

## สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	6
เอกสารอ้างอิง	7
บทที่ 1 การแยกเชื้อแบคทีเรียกลุ่มเปป้าหมาย	9
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	9
ผลการแยกและคัดเลือกเชื้อ	11
บทสรุป	16
เอกสารอ้างอิง	17
บทที่ 2 การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ	19
เชื้อกลุ่ม Denitrifiers	
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	19
ผลการแยกและคัดเลือกเชื้อ	20
บทสรุป	27
เอกสารอ้างอิง	28
บทที่ 3 การคัดเลือกและการลดซัลไฟด์โดย	29
Thiobacilli	
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	29
ผลการแยกและคัดเลือกเชื้อ	30
บทสรุป	42
เอกสารอ้างอิง	43
บทที่ 4 การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ	44
เชื้อที่คัดเลือกได้	
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	44
ผลการแยกและคัดเลือกเชื้อ	46
บทสรุป	56
เอกสารอ้างอิง	56

## สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 การเทียบเคียงเชื้อที่คัดเลือกได้และการหมัก	58
แก้สชีวภาพ	
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	58
ผลการแยกและคัดเลือกเชื้อ	61
บทสรุป	72
เอกสารอ้างอิง	73
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางเคมี	75
ภาคผนวก ข อาหารเลี้ยงเชื้อ	89
การนำเสนอผลงาน	94

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
บทที่ 1	
ตารางที่ 1 ลักษณะของน้ำเสียแยกตามแหล่งที่มา	11
ตารางที่ 2 จำนวนไอโซเลทของ <i>Thiobacillus</i> sp. ที่แยกได้จากสถานที่ต่างๆ	12
ตารางที่ 3 การเจริญของ <i>Thiobacillus</i> sp. ที่แยกได้ในอาหาร Sulfide medium	12
ตารางที่ 4 เชื้อ <i>Thiobacillus</i> sp. ที่ผ่านการคัดเลือกขั้นต้นในน้ำเสียจากโรงงานน้ำ ยางชั้น	14
ตารางที่ 5 การเจริญ (OD660) ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง PNSB ที่เจริญในน้ำ เสียของถัง UASB และ SRR ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-มีแสง และ สภาพมีอากาศ-ไร้แสงที่อายุ 5 วัน	15
ตารางที่ 6 ไอโซเลทที่มีความสามารถในการทำให้เกิดกระบวนการ Denitrification ได้ดีในอาหารไนเตรท (Nitrate broth)	16
บทที่ 2	
ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางชีวเคมีและสรีระวิทยาของ Denitrifiers ที่คัดเลือกได้	27
บทที่ 3	
ตารางที่ 1 คุณสมบัติของน้ำเสียจากถัง sulfate reduction reactor (SRR) และ up-flow anaerobic sludge blanket (UASB)	30
ตารางที่ 2 คุณสมบัติของน้ำทิ้งที่ออกจากถัง sulfate reduction reactor (SRR)	35
บทที่ 4	
ตารางที่ 1 การเจริญของเชื้อ T307 ในอาหารสูตร A ที่มี yeast extract ปริมาณ ต่างๆ กัน	49
ตารางที่ 2 ผลของพีเอชต่อการเจริญของเชื้อ T307 เมื่อทดสอบในอาหารสูตร A ที่มี yeast extract 0.1%	50
ตารางที่ 3 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อ T307 ในอาหารสูตร A ที่มี yeast extract 0.1%	50
ตารางที่ 4 ผลของความเร็วยวของการเขย่าต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอชในช่วง log phase ของไอโซเลท T307 เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียจากถัง SRR	52
บทที่ 5	
ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมี และสรีระวิทยาของเชื้อ ไอโซเลท T307	63
ตารางที่ 2 ผลการทดสอบทางชีวเคมีโดยใช้ชุดทดสอบ API 20E ของบริษัท Biomerieux	64

สารบัญตาราง (ต่อ)	หน้า
ตารางที่ 3 ผลการบำบัดซัลไฟด์ในน้ำเสียในสภาวะเชื้อเดี่ยว T307 และเชื้อผสม	65
ตารางที่ 4 การลดซัลไฟด์ของน้ำเสียในสภาวะเชื้อเดี่ยว (T307)	66
ตารางที่ 5 การลดซัลไฟด์ของน้ำเสียโดยใช้สารเคมี	66
ตารางที่ 6 การเปลี่ยนแปลงของซัลไฟด์ในรูปแบบต่างๆ และซัลเฟตในอาหาร ซัลไฟด์โดยเชื้อ T307	67
ตารางที่ 7 การเกิดแก๊สชีวภาพในอาหารซัลไฟด์ที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 และ ไม่ ผ่านการเลี้ยงเชื้อ	68
ตารางที่ 8 สัดส่วนของแก๊สต่างๆ ในแก๊สชีวภาพที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 และ ไม่ ผ่านการเลี้ยงเชื้อ	68
ตารางที่ 9 ปริมาณซัลไฟด์และซัลเฟต ค่าพีเอชหลังจากหมักแก๊สชีวภาพใน อาหารซัลไฟด์ไปได้ 5 วัน	70
ตารางที่ 10 การเปลี่ยนแปลงของซัลไฟด์ในรูปแบบต่างๆ และซัลเฟตในอาหาร ซัลไฟด์โดยเชื้อ T307 (ครั้งที่ 2)	71
ตารางที่ 11 การเกิดแก๊สชีวภาพในอาหารซัลไฟด์ที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 (ครั้งที่ 2)	71
ตารางที่ 12 สัดส่วนของแก๊สต่างๆ ในแก๊สชีวภาพที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ T307 และ ไม่ผ่านการเลี้ยง	72
ตารางที่ 13 ปริมาณซัลไฟด์และซัลเฟต ค่าพีเอชเมื่อเกิดแก๊สชีวภาพในอาหาร ซัลไฟด์เป็นเวลา 5 วัน (ครั้งที่ 2)	72

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
บทนำ	
รูปที่ 1 การแตกตัวของ CO <sub>2</sub> และ H <sub>2</sub> S โดยเป็นผลของ pH	6
บทที่ 2	
รูปที่ 1 ผลของพีเอชต่อการเจริญ และการเกิดกระบวนการ denitrification ของไอโซเลท D13 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	21
รูปที่ 2 ผลของพีเอชต่อการเจริญ และการเกิดกระบวนการ denitrification ของไอโซเลท D16 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	21
รูปที่ 3 ผลของพีเอชต่อการเจริญ และการเกิดกระบวนการ denitrification ของไอโซเลท D20 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	22
รูปที่ 4 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญและการเกิดกระบวนการ denitrification ของไอโซเลท D13 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	23
รูปที่ 5 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญและการเกิดกระบวนการ denitrification ของไอโซเลท D16 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	23
รูปที่ 6 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญและการเกิดกระบวนการ denitrification ของไอโซเลท D20 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	24
รูปที่ 7 การเจริญของ denitrifiers ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ	25
รูปที่ 8 การเปลี่ยนแปลงของพีเอชของ denitrifiers ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ	25
รูปที่ 9 การเปลี่ยนแปลงของอนุโมลไนโตรเจนของ denitrifiers ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ	26
บทที่ 3	
รูปที่ 1 การกำจัดซัลไฟด์ในน้ำเสียจากถัง SRR โดย thermotolerant thiobacilli เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน	31
รูปที่ 2 การกำจัดซัลไฟด์ในน้ำเสียจากถัง UASB โดย thermotolerant thiobacilli เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน	32
รูปที่ 3 การกำจัดซัลไฟด์ในน้ำเสียจากถัง SRR โดย mesophilic thiobacilli เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน	32
รูปที่ 4 การกำจัดซัลไฟด์ในน้ำเสียจากถัง UASB โดย mesophilic thiobacilli เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 10 วัน	33

รูปที่ 5	กิจกรรมการย่อยโปรตีนของ mesophilic thiobacilli	33
รูปที่ 6	กิจกรรมการย่อยโปรตีนของ thermotolerant thiobacilli	34
รูปที่ 7	การเจริญของ <i>Thiobacillus</i> sp. ที่ผ่านการคัดเลือกในน้ำทิ้งที่ออกจาก ถัง sulfate reduction reactor ซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อ และไม่มีการปรับ พีเอชเริ่มต้น	35
รูปที่ 8	การเปลี่ยนแปลงพีเอชของ <i>Thiobacillus</i> sp. ที่เจริญในน้ำทิ้งที่ออกจาก ถัง sulfate reduction reactor ซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อ และไม่มีการปรับ พีเอชเริ่มต้น	36
รูปที่ 9	การลดลงของ total sulfide โดย <i>Thiobacillus</i> sp. ที่เจริญในน้ำทิ้งซึ่ง ออกจากถัง sulfate reduction reactor ซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อ และไม่ มีการปรับพีเอชเริ่มต้น	36
รูปที่ 10	การเพิ่มขึ้นของ sulfate โดย <i>Thiobacillus</i> sp. ที่เจริญในน้ำทิ้งที่ออกจากถัง sulfate reaction reactor ซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อ และไม่มีการปรับพีเอชเริ่มต้น	37
รูปที่ 11	การเจริญของ <i>Thiobacillus</i> sp. (กล้าเชื้อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร TT) ที่ผ่านการคัดเลือกในน้ำทิ้งที่ออกจากถัง sulfate reduction reactor ซึ่ง ทำให้ปราศจากเชื้อ และไม่มีการปรับพีเอชเริ่มต้น	38
รูปที่ 12	การเปลี่ยนแปลงพีเอชของ <i>Thiobacillus</i> sp. (กล้าเชื้อเพาะเลี้ยงใน อาหารสูตร TT) ที่เจริญในน้ำทิ้งที่ออกจากถัง sulfate reduction reactor ซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อ และไม่มีการปรับพีเอชเริ่มต้น	38
รูปที่ 13	การลดลงของ total sulfide โดย <i>Thiobacillus</i> sp. (กล้าเชื้อเพาะเลี้ยง ในอาหารสูตร TT) ที่เจริญในน้ำทิ้งที่ออกจากถัง sulfate reduction reactor ซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อ และไม่มีการปรับพีเอชเริ่มต้น	39
รูปที่ 14	การเพิ่มขึ้นของ sulfate โดย <i>Thiobacillus</i> sp. (กล้าเชื้อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร TT) ที่เจริญในน้ำทิ้งที่ออกจากถังหมัก sulfate reduction reactor ซึ่งทำให้ ปราศจากเชื้อ และไม่มีการปรับพีเอชเริ่มต้น	39
รูปที่ 15	การเจริญของเชื้อ <i>Thiobacillus</i> T307 ที่เจริญในน้ำทิ้งที่ออกจากถัง sulfate reduction reactor ซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อ และมีการปรับพีเอชเริ่มต้น	40
รูปที่ 16	ปริมาณของซัลไฟด์ และซัลเฟตโดย <i>Thiobacillus</i> T307 ที่เจริญในน้ำทิ้งที่ออก จากถัง sulfate reduction reactor ซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อ และมีการปรับพีเอช เริ่มต้น	41

## สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 17 การเจริญของเชื้อ <i>Thiobacillus</i> TT502 ที่เจริญในน้ำทิ้งที่ออกจากถัง sulfate reduction reactor ซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อ และมีการปรับพีเอชเริ่มต้น	41
รูปที่ 18 ปริมาณของซัลไฟด์ และซัลเฟตโดย <i>Thiobacillus</i> TT502 ที่เจริญในน้ำทิ้งที่ออกจากถัง sulfate reduction reactor ซึ่งทำให้ปราศจากเชื้อ และมีการปรับพีเอชเริ่มต้น	42
<b>บทที่ 4</b>	
รูปที่ 1 การเจริญของเชื้อ T307 ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ	47
รูปที่ 2 การเจริญของเชื้อ TT502 ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ	48
รูปที่ 3 การเปลี่ยนแปลงพีเอชของเชื้อ T307 ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ	48
รูปที่ 4 การเปลี่ยนแปลงพีเอชของเชื้อ TT502 ที่เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ	49
รูปที่ 5 การเจริญของเชื้อ T307 ในน้ำเสียจากถัง SRR ที่มีการเติมสารอาหารและไม่เติม	51
รูปที่ 6 การลดปริมาณของซัลไฟด์ในน้ำเสียจากถัง SRR โดยเชื้อ T307 เมื่อเลี้ยงโดยมีการเขย่าต่างกัน	53
รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของซัลเฟตในน้ำเสียจากถัง SRR โดยเชื้อ T307 เมื่อเลี้ยงโดยมีการเขย่าต่างกัน	53
รูปที่ 8 การเจริญของเชื้อ T307 และพีเอชที่เปลี่ยนในน้ำเสียที่มีการปรับพีเอชภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ	54
รูปที่ 9 การลดซัลไฟด์ในน้ำเสียจากถัง SRR ของเชื้อ T307 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ	55
รูปที่ 10 การเพิ่มขึ้นของซัลเฟตในน้ำเสียจากถัง SRR โดยเชื้อ T307 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ	55
รูปที่ 11 การเปลี่ยนแปลงของค่า BOD และ COD ในน้ำเสียจากถัง SRR โดยเชื้อ T307 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ	56
<b>บทที่ 5</b>	
รูปที่ 1 การหมักแก๊สชีวภาพจากน้ำทิ้งที่ออกจากถัง SRR ที่ผ่านการกำจัดซัลไฟด์โดย T307	61
รูปที่ 2 รูปร่างเซลล์ไอโซเลท T307 เมื่อส่องดูด้วย SEM กำลังขยาย 10,000 เท่า โดยที่--- เท่ากับความยาว 1 $\mu\text{m}$	62
รูปที่ 3 การเกิดแก๊สชีวภาพจากอาหารที่มีการกำจัดซัลไฟด์โดยเชื้อ T307 ก่อนแล้วจึงนำมาหมักแก๊สชีวภาพ	69

## สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

BOD	=	Biochemical Oxygen Demand
COD	=	Chemical Oxygen Demand
DS	=	Dissolved Sulfide
LEL	=	Low Explosive Level
OD	=	Optical Density
PNSB	=	Purple Non-sulfur Photosynthetic Bacteria
ROW	=	Raw Optimized Wastewater
rpm	=	Revolution per minute
SOW	=	Sterile Optimized Wastewater
SRR	=	Sulfate Reduction Reactor
$t_d$	=	Doubling time
TKN	=	Total Kjeldahl Nitrogen
TS	=	Total Sulfide
UASB	=	Up-flow Anaerobic Sludge Blanket
UHS	=	Unionized Hydrogen Sulfide
$\mu$	=	Specific Growth Rate