาร G 5 ภายใต้สภาพไร้อากาศ-มีแสง จำนวน 23 ตัวอย่างจากบ่อบำบัดน้ำเสียของโรงงานหรือสหกรณ์แปรรูปน้ำยางพาราเป็นยางแผ่นในเขตจังหวัดสงขลาและยะลาแยกเชื้อได้ 92 ไอโซเลท

11.4 ผลการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในอาหารน้ำเสีย

11.4.1 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงขั้นต้น

นำเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงทั้งหมดมาเลี้ยงในน้ำเสียจาก 2 แหล่งคือ สหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่ (H) และสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม (Y) ซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วภายใต้สภาพมีอากาศเล็กน้อย-มีแสง (ความเข้มแสงเท่ากับ 3,500 ลักซ์) ที่อุณหภูมิห้อง (35±2 องศาเซลเซียส) วัดการเจริญของเชื้อเมื่ออายุ 96 ชม.โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 660 nm ซึ่งเกณฑ์ในการคัดเลือกในขั้นต้นนี้คัดเลือกเอาเฉพาะไอโซเลทที่มีค่าการดูดกลืนแสงตั้งแต่ 0.5 ขึ้นไปในน้ำเสียจากทั้ง 2 แหล่ง สามารถคัดเลือกเชื้อได้ 69 ไอโซเลท

11.4.2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงขั้นที่ 2

นำเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงที่คัดเลือกได้มาเลี้ยงในอาหารน้ำเสียจากทั้ง 2 แหล่ง (H และ Y) ภายใต้สภาพเหมือนข้อ 4.1 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงในอาหารน้ำเสียจากทั้ง 2 แหล่ง ซึ่งอาหารน้ำเสียจากแต่ละแหล่งแยกออกเป็น 4 การทดลอง (Treatment) คือ

-ใช้อาหารน้ำเสียที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (น้ำเสียปราศจากเชื้อ) ผลการทดลองดังตารางที่ 3 และ 4

-ใช้อาหารน้ำเสียที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (น้ำเสียปราศจากเชื้อ) และมีการเติม Yeast extract ลงไป 0.10% ผลการทดลองดังตารางที่ 3 และ 4

-ใช้อาหารน้ำเสียที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (น้ำเสียดิบ มีเชื้อตามธรรมชาติรวมอยู่ด้วย) ผลการทดลองดังตารางที่ 3 และ 4

-ใช้อาหารน้ำเสียที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (น้ำเสียดิบ มีเชื้อตามธรรมชาติรวมอยู่ด้วย) และมีการเติม Yeast extract 0.10% ผลการทดลองดังตารางที่ 3 และ 4

11.4.2.1 การเจริญของเชื้อในน้ำเสียสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่

การเจริญของเชื้อในอาหารน้ำเสียจากสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่ (H) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่าไอโซเลท KHA5 และ KHD3 มีการเจริญของเชื้อดีที่สุดคือต่างก็มีค่า OD 660 เท่ากับ 1.08 ซึ่งเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลทข้างต้นเป็นเชื้อที่แยกได้จากน้ำเสียสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่ (H) และเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารน้ำเสียจากแหล่งเดิม จึงสามารถเจริญได้ดีกว่าแบคทีเรียสังเคราะห์แสงไอโซเลทอื่นๆ ในตารางที่ 3 แสดงการจัดแบ่งเชื้อออกเป็นกลุ่มย่อยตามความสามารถในการเจริญ

ตารางที่ 3 จำนวนไอโซเลทของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มเป้าหมายที่เจริญในน้ำเสียของสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่ อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา ภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสงเมื่อบ่มเป็นเวลา 72 ชม

Growth	Number of isolate			
(OD 660 nm)	Sterile wastewater	SW + 0.1% Y.E*	Raw wastewater	RW + 0.1% Y.E
>0.2-0.5	27 (>0.4-0.5)	0	19	0
>0.5-0.8	16	0	24	0
>0.8-1.0	18	0	20	0
>1.0-1.25	8	2	4	0
>1.25-1.5	0	10	2	0
>1.5-1.75	0	26	0	0
>1.75-2.0	0	29	0	24
>2.0-2.2	0	2	0	21
>2.2-2.3	0	0	0	20
>2.3	0	0	0	4

*Y.E. = Yeast extract

จากตารางที่ 3 แสดงการเจริญของเชื้อเมื่ออายุ 72 ชั่วโมง ในน้ำเสียปราศจากเชื้อบ้านหูแร่ที่มีการเติม Yeast extract 0.10 % เชื้อไอโซเลท KHA1 และ KHA5 มีการเจริญ ดี คือมีค่า OD ที่ 660 nm เท่ากับ 2.12 และ 2.05 ตามลำดับซึ่งเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลทนี้เป็นเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำเสียสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่ (H) และเมื่อนำมาเลี้ยงในน้ำเสียจากแหล่งเดิม จึงสามารถเจริญเติบโตได้ดี และการเติม Yeast extract 0.10% ลงไปในน้ำเสียเป็นการส่งเสริมให้เชื้อเจริญได้เร็ว และดียิ่งขึ้น ส่วนเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงอีก 67 ไอโซเลท แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยตามการเจริญดังตารางที่ 3 ซึ่งทุกเชื้อเจริญได้ดีขึ้น

ส่วนการเจริญของเชื้อในน้ำเสียที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (น้ำเสียดิบ) พบว่าไอโซเลท GYC3 และ ไอโซเลท R6 มีการเจริญดีวัดค่า OD ที่ 660 nm ได้ 1.40 และ 1.36 ตามลำดับ ซึ่งเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลทเป็นเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำเสียจากสถานที่ซึ่งต่างกัน โดยไอโซเลท GYC3 แยกได้จากตัวอย่างน้ำเสียสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม (Y) บ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 2 ส่วนเชื้อไอโซเลท R6 เป็นเชื้อที่แยกจากบ่อบำบัดน้ำทิ้งโรงงานยาง อ. เบตง จ. ยะลา จากผลการทดลองแสดงว่า เชื้อทั้งสองมีความสามารถในการแข่งขันสูงกับเชื้อแบคทีเรียอื่นๆที่มีอยู่ในธรรมชาติของตัวอย่างน้ำเสียจากสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่ (H) ได้เป็นอย่างดี ส่วนอีก 67 ไอโซเลท ความสามารถในการแข่งขันต่ำดังตารางที่ 3

ตามตารางที่ 3 การเจริญของเชื้อในน้ำเสียดิบ ซึ่งมีเชื้อตามธรรมชาติรวมอยู่ด้วย และมีการเติม Yeast extract 0.1% เชื้อไอโซเลท KHA1 และไอโซเลท KHA5 มีการเจริญดีสุดคือ วัด OD ที่ 660 nm ได้เท่ากับ 2.39 และ 2.38 โดยทั้ง 2 ไอโซเลท แยกได้จากตัวอย่างน้ำเสียสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่ (H) มีความสามารถแข่งขันร่วมกับเชื้อตามธรรมชาติได้เป็นอย่างดีในกรณีที่มีการเติม Yeast extract 0.10% แสดงว่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์มีความต้องการสารอาหารเพิ่มเติม ซึ่งยังขาดอยู่ในน้ำเสียที่นำมาเลี้ยง

11.4.2.2 การเจริญของเชื้อในน้ำเสียสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม

ตารางที่ 4 จำนวนไอโซเลทของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่มเป้าหมายที่เจริญในน้ำเสียของสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม (Y) ภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสงบ่มเป็นเวลา 72 ชม

Growth	Number of isolate			
(OD 660 nm)	Sterile wastewater	SW + 0.1% Y.E*	Raw wastewater	RW + 0.1% Y.E
>0.10-0.15	14		23	
>0.15-0.20	31		30	
>0.20-0.25	20		9	
>0.25-0.30	2		6	
>0.30-0.40	2		1	
>0.40-0.60		12		18
>0.60-0.80		19		25
>0.80-1.00		30		20
>1.00		8		6

*Y.E.= Yeast extract

จากตารางที่ 4 แสดงการเจริญของเชื้อ (OD 660 nm) เมื่ออายุ 72 ชั่วโมง ในการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม (Y) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (น้ำเสียปราศจากเชื้อ) เชื้อไอโซเลท GYC4 และ ไอโซเลท GYB7 มีการเจริญของเชื้อดีคือวัดค่า OD ที่ 660 nm ได้เท่ากับ 0.33 และ 0.32 ซึ่งเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท แยกได้จากตัวอย่างน้ำเสียสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม (Y) ในบ่อที่ 1 และ 2 ตามลำดับ เชื้อจึงมีความคุ้นเคย แต่เชื้อทั้งหมดที่แยกได้มีการเจริญต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญในน้ำเสียจากสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่ แสดงว่าในน้ำเสียจากสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงามอาจมีสารเคมีบางชนิดที่มาจากกระบวนการผลิต และยับยั้งการเจริญของเชื้อ

การเจริญของเชื้อ ในน้ำเสียปราศจากเชื้อ และมีการเติม Yeast extract 0.10% เชื้อไอโซเลท KHA2 มีการเจริญของเชื้อดีคือวัดค่า OD ที่ 660 nm ได้เท่ากับ 1.24 ขณะที่ไอโซเลท GYA3 วัดค่าได้เท่ากับ 1.16 ซึ่งเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลทนี้ แยกได้มาจากตัวอย่างน้ำเสียจาก 2 แหล่งคือ บ้านหูแร่และยางงาม ส่วนเชื้อ ไอโซเลทอื่นๆก็มีการเจริญดีขึ้นเพราะมีการเติม Yeast extract แต่การเจริญยังคงต่ำกว่าของบ้านหูแร่ แสดงว่าในน้ำเสียยังขาดสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อ

การนำเชื้อ มาเลี้ยงในน้ำเสียที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ พบว่าไอโซเลท R1 มีการเจริญของเชื้อดีที่สุดคือ วัดค่า OD ที่ 660 nm ได้ 0.30 รองลงมาคือ เชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงไอโซเลท R6 วัดค่า OD ได้เท่ากับ 0.29 ส่วนเชื้อที่เหลือเจริญได้ไม่ดีดังตารางที่ 4 ขณะที่การเจริญของเชื้อในน้ำเสียที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และมีการเติม Yeast extract 0.10% เชื้อไอโซเลท KHA5 และไอโซเลท R6 มีการเจริญที่ไม่แตกต่างกันโดยวัดค่า OD ที่ 660 nm ได้ 1.25 และ 1.20 จากผลการทดลองแสดงว่าเชื้อที่แยกได้จากน้ำเสียของสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงามมีการแข่งขันต่ำ ขณะที่เชื้อที่แยกได้จากน้ำเสียของสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่ และจาก อ. เบตง จ. ยะลามีความสามารถแข่งขันได้ดีกว่า และเชื้อที่แยกได้จาก อ. เบตง จ. ยะลามีแนวโน้มที่ต้องการสารอาหารเพิ่มน้อยกว่า

จากที่กล่าวมา สำหรับการคัดเลือกในขั้นที่ 2 พบว่าเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงไอโซเลท KHA5 และไอโซเลท R6 มีการเจริญได้ดีในน้ำเสียจากทั้ง 2 แหล่ง คือน้ำเสียจากสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านหูแร่ (H) และสหกรณ์โรงอบ/รมยางบ้านยางงาม (Y) ทั้งในน้ำเสียที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (น้ำเสียดิบ) เสริมและไม่เสริม Yeast extract 0.10% และในน้ำเสียที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (น้ำเสียปราศจากเชื้อ) เสริมและไม่เสริม Yeast extract 0.10% แต่อย่างไรก็ตามพบว่า R6 สามารถเจริญได้ดีในน้ำเสียดิบจากทั้ง 2 แหล่งที่ไม่มีการเติม Yeast extract ได้ดีที่สุดดังสรุปในตารางที่ 5 ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง R6 ไว้เพื่อการศึกษาในขั้นตอนต่อไป เพราะมีศักยภาพในการนำไปใช้สูงมาก เนื่องจากเป็นเชื้อที่แยกจากแหล่งอื่นแต่มีความสามารถในการแข่งขันสูงในสภาพธรรมชาติที่ปราศจากการเติมสารอาหาร

ตารางที่ 5 ไอโซเลทที่สามารถเจริญได้ดีที่สุดในน้ำเสียที่ศึกษาภายใต้สภาพมีอากาศเล็กน้อย-มีแสงเมื่อบ่มเป็นเวลา 72 ชม

	Selection of isolate	
Treatment	Hu-rae	Yang-ngam
Sterile wastewater (SW)	KHA5, KHD3	GYC4, GYB7
SW + 0.1% Yeast extract	KHA1, KHA5	KHA2, GYA3
Raw wastewater (RW)	GYC3, R6	R1, R6
RW + 0.1% Yeast extract	KHA1, KHA 5	KHA5, R6

11.5 แหล่งไนโตรเจนและวิตามินต่อการเจริญของเชื้อที่คัดเลือกได้และผลการเทียบเคียง

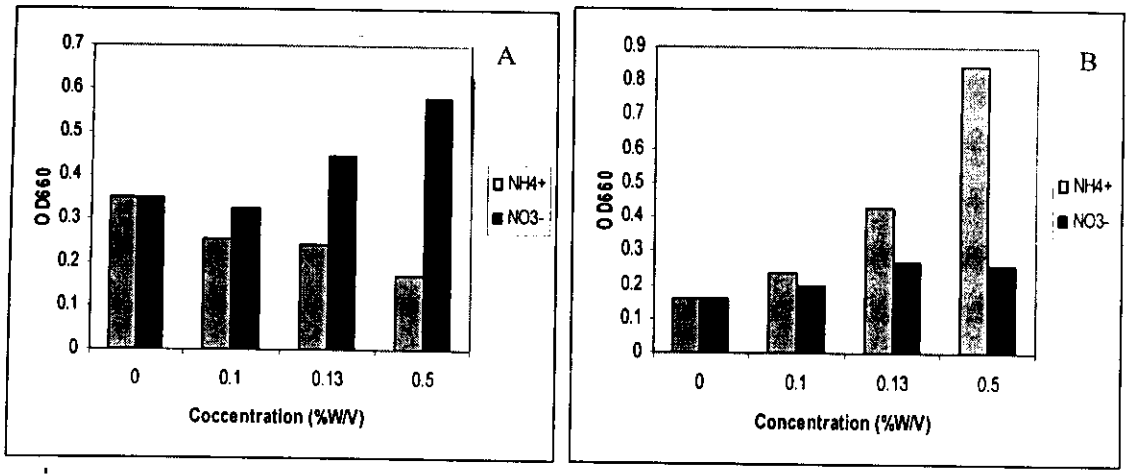
ผลการทดสอบตามตารางที่ 6 การเจริญของเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง R6 ไม่สามารถใช้ซัลไฟด์ที่ความเข้มข้น 0.13% เป็น Photosynthetic electron donor เพราะค่า OD660 น้อยกว่า 0.05 (9) แต่สามารถใช้ไทโอซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.13% เป็น Photosynthetic electron donor ได้ และภายใต้ การเจริญแบบไร้อากาศ-มีแสงเชื้อ R6 มีความสามารถใช้ทั้งแอมโมเนียมและไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยต่างมีความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 0.15% และเชื้อสามารถใช้ไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ดีกว่าแอมโมเนียมเพราะการเจริญเป็น 2.5 เท่าที่ความเข้มข้นดังกล่าว นอกจากนี้การเติมแหล่งไนโตรเจนที่ 0.20% ในอาหารสังเคราะห์ส่งผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ จากผลการทดลองที่ได้แสดงถึงความเหมาะสมที่จะใช้เชื้อ R6 เพราะน้ำเสียโดยทั่วไปรวมทั้งน้ำเสียจากการแปรรูปน้ำยางพาราเป็นยางแผ่นต่างก็มีแหล่งไนโตรเจนดังกล่าว

ตารางที่ 6 ความสามารถในการใช้ซัลไฟด์ ไทโอซัลเฟต และแหล่งไนโตรเจนของเชื้อ R6 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีกรดมาลิกเป็นแหล่งคาร์บอนภายใต้สภาพไร้อากาศ-มีแสงเมื่อบ่ม 120 ชม

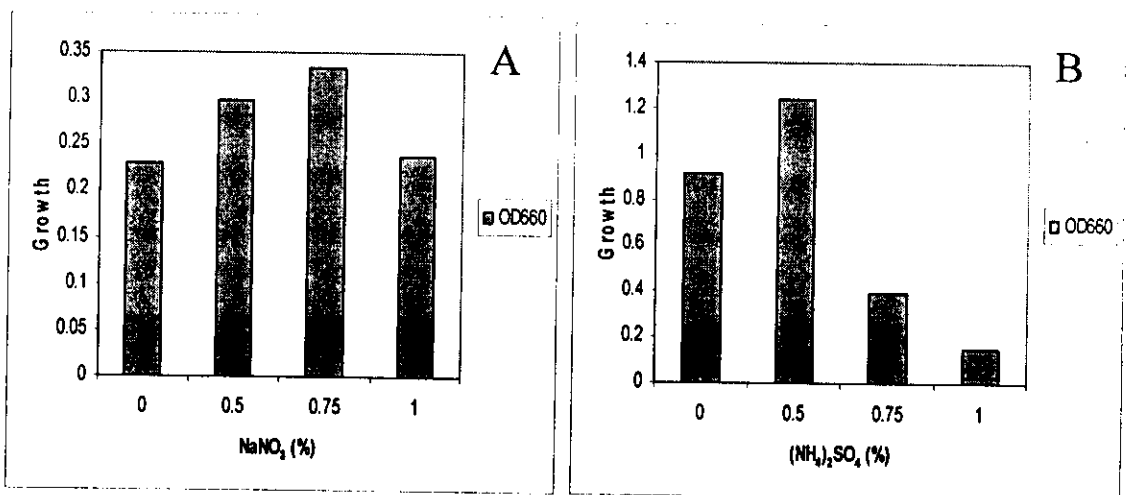
Ability to grow in various substrates	Growth (OD660)		
Substrate concentration (%)	0.13%	0.15%	0.20%
Sulfide	0.04	ND	ND
Thiosulfate	0.16	ND	ND
Ammonium	0.13	0.15	0.08
Nitrate	0.23	0.37	0.05

ND = not determined

ผลการเติมแอมโมเนียมและไนเตรทที่ความเข้มข้นต่างๆกันลงในน้ำเสียจากหูแร่และยางงาม พบว่าน้ำเสียจากหูแร่เมื่อเติมแอมโมเนียมลงไปกลับส่งผลยับยั้งการเจริญและขึ้นกับปริมาณแอมโมเนียมที่เติม และการไม่เติมพบว่ามีการเจริญดีกว่า (รูปที่ 1 A) แสดงว่าน้ำเสียจากหูแร่มีแหล่งแอมโมเนียมเพียงพอแล้ว แต่แหล่งของไนเตรทไม่เพียงพอ ดังนั้นการเติมไนเตรทลงไปเชื้อมีการเจริญดีขึ้นตามปริมาณที่เติม และจากผลยังไม่ทราบถึงปริมาณที่เหมาะสมซึ่งจะกล่าวในการทดลองถัดไป ขณะที่น้ำเสียจากยางงามพบว่าการเติมแหล่งไนโตรเจนทั้งสองส่งเสริมต่อการเจริญของเชื้อ R6 แต่การเติมแอมโมเนียมส่งเสริมต่อการเจริญมากกว่า (รูปที่ 1 B) และสำหรับปริมาณที่เหมาะสมต้องศึกษาต่อ แสดงว่าน้ำเสียจากยางงามมีไนเตรทในระดับหนึ่งอยู่แล้ว หรืออาจมีสาเหตุอื่นร่วมด้วยไม่เพียงแต่แหล่งไนโตรเจนเท่านั้นเพราะแหล่งของแอมโมเนียมที่ใช้ในการทดลองนี้มาจากแอมโมเนียมซัลเฟต และแหล่งของไนเตรทมาจากโซเดียมไนเตรท



รูปที่ 1 ผลของแหล่งและปริมาณของไนโตรเจนต่อการเจริญของเชื้อ R6 ภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสงเมื่อบ่มเป็นเวลา 48 ชม A คือน้ำเสียจากบ้านหูแร่ B คือน้ำเสียจากบ้านยางงาม



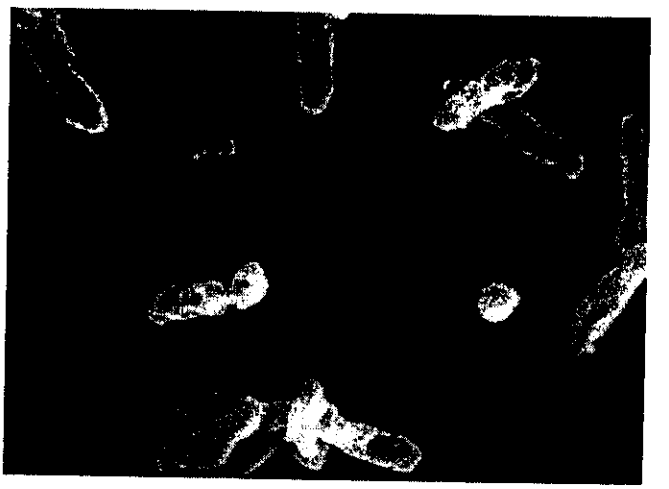
รูปที่ 2 ผลของปริมาณไนโตรเจนต่อการเจริญของเชื้อ R6 ภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสงเมื่อบ่มเป็นเวลา 48 ชม A คือน้ำเสียจากบ้านหูแร่ B คือน้ำเสียจากบ้านยางงาม

ผลการหาปริมาณที่เหมาะสมของไนตรทในน้ำเสียจากหูแร่สำหรับเชื้อ R6 ภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสงเมื่อบ่มเป็นเวลา 48 ชม พบว่าการเติมไนตรท 0.75% ส่งเสริมการเจริญของเชื้อ R6 มากที่สุด (OD 660 = 0.333) ดูรูปที่ 2 A ส่วนน้ำเสียจากยางงามเมื่อเลี้ยงภายใต้สภาวะเดียวกันการเติมแอมโมเนียม 0.50% ส่งเสริมการเจริญของเชื้อมากที่สุด (OD 660 = 1.243) ดูรูปที่ 2 B สำหรับผลการทดลองในชุดนี้น้ำเสียจากทั้ง 2 แหล่งเป็นคนละชุดกับการทดลองที่ผ่านมาจึงส่งผลต่อการทดลองที่ได้ โดยพบว่าน้ำเสียจากหูแร่ไม่ค่อยส่งเสริมการเจริญของเชื้อเหมือนการทดลองที่ผ่านมา แต่น้ำเสียจากยางงามผลกลับตรงกันข้าม (รูปที่ 1 และ 2) ซึ่งสาเหตุน่าจะมาจากสภาพของน้ำเสียที่เปลี่ยนไปตามฤดูกาล เช่นปริมาณน้ำฝนที่ตกในแต่ละแหล่งไม่เท่ากัน รวมทั้งปริมาณและชนิดของสารเคมีที่ใช้ในการแปรรูปน้ำยางเป็นยางแผ่น

สำหรับผลการเทียบเคียงเชื้อ R6 ซึ่งมีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ติดสีแกรมลบ ไม่สามารถใช้ซัลไฟด์เป็น Photosynthetic electron donor แต่ใช้ Thiosulfate ได้ แสดงว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่ม Purple nonsulfur photosynthetic bacteria และจากการที่เชื้อ R6 มีลักษณะการแตกหน่อดูรูปที่ 3 แสดงว่าสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อทำให้ระบุได้ว่าเชื้อ R6 ไม่ใช่ *Rhodobacter sp.* แต่เป็น *Rhodopseudomonas* sp. เนื่องด้วยเชื้อทั้งสองสกุลมีรูปร่างและขนาดพอๆกัน ดังนั้นการจำแนกเป็นสกุลได้ต้องอาศัยดูการสืบพันธุ์โดยที่ *Rhodobacter* spp. ใช้การแบ่งแบบเป็นสองส่วนเท่าๆกัน (Binary fission) (11, 15) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเชื้อ R6 คือ *Rhodopseudomonas* sp.

11.6 ผลการหาชนิดและปริมาณที่เหมาะสมของวิตามินต่อการเจริญของเชื้อ R6 ในอาหารสังเคราะห์ และน้ำเสีย

ผลการเจริญของเชื้อ R6 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีกรดมาลิกเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนตามตารางที่ 7 แสดงว่าเชื้อต้องการวิตามินทั้ง 4 ชนิดสำหรับการเจริญ และการขาดชนิดใดชนิดหนึ่งไปส่งผลให้การเจริญของเชื้อต่ำ (OD 660 = 0.054-0.072) ต่ำกว่าชุดควบคุมที่มีการเติมวิตามินทุกชนิด (OD 660 = 0.184) ซึ่งเป็นลักษณะของเชื้อกลุ่ม Purple non sulfur photosynthetic bacteria ที่ต้องการวิตามินดังกล่าวเพื่อการเจริญ (11)



รูปที่ 3 ภาพถ่ายเชื้อ R6 โดย Scanning electron microscope ที่กำลังขยาย 20,000 X แสดงถึงการเพิ่มจำนวนโดยการแตกหน่อ

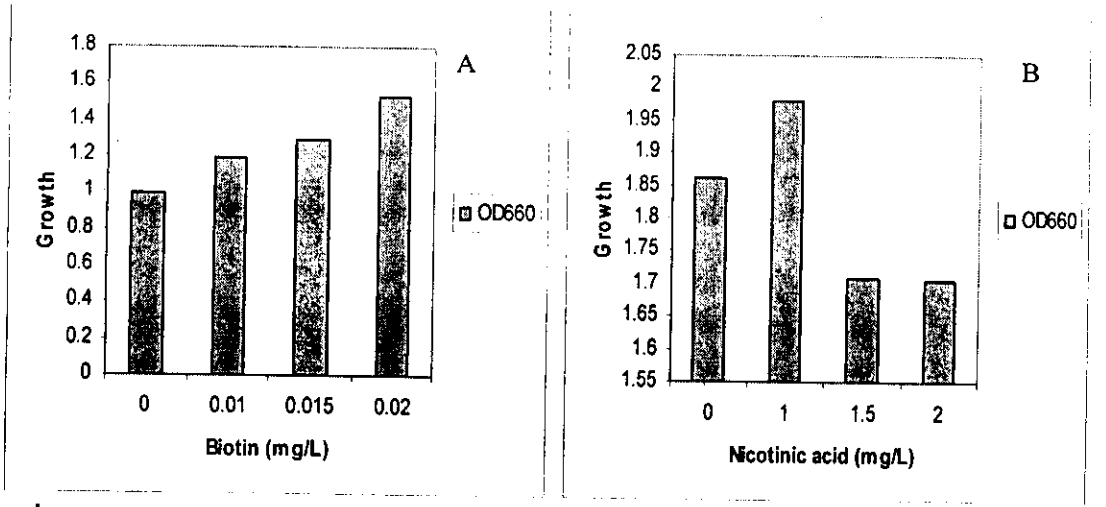
ตารางที่ 7 ผลของวิตามินต่อการเจริญของเชื้อ R6 ในอาหารสังเคราะห์ Malic acid ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-มีแสงที่อายุการบ่ม 96 ชม

Vitamin	mg/L	OD660
Nicotinic acid, P-aminobenzoic acid, and Thiamine hydrochloride (No Biotin addition)	1, 1, and 1	0.064
Biotin, P-aminobenzoic acid, and Thiamine hydrochloride (No Nicotinic acid addition)	0.01,1 and 1	0.072
Biotin, Nicotinic acid and Thiamine hydrochloride (No P-aminobenzoic acid addition)	0.01,1 and 1	0.064
Biotin, Nicotinic acid and P-aminobenzoic acid (No Thiamine hydrochloride addition)	0.01,1 and 1	0.054
All vitamins (Control)	0.01,1, 1 and 1	0.184

เป็นที่ทราบว่าเชื้อ R6 เจริญได้ดีขึ้นในน้ำเสียที่เติม Yeast extract 0.1% (ตารางที่ 3 และ 4) และในการทดลองนี้ต้องการทราบว่าน้ำเสียทั้ง 2 แหล่งมีสารที่ทำหน้าที่หรือทดแทนวิตามินต่างๆที่เชื้อต้องการตามกล่าวมาในตารางที่ 7 ได้หรือไม่จึงไม่ได้เติม Yeast extract 0.1% และสำหรับผลการเจริญของเชื้อ R6 ในน้ำเสียที่ทดสอบเกี่ยวกับการเติมวิตามินที่เชื้อต้องการภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสงดังตารางที่ 8 พบว่าน้ำเสียทั้ง 2 แหล่งก็มีสารอาหารที่เป็นแหล่งของวิตามินหรือเทียบเท่าวิตามินทั้ง 4 ชนิดในปริมาณที่แตกต่างกันไป โดยในน้ำเสียจากหูแร่พบว่าการเติม Biotin เพียงอย่างเดียวในปริมาณ 0.01 mg/L ส่งเสริมการเจริญของเชื้อ R6 มากที่สุด (OD 660 = 1.247) แสดงว่าในน้ำมีแหล่งของ Biotin ไม่เพียงพอ อย่างไรก็ตามน้ำเสียจากหูแร่ก็มีแหล่งของวิตามินอื่นๆเช่น Nicotinic acid P-aminobenzoic acid และ Thiamine hydrochloride ในระดับที่เชื้อต้องการ เพราะการเติมวิตามินดังกล่าวชนิดใดชนิดหนึ่ง หรือการเติมทุกชนิดให้ผลดีกว่าไม่เติม (น้ำเสียเท่านั้นมีค่าOD 660 = 0.939) เพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่สำหรับการเติม P-aminobenzoic acid ที่ความเข้มข้น1 mg/L กลับยับยั้งการเจริญของเชื้อ (OD 660 = 0.706) ขณะที่น้ำเสียจากยางงามมีแหล่งของวิตามินที่เชื้อต้องการ เกือบทุกชนิดเช่นกัน โดยน้ำเสียที่ไม่มีการเติมวิตามินมีการเจริญของเชื้อ R6 (OD 660 = 1.550) ใกล้เคียงกับการเติม Nicotinic acid 1 mg/L (OD 660 = 1.788) และ P-aminobenzoic acid 1 mg/L (OD 660 = 1.628) แต่การเติม Biotin 0.01 mg/L มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อในระดับหนึ่ง (OD 660 = 1.176) และโดยเฉพาะการเติม Thiamine hydrochloride 1 mg/L มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อมาก (OD 660 = 0.067) ดังนั้นน้ำเสียที่มีการเติมวิตามินทั้ง 4 ชนิด จึงมีการเจริญของเชื้อไม่ดีเท่าที่ควร (OD 660 = 0.170)

ตารางที่ 8 ผลของวิตามินต่อการเจริญของเชื้อ R6 ในน้ำเสียภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสงที่อายุการบ่ม 72 ชม

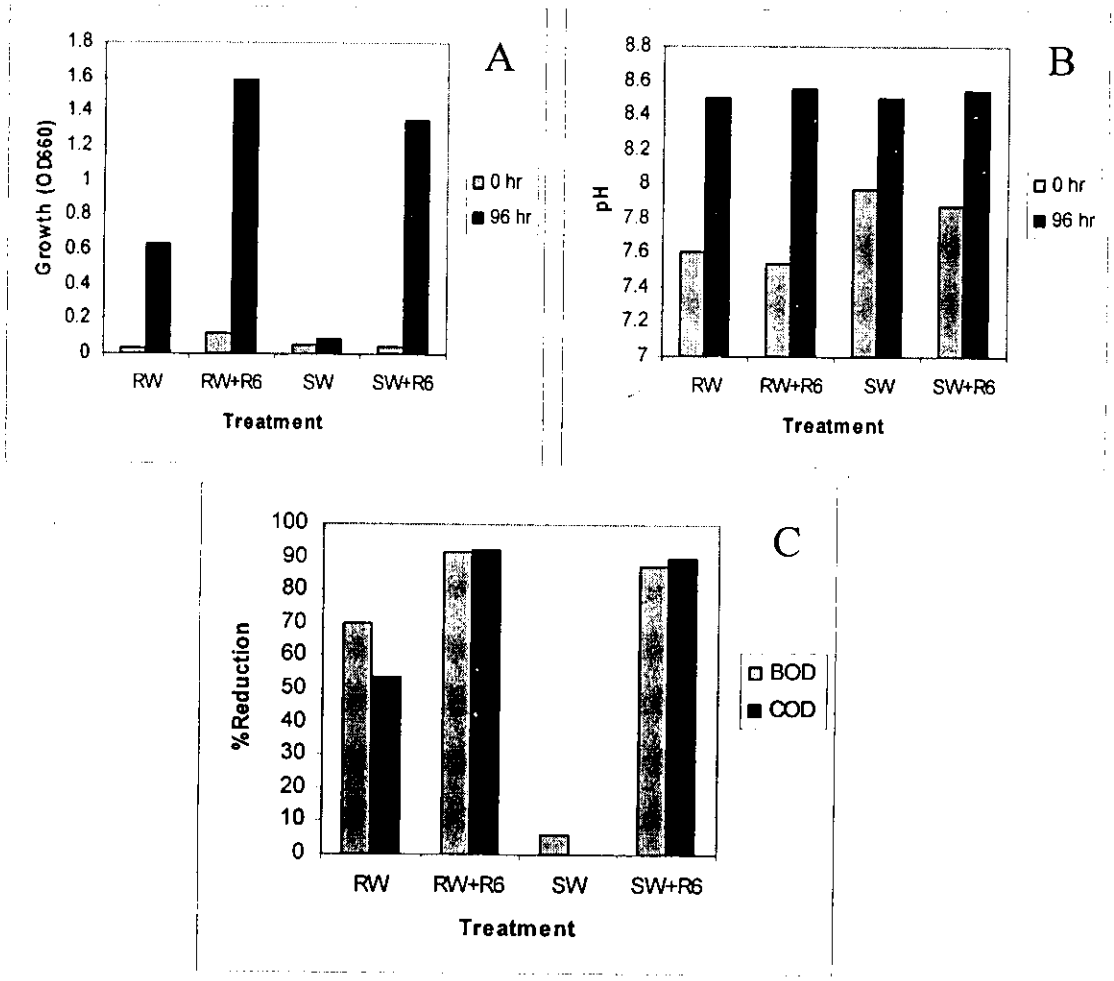
Vitamin	Concentration (mg/L)	Hu-rae (OD660)	Yang-ngam (OD660)
No vitamin supplement	0	0.939	1.550
Biotin	0.01	1.247	1.176
Nicotinic acid	1	1.052	1.788
P-aminobenzoic acid	1	0.706	1.628
Thiamine hydrochloride	1	1.111	0.067
All vitamins	As above	1.042	0.170



รูปที่ 4 ผลของปริมาณวิตามินที่เติมต่อการเจริญของเชื้อ R6 ภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสง เมื่อบ่มเป็นเวลา 48 ชม โดย A คือน้ำเสียจากหูแร่ B คือน้ำเสียจากยางงาม

ผลการทดลองจากตารางที่ 8 พบว่าน้ำเสียทั้ง 2 แหล่งมีแหล่งของวิตามินบางชนิดแต่ยังขาดบางชนิดอยู่เช่นน้ำเสียจากหูแร่ขาด Biotin ขณะที่น้ำเสียจากยางงามขาด Nicotinic acid ดังนั้นจึงได้ทดลองหาปริมาณที่เหมาะสมของวิตามินดังกล่าวในน้ำเสียแต่ละแหล่ง จากกรณีของน้ำเสียจากหูแร่การเติม Biotin 0.01 mg/L เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อ R6 และเมื่อทดลองเติมในปริมาณมากขึ้นภายใต้สภาวะเดิม (มีอากาศเล็กน้อย-มีแสง) เมื่อบ่มไว้ 48 ชม. พบว่าการเจริญของเชื้อขึ้นกับความเข้มข้นของ Biotin (รูปที่ 4 A) โดยที่การเติม Biotin 0.02 mg/L เชื้อมีการเจริญสูงสุด (OD660 = 1.53) ดังนั้นจึงควรทดลองหาปริมาณที่เหมาะสมต่อ ขณะที่ในน้ำเสียจากยางงามพบว่าการเติม Nicotinic acid 1 mg/L ส่งเสริมการเจริญของเชื้อดีที่สุด (OD 660 = 1.98) และการเติมในปริมาณที่มากขึ้นมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ (ดูรูปที่ 4 B) การเติมวิตามินใน

ลักษณะที่กล่าวมาข่อมไม่เหมาะสมในการแนะนำเกษตรกรหรือชุมชน ดังนั้นการมองหาวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่จะให้วิตามินดังกล่าวได้ เช่นน้ำมะพร้าว หรือโมลาส ซึ่งต่างก็เป็นแหล่งของวิตามินต่างๆ รวมทั้ง Biotin และ Nicotinic acid (Child, 1974; ดวงพร, 2530) จึงเป็นสิ่งที่ผู้วิจัยจะศึกษาต่อไปเพื่อความเป็นไปได้ในการแนะนำชุมชน



รูปที่ 5 ผลของการปรับสารอาหารให้เหมาะสมในน้ำเสียจากบ้านยางงามต่อการเจริญ และการบำบัดน้ำเสียของเชื้อ R6 ภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสงเมื่อบ่มเป็นเวลา 96 ชม

สำหรับการทดลองชุดน้ำเสียที่มีการปรับสารอาหารให้เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ R6 พบว่าน้ำเสียจากหูแร่ที่มีการปรับสารอาหารให้เหมาะสมโดยเติม $NaNO_3$ 0.75% และ Biotin 0.02 mg/L ภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสง เชื้อ R6 เจริญได้ไม่ดีเท่าที่ควรไม่ว่าจะเป็นสภาพเชื้อบริสุทธิ์หรือผสมเติม (R6 + เชื้อธรรมชาติ) หรือแม้แต่เชื้อตามธรรมชาติ สาเหตุน่ามาจากน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองชุดนี้มีค่า COD สูงเกินไป (12322 mg/L) เป็นช่วงฤดูแล้งที่เก็บตัวอย่าง หรือสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิตยางแผ่นมีความเข้มข้นมากขึ้นตามค่า COD ที่สูงขึ้น ดังนั้นการทดลองนี้จึงไม่นำมาเสนอ ส่วนน้ำเสียจากยางงามที่มีค่า COD 7328 mg/L ในสภาวะที่เติมสารอาหารให้เหมาะสมโดยเติม $(NH_4)_2SO_4$ 0.5% และ Nicotinic acid 1.0 mg/L พบว่าเชื้อ R6

เจริญได้ดีทั้งในสภาพเชื้อบริสุทธิ์ (R6) เชื้อผสมเติม (R6 และเชื้อในธรรมชาติ) โดยเชื้อผสมเติมเจริญได้ดีกว่า (รูปที่ 5 A) แต่เชื้อส่วนใหญ่ก็เป็นเชื้อ R6 เพราะสภาพเป็นสีแดงเช่นเดียวกับสภาพที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์ ขณะที่เชื้อผสมธรรมชาติ (ไม่มีการเติม R6) พบว่าเป็นสีชมพูจาง ๆ และจากผลการเจริญส่งผลต่อการเปลี่ยนค่าของ pH ในน้ำเสียที่เลี้ยง (รูป 5B) ในน้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อ เมื่อเริ่มต้นการเลี้ยง (t = 0 hr) ค่า pH ประมาณ 7.6 ซึ่งไม่แตกต่างจากน้ำเสียที่ยังไม่ได้เติมสารอาหาร (pH 7.53) แสดงว่า $(NH_4)_2SO_4$ ปริมาณที่เติมไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ส่วนน้ำเสียที่ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อ (121^{o}ซ ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที) มีค่า pH เริ่มต้นประมาณ 8 สาเหตุมาจากการสูญเสียไปของกรดระเหย (ตารางที่ 2 และรูปที่ 5B) จากการผ่านความร้อน-ความดันสูง ซึ่งมีผลทำให้การเจริญของเชื้อบริสุทธิ์ (R6) มีค่าต่ำกว่าเชื้อผสม และเมื่อเลี้ยงไปเป็นเวลา 96 ชั่วโมง ทำให้ทุกรูปแบบของชุดการทดลองมีค่า pH สูงขึ้น และต่างก็อยู่ในระดับเดียวกันคือประมาณ 8.5 แสดงว่าสารต่าง ๆ ที่อยู่ในน้ำเสียสามารถมีการเปลี่ยนสภาพได้เองจากสภาพเป็นกรดไปเป็นด่างโดยมีแสงเป็นตัวกระตุ้น (สังเกตจากชุดปราศจากเชื้อ: SW ที่มีการเพิ่มขึ้นเองของ pH เช่นกัน) ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้กับสารพวกโปรตีนแล้วได้แอมโมเนียม แต่ไม่มากเท่าในกรณีที่มีเชื้ออยู่ แสดงว่าผลการเจริญภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสง เชื้อใช้สารอาหารในน้ำเสียที่มีความเป็นกรด เช่นการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์เชื้อต้องใช้ Glutamic acid เป็นสารตั้งต้นร่วมกับ Glycine และ Succinyl-CoA (17) หรืออาจเป็นผลจากการเมแทบอลิซึมสารพวกโปรตีนหรือสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบทำให้เกิดสารที่มีสภาพเป็นด่างขึ้น เช่น แอมโมเนียมจึงส่งผลให้ค่า pH สูงขึ้น เช่นเดียวกับผลการทดลองของมาริสา (2537) ตามเอกสาร (4) ที่ pH เริ่มต้น 7.0 เพิ่มเป็น 7.7 เมื่อเลี้ยงภายใต้สภาวะไร้อากาศ-มีแสง (ความเข้มแสง 3000) เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

ผลการเจริญของเชื้อช่วยในการบำบัดน้ำเสีย (รูป 4 C) พบว่าเชื้อตามธรรมชาติที่มีมากับน้ำเสียสามารถลดค่า BOD ได้ 70% แต่ลดค่า COD ได้เพียง 50% ส่วนในน้ำเสียที่มีแต่เชื้อ R6 ลดค่า BOD และ COD ได้ใกล้เคียงกับน้ำเสียที่มีเชื้อผสมเติมคือประมาณ 90% ทั้ง BOD และ COD แสดงว่ากล้าเชื้อ R6 สามารถใช้สารที่ย่อยยากในน้ำเสียได้ขณะที่เชื้อตามธรรมชาติไม่สามารถย่อยได้ เพราะเชื้อตามธรรมชาติให้ผลต่อการลดค่า COD ได้น้อยกว่า BOD ถึง 20% ขณะที่การเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 โดยมาริสา (2537) ภายใต้สภาวะเหมาะสมในถังหมักในน้ำนึ่งปลาทูน่าเจือจางที่เติมยีสต์สกัด 3 กรัม/ลิตร ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-มีแสง (ความเข้มแสง 3000) เป็นเวลา 96 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องเช่นกัน เชื้อลดค่า COD ได้ 54% และเมื่อเลี้ยงแบบกึ่งกะลดค่า COD ได้ 66% ที่ 120 ชั่วโมง และได้เซลล์มีโปรตีน 56.70 % (4) สำหรับองค์ประกอบของเซลล์ R6 เลี้ยงภายใต้สภาวะที่กล่าวมาเซลล์มีโปรตีน 55.17 % แต่เซลล์ผสม (R6 และเชื้อธรรมชาติ) มีโปรตีน 66.67% (Table 9) เชื้อ R6 มีปริมาณโปรตีนต่ำอาจเป็นเพราะองค์ประกอบของน้ำเสียที่ใช้เลี้ยง โดยเมื่อเทียบกับ *Rhodocyclus gelatinosus* R1 ของ Ponsano *et al.* (2003) ที่เลี้ยงในน้ำเสีย

ปราศจากเชื้อจากโรงฆ่าสัตว์ปีก ซึ่งมีโปรตีนสูงถึง 62.80 % (13) แต่การเลี้ยง R6 ร่วมกับเชื้อธรรมชาติได้ปริมาณโปรตีนสูงกว่าซึ่งเป็นวิธีการที่ต้องการในทางปฏิบัติอยู่แล้วสำหรับการบำบัดน้ำเสียจากการแปรรูปน้ำยางพาราเป็นยางแผ่น และเซลล์ที่ได้มีศักยภาพที่จะนำไปทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์ได้ซึ่งควรมีการศึกษาต่อ ส่วนกรณีการนำไปใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพยังไม่ได้เริ่มต้นศึกษาในงานวิจัยนี้เพราะงบประมาณจำกัด

ตารางที่ 9 องค์ประกอบในเซลล์ของเชื้อ (R6) และเชื้อผสมเติม (R6 และเชื้อในธรรมชาติ) ในน้ำเสียที่มีการปรับสภาพภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย-มีแสงเมื่อบ่มเป็นเวลา 96 ชม

Composition (%)	Pure culture (R6)	Mixed culture (R6 + indigenous microbes)
Moisture	10	9.5
Crude protein	55.17	66.67
Total carbohydrate	32.76	23.32
Lipid	0	0.51
Ash	2.07	0

ผลการทดลองการปรับสภาพน้ำเสียโดยเติมแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมลงไปในน้ำเสียที่มีค่า COD ต่ำกว่า 10,000 mg/L ที่มีแหล่งคาร์บอนมากแต่ปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงพอเมื่อเทียบกับปริมาณของคาร์บอน ดันนั้นการเติมไนโตรเจนและเติมวิตามินที่จำเป็นสำหรับกล้าเชื้อทำให้เชื้อที่เติม รวมทั้งเชื้อในธรรมชาติเจริญได้เต็มที่ และที่สำคัญการเติมเชื้อ *Rhodopseudomonas* sp.R6 ปริมาณ 10% ของน้ำเสียสามารถแข่งขันและเจริญร่วมกับเชื้อธรรมชาติในการลดค่า BOD และ COD ได้ไม่แตกต่างกันกับสภาพทำให้น้ำเสียปราศจากเชื้อ แสดงถึงความเป็นไปได้ในการนำไปประยุกต์ใช้ในบ่อบำบัด และแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียให้ดีขึ้นคือการปรับสภาพ pH เริ่มต้นให้เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องศึกษาต่อไป และทอลองนำวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเช่นน้ำมะพร้าวหรือโมลาสในปริมาณต่ำมาทดแทนวิตามินที่เติม เพื่อความเป็นไปได้ในการนำไปเสนอต่อชุมชน ซึ่งเป็นความตั้งใจที่จะศึกษาต่อไป