



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การลดสีน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษโดยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองร่วมกับ
เชื้อราขาวสายพันธุ์ในประเทศไทย

Decolorization of Pulp and Paper Mill Effluent by the Combination of
Membrane Bioreactor (MBR) and White-rot Fungi in Thailand

โดย

ต่อพงศ์ กริธาชาติ และ ชาติ เจียมไชยศรี

สิงหาคม 2555

สัญญาเลขที่ MRG5180107

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การลดสีน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษโดยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองร่วมกับ
เชื้อราขาวสายพันธุ์ในประเทศไทย

Decolorization of Pulp and Paper Mill Effluent by the Combination of
Membrane Bioreactor (MBR) and White-rot Fungi in Thailand

โดย

ต่อพงศ์ กริธาชาติ
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม วิทยาลัยพลังงานและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยพะเยา
ชาติ เจียมไชยศรี
ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง “การลดสีน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษโดยถังปฏิกรณ์เชื้อกรองร่วมกับเชื้อราขาวสายพันธุ์ในประเทศไทย” ได้รับการสนับสนุนจากทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ประจำปี 2551 จากสำนักงานสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างสูงสำหรับรองศาสตราจารย์ ดร.ชาติ เจียมไชยศรี ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับคำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย ดร.พิลาณี ไวยถนอมสัตย์ หน่วยวิจัยเทคโนโลยีเอนไซม์และการจัดการของเสียอันตราย สถาบันวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับความอนุเคราะห์เชื้อราขาวและอุปกรณ์ต่างๆ ในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ และ วิทยาลัยพลังงานและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยพะเยา ที่ให้ความสะดวกทั้งหมด

Project Code: MRG5180107

Project Title: Decolorization of Pulp and Paper Mill Effluent by the Combination of
Membrane Bioreactor (MBR) and White-rot Fungi in Thailand

Abstract

This study focused on a white-rot fungus in Thailand (*Lentinus strigosus*) producing a ligninolytic enzyme, in a simple medium indicated the production of laccase (Lac), manganese peroxidase (MnP) and lignin peroxidase (LiP) in the secondary growth phase. Samples were collected periodically for the measurement of COD, color, Lac, MnP and LiP activity. Preliminary study showed cellobiose and L-asparagine as the suitable nutrient sources for highest Lac and MnP production. The highest Lac activity (6947.26 unit/L) and MnP activity (409.49 unit/L) was detected under optimal conditions. For the experimental of pulp and paper mill effluents (initial COD and color approximate 210 ± 10.5 mg/L and 500 ± 20.0 unit, respectively) in Membrane bioreactor (MBR) with white-rot fungus, *Lentinus strigosus* efficiently performed more than 80% COD treatment efficiency and 85% decolorization, respectively. Therefore, the result indicated that *Lentinus strigosus* was able clearly, to breakdown the lignin and its derivatives in pulp and paper mill effluents and the Lac and MnP activities were considered as a major lignin-degradation enzyme in reaction.

รหัสโครงการ: MRG5180107

ชื่อโครงการ: การลดสีน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษโดยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองร่วมกับเชื้อราขาว
สายพันธุ์ในประเทศไทย

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้ มุ่งเน้นที่จะศึกษาพฤติกรรมการผลิตเอนไซม์สำหรับย่อยสลายลิกนินจากเชื้อราขาวสายพันธุ์ในประเทศไทย (เน้นเชื้อราขาวสายพันธุ์ *Lentinus strigosus*) โดยเอนไซม์ที่สนใจและทำการศึกษาในช่วงการเจริญเติบโตแบบทุติยภูมิของเชื้อราขาว *Lentinus strigosus* ได้แก่ เอนไซม์แลคเคส (Lac) เอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (MnP) และเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (LiP) ซึ่งในการศึกษาจะเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษเพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการบำบัดของเชื้อราขาวมาวิเคราะห์ปริมาณซีโอดี และกิจกรรมของเอนไซม์ Lac MnP และ LiP จากผลการศึกษา พบว่า แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยสลายลิกนินในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษได้สูงสุด คือ น้ำตาลเซลโลไบโอส และ L-Asparagine ตามลำดับ ซึ่งเมื่อใช้สารดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน เชื้อรา *Lentinus strigosus* จะผลิตเอนไซม์ Lac และ MnP ได้สูงสุดเท่ากับ 6947.3 หน่วยต่อลิตร และ 409.49 หน่วยต่อลิตร ตามลำดับ และในสภาวะดังกล่าวไม่พบการผลิต LiP นอกจากนี้เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษ (ซีโอดีเริ่มต้น 210 ± 10.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณซีเริ่มต้น 500 ± 20.0 หน่วย) โดยเชื้อราขาว *Lentinus strigosus* ภายในถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง พบว่า ระบบดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการบำบัดสารอินทรีย์ในรูปซีโอดีและซีได้มากกว่าร้อยละ 80.0 และ 85.0 ตามลำดับ ดังนั้น จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเชื้อราขาว *Lentinus strigosus* สามารถที่จะผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยสลายลิกนินและอนุพันธ์ของลิกนินที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สารบัญ

หน้า

หน้าปก

กิตติกรรมประกาศ

Abstract

บทคัดย่อ

สารบัญ

สารบัญรูป

สารบัญตาราง

บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม	3
น้ำเสียและลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษ	3
เชื้อราขาวและการย่อยสลายลิกนินด้วยเชื้อราขาว	5
เอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน	10
ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินของเชื้อราขาว	13
การคัดแยกสายพันธุ์เชื้อราขาว	16
การบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง	19
ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของเมมเบรนภายในถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง	22
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	25
บทที่ 4 ผลและอภิปรายผลการวิจัย	32
การศึกษาชนิดของธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน	32
ของเชื้อราขาวสายพันธุ์ <i>L. strigosus</i>	
การศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์	40
ย่อยสลายลิกนินของ <i>L. strigosus</i>	
การทดสอบการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนลิกนินโดยเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน	45
ของ <i>L. strigosus</i>	

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 (ต่อ)	
การศึกษาการบำบัดสีจากน้ำทิ้งอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษของเชื้อราขาว	46
<i>L. strigosus</i> ภายในถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง	
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	52
บทที่ 6 เอกสารอ้างอิง	54

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 โครมาโทแกรมขององค์ประกอบที่พบในน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษ	5
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของโมเลกุลลิกนิน	6
รูปที่ 2.3 กลไกการทำงานของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส	11
รูปที่ 2.4 กลไกการทำงานของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส	12
รูปที่ 2.5 กลไกการทำงานของเอนไซม์แลคเคสเมื่อออกซิไดซ์สับสเตรตประเภทฟีนอลิก	13
รูปที่ 2.6 ขั้นตอนการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราขาว	17
รูปที่ 2.7 ลักษณะดอกเห็ดของ <i>L. strigosus</i>	18
รูปที่ 2.8 ประเภทของเมมเบรนที่มีการใช้งาน (a) เมมเบรนชนิด Submersed/Immersed MBR และ (b) เมมเบรนชนิด Side Stream MBR	20
รูปที่ 2.9 ตำแหน่งการติดตั้งเยื่อกรอง (a) ติดตั้งภายใน และ (b) ติดตั้งภายนอกถังปฏิกรณ์	23
รูปที่ 2.10 หลักการทำงานของถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง	24
รูปที่ 3.1 ผังการทำงานของระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองที่ใช้ในการทดลอง	30
รูปที่ 3.2 แผนผังขั้นตอนการทดลองในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง	31
รูปที่ 4.1 การเจริญของ <i>L. strigosus</i> หรือเห็ด पैก ในระยะสร้างเส้นใยบนอาหาร PDA ที่เวลา 5 วัน	32
รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งและกิจกรรมเอนไซม์แลคเคสของ <i>L. strigosus</i>	33
รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งและกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสของ <i>L. strigosus</i>	34
รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (ยูนิต/ลิตร) ที่ผลิตโดย <i>L. strigosus</i> เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MM และระยะเวลา (วัน) ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน	35
รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (ยูนิต/ลิตร) ที่ผลิตโดย <i>L. strigosus</i> เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MM และระยะเวลา (วัน) ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน	37
รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (ยูนิต/ลิตร) ที่ผลิตโดย <i>L. strigosus</i> เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MM และระยะเวลา (วัน) ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างชนิดกัน	38

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (ยูนิต/ลิตร) ที่ผลิตโดย <i>L. strigosus</i> เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MM และระยะเวลา (วัน) ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่างชนิดกัน	39
รูปที่ 4.8 การกำจัดสีจากลิคินินโดย <i>L. strigosus</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MM โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการกำจัดสี กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส และกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส	45
รูปที่ 4.9 ลักษณะของน้ำเสียก่อน (a) และหลังการบำบัด (b) ด้วยเชื้อราขาว <i>L. strigosus</i> ภายในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองที่ใช้เมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 0.4 ไมครอน	48
รูปที่ 4.10 ผลของความดันคร่อมเมมเบรน (TMP) ที่ SRT แตกต่างกัน	49

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1	คุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษและมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งของกรมโรงงานอุตสาหกรรม
ตารางที่ 2.2	ชนิดของเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินที่พบในเชื้อราขาว
ตารางที่ 3.1	ปัจจัยและระดับของปัจจัยที่กำหนด
ตารางที่ 4.1	orthogonal array แบบ $L_9 (3^4)$
ตารางที่ 4.2	กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสของ <i>L. strigosus</i> ในวันที่ 12 ของการทดลองภายใต้องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกันตามการทดลองโดยวิธีทาคุชิ
ตารางที่ 4.3	กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสของ <i>L. strigosus</i> ในวันที่ 12 ของการทดลองภายใต้องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกันตามการทดลองโดยวิธีทาคุชิ
ตารางที่ 4.4	ค่าอิทธิพลเฉลี่ยที่ได้จากการผลิตเอนไซม์แลคเคสของ <i>L. strigosus</i> เมื่อแปรผันปัจจัยที่ระดับต่าง ๆ ของแต่ละการทดลอง
ตารางที่ 4.5	ค่าอิทธิพลเฉลี่ยที่ได้จากการผลิตเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ของ <i>L. strigosus</i> เมื่อแปรผันปัจจัยที่ระดับต่าง ๆ ของแต่ละการทดลอง
ตารางที่ 4.6	ประสิทธิภาพในการบำบัดสีและสารอินทรีย์เมื่อทำการควบคุมระบบที่ SRT ต่างๆ
ตารางที่ 4.7	ความถี่ในการทำความสะดวกเมมเบรนที่ SRT แตกต่างกัน

บทที่ 1

บทนำ

กระบวนการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมในปัจจุบัน มุ่งเน้นที่จะกำจัดสารอินทรีย์ที่ละลายอยู่ในน้ำทิ้งในรูปของค่าบีโอดี แต่สำหรับน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษปัญหาในด้านสีของน้ำทิ้งที่มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้มแม้ว่าจะผ่านการบำบัดโดยกระบวนการบำบัดน้ำเสียแล้วก็ตาม ยังคงเป็นปัญหาสำคัญและควรที่จะได้รับการปรับปรุงระบบบำบัดน้ำเสียให้มีประสิทธิภาพ สามารถลดความเข้มสีของน้ำทิ้งก่อนปล่อยออกสู่แหล่งรองรับน้ำทิ้งตามธรรมชาติ

สาเหตุสำคัญที่ทำให้สีของน้ำทิ้งของอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษมีสีน้ำตาลเข้ม คือ สารประกอบลิกนิน (Lignin compound) และอนุพันธ์ของลิกนิน (Lignin derivative compound) ที่ปนเปื้อนในน้ำทิ้ง โดยสารประกอบดังกล่าวจัดเป็นสารโมเลกุลใหญ่ มีโครงสร้างไม่แน่นอน ย่อยสลายทางชีวภาพได้ยาก และส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม ประกอบกับในปัจจุบันมีการส่งเสริมการประยุกต์ใช้กระบวนการทางชีวภาพร่วมกับกระบวนการบำบัดน้ำเสีย เนื่องจากเป็นเทคโนโลยีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและไม่ก่อให้เกิดสารเคมีตกค้างในระบบสิ่งแวดล้อม อีกทั้งประเทศไทยยังคงมีทรัพยากรทางธรรมชาติที่อุดมสมบูรณ์และมีความหลากหลายทางชีวภาพ เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการศึกษาวิธีการบำบัดสารประกอบลิกนิน และสารที่มีโครงสร้างคล้ายลิกนิน เช่น สีย้อม ทางชีวภาพอย่างกว้างขวาง งานวิจัยส่วนมากรายงานว่าจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรีย (Banat *et al.*, 1996) สาหร่าย (Mohan *et al.*, 2002) และรา (Wesenberg *et al.*, 2003) มีประสิทธิภาพในการบำบัดสีย้อมได้แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์เพียงกลุ่มเดียวที่มีรายงานว่ามีความมีประสิทธิภาพสูงในการบำบัด มีความทนทานต่อความเป็นพิษได้มากกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น ๆ และไม่ก่อให้เกิดสารพิษตกค้าง ได้แก่ รากลุ่มไวด์รอต (White Rot Fungi; WRF) ซึ่งสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน (Ligninolytic enzyme) ได้ เอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายสารประกอบลิกนินและสารที่มีโครงสร้างคล้ายลิกนิน ราไวด์รอตที่มีรายงานว่ามีความมีประสิทธิภาพในการบำบัด เช่น *Phanerochaete chrysosporium* (Moldes *et al.*, 2003; Radha *et al.*, 2005) *Trametes versicolor* (Swamy and Ramsay, 1999; Borchert and Libra, 2001) *Pleurotus ostreatus* (Novotny *et al.*, 2001; Palmieri *et al.*, 2005) *Ganoderma* sp. (Revankar and Lele, 2006) และ *Lentinus edodes* (Boer *et al.*, 2004) เป็นต้น

งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่ใช้ประโยชน์จากเชื้อราขาวโดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทย และมีความสามารถสูงในการย่อยสลายลิกนินและอนุพันธุ์ของลิกนิน แต่เนื่องจากข้อจำกัดต่างๆ ของกระบวนการทางชีวภาพอาจมีขีดจำกัดต่อประสิทธิภาพของระบบบำบัดจึงพิจารณากระบวนการบำบัดที่สามารถประยุกต์ใช้งานกับกระบวนการบำบัดแบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองซึ่งเป็นเทคโนโลยีการบำบัดน้ำเสียที่มีประสิทธิภาพการบำบัดสูง

ดังนั้นวัตถุประสงค์หลักของงานวิจัยครั้งนี้ คือ การพัฒนากระบวนการบำบัดน้ำเสียขั้นสูงร่วมกับการใช้เทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อประยุกต์ใช้สำหรับการบำบัดน้ำทิ้งที่เกิดขึ้นจากอุตสาหกรรมการผลิตเยื่อและกระดาษ โดยมุ่งเน้นทำการศึกษาวิจัยเพื่อ (1) หาชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อราขาวภายในประเทศไทย ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายลิกนินและอนุพันธุ์ของลิกนินที่ปนเปื้อนกับน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตเยื่อและกระดาษ ตลอดจนหาประสิทธิภาพในการกำจัดลิกนินของเชื้อราขาวสายพันธุ์ดังกล่าว และ (2) เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมต่างๆ สำหรับการประยุกต์ใช้ระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองร่วมกับเชื้อราขาวในการบำบัดน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษ

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม

1. น้ำเสียและลักษณะสมบัติของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษ

Thompson และคณะ (2001) ทำการศึกษาการบำบัดน้ำเสียที่เกิดขึ้นจากอุตสาหกรรมการผลิตเยื่อและกระดาษ พบว่า อุตสาหกรรมดังกล่าวเป็นอุตสาหกรรมที่ใช้น้ำในกระบวนการผลิตจำนวนมากขึ้นอยู่กับชนิดของกระดาษที่ผลิตและวัตถุดิบที่ใช้ในกระบวนการ จึงส่งผลให้ปริมาณน้ำเสียที่เกิดขึ้นมีปริมาณมากตามไปด้วย นอกจากนั้นน้ำเสียที่เกิดขึ้นยังมีความสกปรกในรูปของของแข็งแขวนลอย (SS) บีโอดี (BOD) ค่าความเป็นพิษ (Toxicity) สี (Color) และสารอาหารต่างๆ (Nutrients) ในปริมาณที่สูงอีกด้วย

กระบวนการบำบัดน้ำเสียที่นิยมใช้ทั่วไปในภาคอุตสาหกรรมภายในประเทศไทย ได้แก่ กระบวนการตะกอนเร่ง (Activated sludge) โดยประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวสามารถที่จะบำบัดน้ำทิ้งให้คุณภาพน้ำทิ้งหลังจากการบำบัดมีค่าความสกปรกในรูปของค่าบีโอดีต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งของกรมโรงงานอุตสาหกรรมได้ ($< 20 \text{ mg/L}$) (Kreetachat T. และคณะ, 2006) ตารางที่ 2.1 แสดงการเปรียบเทียบคุณภาพน้ำทิ้งเฉลี่ยของโรงงานอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษในประเทศไทยและมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งของกรมโรงงานอุตสาหกรรม

ตารางที่ 2.1 คุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษและมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งของกรมโรงงานอุตสาหกรรม

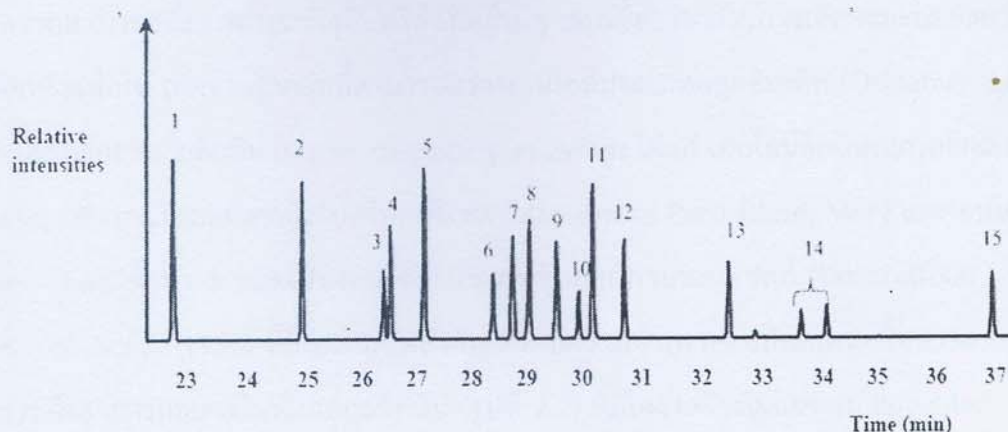
พารามิเตอร์	น้ำเสียก่อนบำบัด ⁽¹⁾	น้ำทิ้งภายหลังการบำบัด ⁽¹⁾	มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้ง ⁽²⁾
pH	7.5 ± 0.5	7.4 ± 0.5	
BOD, มิลลิกรัมต่อลิตร	550 ± 50	25 ± 5	
COD, มิลลิกรัมต่อลิตร	$2,000 \pm 100$	210 ± 10	
อัตราส่วน BOD/COD	0.27 ± 0.01	0.12 ± 0.02	ไม่กำหนด
TOC, มิลลิกรัมต่อลิตร	650 ± 50	50 ± 5	ไม่กำหนด
สี, ADML unit	$1,000 \pm 100$	300 ± 50	ไม่กำหนด

⁽¹⁾ อ้างอิงจาก Kreetachat T. และคณะ (2007)

⁽²⁾ มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งของกรมโรงงานอุตสาหกรรม พ.ศ. xxxx

จากรายงานการศึกษาของ Lacorte และคณะ (2003) พบว่า องค์ประกอบต่างๆ ที่พบในน้ำเสียและน้ำทิ้งหลังจากการบำบัดด้วยกระบวนการบำบัดน้ำเสียของอุตสาหกรรมการผลิตเยื่อและกระดาษสามารถแยกได้เป็น 3 ประเภท คือ (1) สารอินทรีย์ทางธรรมชาติ (2) สารเติมแต่งที่ใช้ในการผลิตกระดาษ เช่น สารลดความตึงผิว สารเพิ่มความสว่างให้กระดาษ สารประกอบเคมีต่างๆ และ (3) สารเคมีที่ใช้ในการฟอกขาว ซึ่งในการวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ จะใช้วิธีการสกัดโดย Liquid-liquid extraction (LLE) และ solid phase extraction (SPE) จากนั้นนำสารที่สกัดได้มาวิเคราะห์หาองค์ประกอบโดยวิธี Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) โครมาโทแกรมที่วิเคราะห์ได้แสดงดังรูปที่ 2.1 จากโครมาโทแกรมดังกล่าวทำให้สามารถระบุชนิดองค์ประกอบที่พบว่าเป็นองค์ประกอบด้วยสารอินทรีย์ทางธรรมชาติที่มีลักษณะโครงสร้างซึ่งแตกต่างจากกลินินและอนุพันธ์ของกลินินปนเปื้อนกับน้ำทิ้ง

นอกจากนั้น ในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษหลังจากผ่านการบำบัดโดยกระบวนการไร้อากาศตามด้วยกระบวนการใช้อากาศยังวิเคราะห์พบสารประกอบกลุ่มวงแหวน (Aromatic compounds) อีกด้วย โดย Hernández และคณะ (1997) ตรวจพบสารกลุ่มวงแหวน ได้แก่ 1,2-benzenedicarboxylic acid, trimethylsilyl-benzoic acid, 2-trimethylsilyl benzoic acid, trimethylsilyl-*o*-hydroxyphenyl acetic acid, 4-hydroxybenzoic acid, 2,4-bis trimethylsilyl-*o*-benzoic acid, 4-bis trimethylsilyl-*o*-benzenepropanoic acid, 4-hydroxybenzeneacetic acid, vanillic acid, syringic acid, and *p*-coumaric acid ซึ่งสารดังกล่าวมีลักษณะโครงสร้างโมเลกุลใกล้เคียงกับโครงสร้างโมเลกุลพื้นฐานของกลินินในเนื้อไม้ ได้แก่ กลุ่ม *p*-hydroxyphenyl กลุ่ม guaiacyl และ กลุ่ม syringyl โดยผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำทิ้งของอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษในประเทศไทยโดย Kreetachat T. และคณะ (2007)



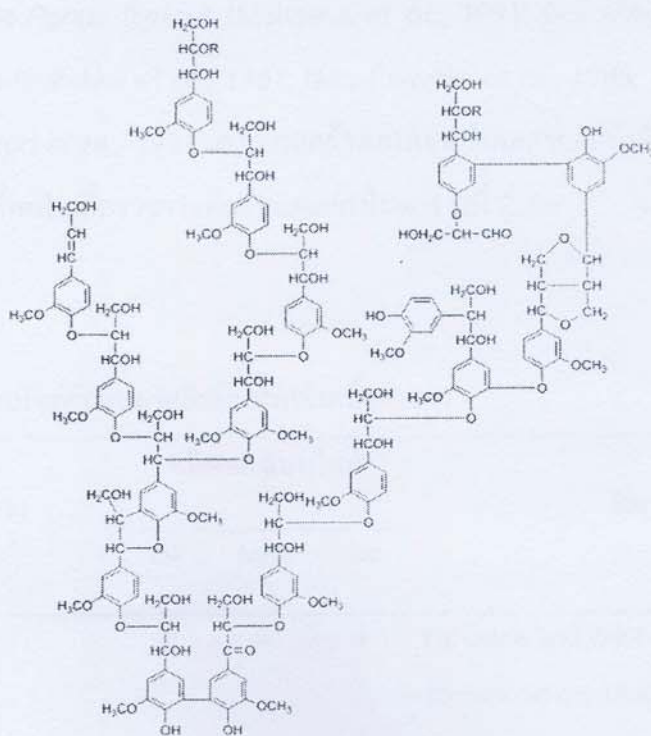
รูปที่ 2.1 โครมาโทแกรมขององค์ประกอบที่พบในน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมเยื่อและกระดาษ;

(1) palmitic acid, (2) margaric acid, (3) linoleic acid, (4) oleic acid, (5) stearic acid, (6) pimaric acid, (7) sandarocopimaric acid, (8) isopimaric acid, (9) palustric acid, (10) levopimaric acid, (11) dehydroabietic acid, (12) abietic acid, (13) neoabietic acid, (14) chlorodehydroabietic acid, and (15) dichlorodehydroabietic acid (Lacorte และคณะ, 2003)

2. เชื้อราขาวและการย่อยสลายลิกนินด้วยเชื้อราขาว

เชื้อราขาวเป็นราในคลาสเบซิดิโอไมซีท (Basidiomycetes) ที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยเชื้อราขาวสามารถเจริญเติบโตบนเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue) หรือไม้ที่ตายแล้ว (Dead tree) โดยใช้เซลลูโลส (Cellulose) และลิกนิน (Lignin) ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในพืชเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตจนพัฒนาเป็นดอกเห็ด (Fruiting body) (Madhavi and Lele, 2006) ความสามารถในการย่อยสลายทั้งเซลลูโลสและลิกนินของราไวต์รอฟมีความสำคัญต่อการหมุนเวียนของคาร์บอนในวัฏจักรคาร์บอน (Carbon cycle) เป็นอย่างมาก เนื่องจากเซลลูโลสและลิกนินเป็นชีวมวล (Biomass) ที่มีปริมาณมากเป็นอันดับหนึ่งและสองในธรรมชาติ (Biosphere) อีกทั้งลิกนินจัดเป็นโมเลกุลอะโรมาติกขนาดใหญ่ (Aromatic macromolecule) ที่มีความซับซ้อนสูง จึงทนทานต่อการย่อยสลายโดยเอนไซม์ประเภทไฮโดรไลติก (Hydrolytic enzyme) ของจุลินทรีย์โดยทั่วไป (Ralph and Catcheside, 2002) นอกจากนี้เชื้อราขาวยังเป็นจุลินทรีย์เพียงกลุ่มเดียวที่มีรายงานว่าสามารถเลือก (Selectively) และย่อยสลายลิกนินในธรรมชาติได้อย่างสมบูรณ์จนเกิดผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และน้ำ (H_2O) (Kirk and Farrell, 1987)

ความสามารถที่แตกต่างจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ของเชื้อราขาวในการเลือกและย่อยสลายลิกนินในเนื้อเยื่อพืชหรือเนื้อไม้ เกิดจากรากลุ่มนี้สามารถสร้างเอนไซม์ประเภทออกซิเดทีฟ (Oxidative enzyme) ที่เรียกว่าเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน (Lignin degrading enzyme) ได้แก่ เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (Lignin Peroxidase; LiP) เอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (Manganese Peroxidase; MnP) และเอนไซม์แลคเคส (Laccase; Lac) ซึ่งทั้ง 3 ชนิดเป็นเอนไซม์ประเภทขับออกภายนอกเซลล์ (Extracellular enzyme) (Eriksson *et al.*, 1990) ที่มีคุณสมบัติสำคัญ คือ มีความจำเพาะต่อสับสเตรตต่ำ (Low substrate specificity) จึงสามารถออกซิไดซ์โมเลกุลลิกนิน (รูปที่ 2.2) ที่มีโครงสร้างไม่แน่นอน (Irregular structure) และมีพันธะที่ต่างกันในโมเลกุลอย่างน้อย 12 ชนิด เช่น พันธะคาร์บอน-คาร์บอน (Carbon - carbon bond) พันธะเอริล-อีเทอร์ (Aryl - ether bond) เป็นต้นได้ (Ward *et al.*, 2004) โดยการเปลี่ยนแปลงภายในโมเลกุลลิกนินที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน เช่น การแยกของโซ่ข้างโพรพานอยด์ (Propanoid side chain cleavage) ดีเมทิลเลชัน (Demethylation) และการแยกของวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring cleavage) เป็นต้น



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของโมเลกุลลิกนิน

ที่มา: Adler (1977)

ในกระบวนการย่อยสลายลิกนินโดยเชื้อราขาว นอกจากเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินจะทำหน้าที่เป็นเอนไซม์หลักแล้ว ยังมีเอนไซม์สนับสนุน (Auxiliary enzyme) ชนิดอื่น ๆ เช่น ไกลออกซอล ออกซิเดส (Glyoxal oxidase; GLOX) เอริล แอลกอฮอล์ ออกซิเดส (Aryl alcohol oxidase; AAO) ที่มีความสำคัญต่อกระบวนการย่อยสลายลิกนินด้วยเช่นกัน โดยเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดจะทำหน้าที่ผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่เป็นสับสเตรตร่วม (Co - substrate) ของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสและเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส เป็นต้น ผลจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์เหล่านี้ทำให้กระบวนการย่อยสลายลิกนินเกิดขึ้นได้ (Wesenberg *et al.*, 2003)

โดยทั่วไปแล้วเชื้อราขาวจะเมตาบอไลซ์ลิกนินในสภาวะที่มีแหล่งพลังงานอื่น ๆ เช่น เซลลูโลสหรือเฮมิเซลลูโลสร่วมอยู่ด้วย เนื่องจากการเมตาบอไลซ์ลิกนินเพียงอย่างเดียวจะไม่ให้พลังงานแก่เชื้อราขาวดังนั้นกลไกการย่อยสลายลิกนินในธรรมชาติจึงจัดเป็นกลไกแบบเมตาบอลิซึมร่วม (Co - metabolism) โดยเชื้อราขาวส่วนใหญ่จะเมตาบอไลซ์ลิกนินในช่วงเมตาบอไลซ์ทุติยภูมิ (Secondary metabolism) ซึ่งถูกกระตุ้นโดยสภาวะสารอาหารที่จำกัด (Nutrient limitation) (Wesenberg *et al.*, 2003) นอกจากนี้งานวิจัยส่วนใหญ่รายงานว่าเชื้อราขาวแต่ละชนิดจะสร้างเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินได้เพียง 1-2 ชนิด เช่น *Ganoderma lucidum* (Orth *et al.*, 1993) และ *Panus tigrinus* (Maltseva *et al.*, 1991; Golovleva *et al.*, 1993) เป็นต้น ขณะที่ *Phlebia radiata* (Hatakka *et al.*, 1987; Niku-Paavola *et al.*, 1988; Vares *et al.*, 1994) และ *Trametes hirsuta* (Nerud *et al.*, 1991) สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินได้ทั้ง 3 ชนิด โดยชนิดของเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินที่พบในเชื้อราขาวแต่ละชนิดแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ชนิดของเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินที่พบในเชื้อราขาว

ชนิดของเชื้อราขาว	ชนิดของเอนไซม์			ที่มา
	LiP	MnP	Lac	
<i>Trametes versicolor</i>	+	+	+	Fahraeus and Reinhammar, 1967; Jonsson <i>et al.</i> , 1968; Dodson <i>et al.</i> , 1987; Johansson and Nyman, 1987; Waldner, 1987; Waldner <i>et al.</i> , 1988; Johansson, 1993

<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	+	+	+	Glenn <i>et al.</i> , 1983; Tien and Kirk, 1983; Leisola <i>et al.</i> , 1987
<i>Phlebia radiata</i>	+	+	+	Hatakka <i>et al.</i> , 1987; Niku-Paavola <i>et al.</i> , 1988; Vares <i>et al.</i> , 1994
<i>Pleurotus ostreatus</i>	+	+	+	Waldner <i>et al.</i> , 1988; Sannia <i>et al.</i> , 1991; Beckeret <i>et al.</i> , 1993
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	+	+	+	Fukuzumi, 1987; Bourbonnais and Paice, 1989; Boyle <i>et al.</i> , 1992
<i>Trametes hirsuta</i>	+	+	+	Nerud <i>et al.</i> , 1991
<i>Ceriporiopsis subvermispora</i>	-	+	+	Ruttimann <i>et al.</i> , 1992; Lobos <i>et al.</i> , 1994
<i>Ganoderma lucidum</i>		+	+	Orth <i>et al.</i> , 1993
<i>Panus tigrinus</i>		+	+	Maltseva <i>et al.</i> , 1991; Golovleva <i>et al.</i> , 1993
<i>Lentinula edodes</i>	-	+	+	Leatham and Stahmann, 1981; Leatham, 1986; Forrester <i>et al.</i> , 1990; Orth <i>et al.</i> , 1993
<i>Rigidoporus lignosus</i>	-			Geiger <i>et al.</i> , 1986; Galliano <i>et al.</i> , 1991
<i>Stereum hirsutum</i>		+	+	Jong <i>et al.</i> , 1992
<i>Coriolus pruinoseus</i>	+	+		Waldner, 1987; Waldner <i>et al.</i> , 1988
<i>Oudemansiella radiata</i>	+		+	Huttermann <i>et al.</i> , 1989
<i>Pleurotus florida</i>	+		+	Huttermann <i>et al.</i> , 1989
<i>Polyporus platensis</i>	+		+	Huttermann <i>et al.</i> , 1989
<i>Ustulina deusta</i>	+		+	Huttermann <i>et al.</i> , 1989

<i>Bjerkandera adusta</i>	+	-	Waldner, 1987; Hüttermann et al., 1989; Muheim et al., 1990; Muheim, 1991
<i>Daedaleopsis confragosa</i>	+		Huttermann et al., 1989
<i>Phallus impudicus</i>	+		Huttermann et al., 1989
<i>Abortiporus biennis</i>		+	Nerud and Misurcova, 1996
<i>Agaricus bisporus</i>		+	Wood, 1980; Sermanni et al., 1982; Matcham and Wood, 1992; Perry et al., 1993; Ratcliffe et al., 1994
<i>Agaricus brunnescens</i>		+	Fagan and Fergus, 1984
<i>Aspergillus nidulans</i>		+	Law and Timberlake, 1980; Kurtz and Champe, 1982; Aramayo and Timberlake, 1990
<i>Botryosphaeria sp.</i>		+	Barbousa et al., 1996
<i>Cerrena maxima</i>		+	Gindilis et al., 1990
<i>Cerrena unicolor</i>		+	Zakariashvili and Elisashvili, 1993; Gianfreda et al., 1998
<i>Chaetomium thermophila</i>		+	Ishigami et al., 1988
<i>Coriolus verileureus</i>		+	Zhou et al., 1993
<i>Cryphonectria parasitica</i>		+	Rigling and Alfen, 1993; Slomozynski et al., 1995
<i>Daedalea flavida</i>		+	Arora and Sandhu, 1985
<i>Flammulina velutipes</i>		+	Lee and Suh, 1985
<i>Fomes annosus</i>		+	Kaufmann and Wellendorf, 1980; Bollag and Leonowicz, 1984

<i>Grifola frondosa</i>	+	Xing et al., 2006
<i>Inonus hispidus</i>	+	Nerud and Misurcova, 1996
<i>Phellinus noxius</i>	+	Geiger et al., 1986
<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	+	Nerud et al., 1991
<i>Trametes sanguinea</i>	+	Nishizawa et al., 1995
<i>Perenniporia medulla-panis</i>	+	Orth et al., 1993
<i>Trametes cingulata</i>	+	Orth et al., 1993
<i>Phanerochaete sordida</i>	+	Ruttimann et al., 1994

หมายเหตุ + คือ มีรายงานว่าผลิตเอนไซม์ชนิดดังกล่าว
 - คือ มีรายงานว่าไม่ผลิตเอนไซม์ชนิดดังกล่าว
 คือ ไม่มีรายงานการศึกษากการผลิตเอนไซม์ดังกล่าว

LiP คือ เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส

MnP คือ เอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส

Lac คือ เอนไซม์แลคเคส

ที่มา: ดัดแปลงจาก Teerapatsakul (2007)

3. เอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน (Lignin degrading enzyme)

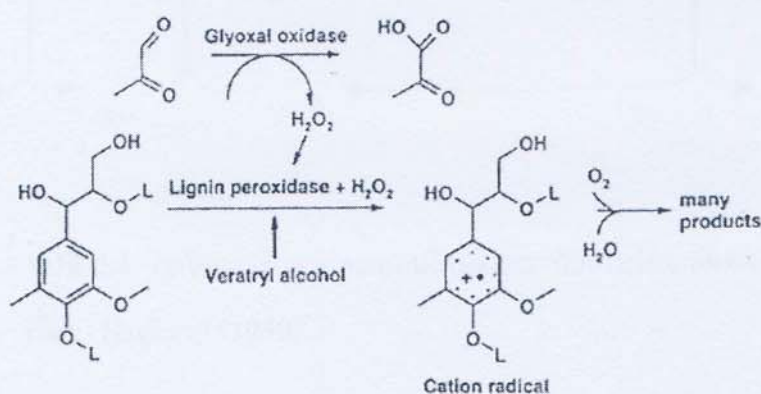
เอนไซม์หลักในกระบวนการย่อยสลายลิกนิน ได้แก่ เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (Lignin Peroxidase) เอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (Manganese Peroxidase) และเอนไซม์แลคเคส (Laccase)

3.1 เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (E.C. 1.11.1.14)

เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสถูกค้นพบครั้งแรกใน *Phanerochaete chrysosporium* (Glenn, 1983; Tien and Kirk, 1984) โดยเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสเป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ที่มีฮีม (Heme) เป็นองค์ประกอบและมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นสับสเตรตร่วม (Co - substrate) เช่นเดียวกับเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสโดยทั่วไป ซึ่งคุณสมบัติที่สำคัญของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส คือ มีความสามารถในการออกซิไดซ์สูง (High redox potential) และมีค่า pH ที่เหมาะสม (Optimum) ในการทำงานต่ำ (Gold and Alic, 1993) โดยเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสสามารถออกซิไดซ์สารประกอบ

ประเภทฟีนอลิก (Phenolic compound) จนเกิดผลิตภัณฑ์เป็นอนุมูลฟีนอกซี (Phenoxy radical) ที่ไม่เสถียร และเนื่องจากเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสมีความสามารถในการออกซิไดซ์สูง ทำให้สามารถออกซิไดซ์สารประกอบประเภทที่ไม่ใช่อะโรมาติกฟีนอล (Nonphenolic aromatic compound) เช่น ส่วนที่ไม่ใช่ฟีนอลิกของฟีนีลโพรพานอยด์ (Nonphenolic phenylpropanoid unit) ในลิกนิน เป็นต้น ซึ่งโดยปกติแล้วจะไม่ถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์กลุ่มเปอร์ออกซิเดส (Ward *et al.*, 2004)

ปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสประกอบด้วยปฏิกิริยา benzyl alcohol oxidation, side-chain cleavage, ring-opening reaction, dimethoxylation และ oxidative dechlorination และเนื่องจากเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสสามารถเข้าจับ (Attack) ที่พันธะได้หลายชนิด ทำให้เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการย่อยสลายลิกนิน (Ward *et al.*, 2004) โดยตัวอย่างกลไกการเร่งปฏิกิริยา (Catalytic cycle) ของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 กลไกการทำงานของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส

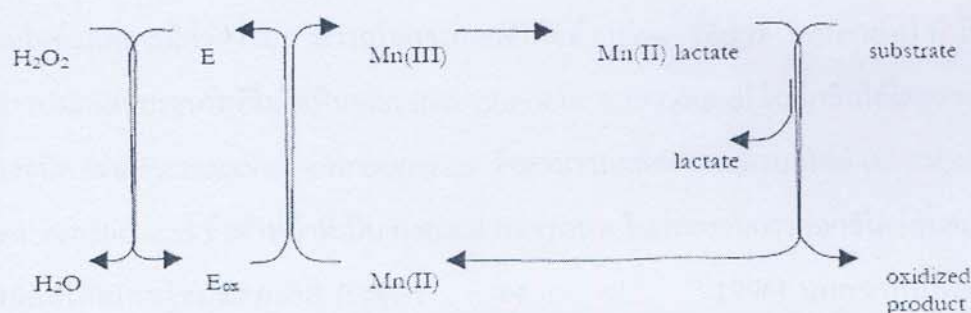
ที่มา: Hatakka (2001)

3.2 เอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (E.C. 1.11.1.13)

เอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสถูกพบครั้งแรกใน *Phanerochaete chrysosporium* (Glenn and Gold, 1985) เช่นเดียวกับเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส โดยเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเป็นไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) ที่มีฮีม (Heme) เป็นองค์ประกอบและมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นสับสเตรตร่วม (Co - substrate) ซึ่งเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสจะ ออกซิไดซ์ Mn^{2+} ให้กลายเป็น Mn^{3+} โดย Mn^{3+} จะมีความเสถียรมากขึ้นเมื่อรวมตัวกับกรดอินทรีย์ (Organic acid) บางชนิดที่ขับออกมาจากเซลล์ของราไตรโครท เช่น กรดออกซาลิก (Oxalic acid) กรดฟูมาริก (Fumalic acid) และกรดมาลิก (Malic acid)

เป็นต้น โดย chelate Mn^{3+} จะทำหน้าที่เป็น strong diffusible oxidizing agent เพื่อออกซิไดซ์สารประกอบฟีนอลิกในลิกนินจนเกิดผลิตภัณฑ์เป็นอนุมูลฟีนอกซี (Phenoxy radical) ที่ไม่เสถียร (Hatakka, 1994) ซึ่งจะถูกเปลี่ยนแปลงต่อไปโดยปฏิกิริยาดังนี้ เช่น demethylation, alkyl - phenyl cleavage, $C\alpha$ oxidation และ $C\alpha - C\beta$ cleavage เป็นต้น (Tuor *et al.*, 1992)

โดยทั่วไปเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสสามารถพบในเชื้อราขาวได้มากกว่าเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (Hatakka, 1994) ตัวอย่างกลไกการเร่งปฏิกิริยา (Catalytic cycle) ของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสแสดงในรูปที่ 2.4

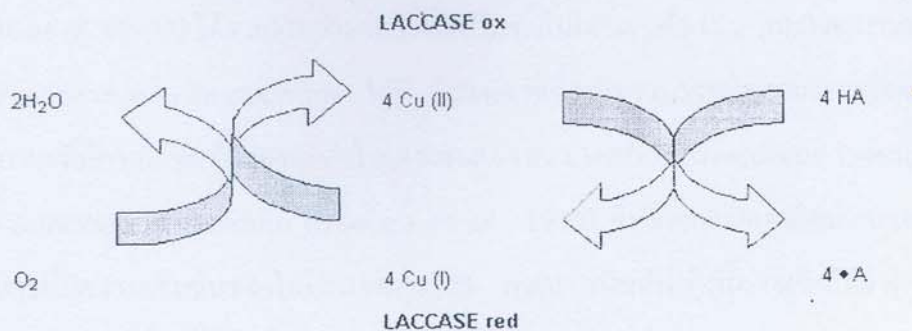


รูปที่ 2.4 กลไกการทำงานของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส

ที่มา: Haglund (1999)

3.3 เอนไซม์แลคเคส (E.C. 1.10.3.2)

เอนไซม์แลคเคสเป็นเอนไซม์ประเภท phenol oxidase ที่มีโลหะคอปเปอร์ (Copper) จำนวน 4 อะตอม อยู่ที่บริเวณแอคทีฟไซต์ (Active site) ของเอนไซม์ ซึ่งเอนไซม์แลคเคสจะออกซิไดซ์สารประกอบประเภทฟีนอล (Phenolic compound) โดยใช้โมเลกุลออกซิเจน (O_2) เป็นตัวรับอิเล็กตรอนทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เป็นน้ำ (H_2O) และอนุมูลฟีนอกซี (Phenoxy radical) (Ward *et al.*, 1996) ตัวอย่างกลไกการเร่งปฏิกิริยา (Catalytic cycle) ของเอนไซม์แลคเคสเมื่อออกซิไดซ์สับสเตรตประเภทฟีนอลิก (Phenolic substrate) แสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 กลไกการทำงานของเอนไซม์แลคเคสเมื่อออกซิไดซ์สับสเตรตประเภทฟีนอลิก

เอนไซม์แลคเคสมีค่าความสามารถในการออกซิไดซ์ต่ำ (Low redox potential) ทำให้ไม่สามารถออกซิไดซ์สารประกอบประเภทที่ไม่ใช่ฟีนอลิก (Nonphenolic compound) ในลิกนินได้โดยตรง ดังนั้นในราไต์รอปบางชนิด เช่น *Pycnoporus cinnabarinus* จึงสามารถผลิตสารเมตาบอไลต์ (Metabolite) เช่น 3-hydroxyanthranillic acid ซึ่งทำหน้าที่เป็น natural mediator ในกระบวนการออกซิไดซ์สับสเตรตประเภทที่ไม่ใช่ฟีนอลิกโดยเอนไซม์แลคเคส (Eggert *et al.*, 1996) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า hydroxybenzotriazole และ 2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate) (ABTS) ก็ทำหน้าที่เป็น mediator ในกระบวนการย่อยสลายลิกนินโดยราไต์รอปด้วยเช่นกัน (Ward *et al.*, 1996)

4. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินของเชื้อราขาว

การศึกษาทางสรีรวิทยา (Physiology) ของการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินจากเชื้อราขาวได้ถูกศึกษาอย่างกว้างขวาง โดยพบว่าเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินจะถูกผลิตออกมาเมื่อเกิดการออกซิเดชันโมเลกุลลิกนินในช่วงการเจริญทุติยภูมิ (Secondary metabolism) ซึ่งจะไม่ให้พลังงานแก่ราไต์รอป (Wesenberg *et al.*, 2003; Gold and Alic, 1993) นอกจากนี้ยังพบว่าการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินไม่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อราขาวเพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับสภาวะของการเจริญเติบโต เช่น ชนิดและปริมาณของอินดิเวอร์ ชนิดและปริมาณขององค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ และความเข้มข้นของออกซิเจน เป็นต้น

4.1 ปริมาณสารอาหาร

โดยทั่วไปแล้วการสังเคราะห์และการขับเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินของเชื้อราขาวจะถูกกระตุ้นในสภาวะที่สารอาหารถูกจำกัด ดังเช่นการศึกษาการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินใน *Phanerochaete chrysosporium* ซึ่งพบว่าการผลิตเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสและเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่จำกัดแหล่งไนโตรเจน (Nitrogen limitation) (Kapich *et al.*, 2004).

นอกจากนี้ Eggert *et al.* (1996) ได้รายงานว่าอาหารที่มีปริมาณไนโตรเจนต่ำ (1.2 mM) สามารถกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ใน *Pycnoporus cinnabarinus* ได้ดี ในขณะที่เชื้อราขาวบางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินในสภาวะที่มีความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนสูง เช่น *Cyathus stercoreus* (Sethuraman *et al.*, 1999) และ *Ganoderma lucidum* (D'souza *et al.*, 1999) ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์แลคเคสสูงขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนสูง (24 mM) เป็นต้น ดังนั้นจะเห็นได้ว่าหากพิจารณาความสัมพันธ์ของการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน กับความเข้มข้นของสารอาหาร เช่น แหล่งไนโตรเจน เป็นต้น พบว่าขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อราขาวเป็นสำคัญ

4.2 ความเข้มข้นของออกซิเจน

โดยทั่วไปสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสและเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสของเชื้อราขาว คือ ปริมาณออกซิเจนต่ำ (High oxygen tension) เช่น การเพาะเลี้ยงแบบอาหารแข็ง (Solid state culture) และสามารถถูกยับยั้งด้วยการกวน (Agitation) ในการเพาะเลี้ยงแบบอาหารเหลว (Submerged culture) แต่ในขณะที่การผลิตเอนไซม์แลคเคสสามารถกระตุ้นได้โดยการกวน (Wesenberg *et al.*, 2003) โดยมีรายงานว่า การเติมอากาศลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะช่วยเพิ่มการผลิตเอนไซม์แลคเคสใน *Botryosphaeria* sp. (Dekker and Barbosa, 2001) และ *Phanerochaete chrysosporium* (Srinivasan *et al.*, 1995; Gold and Alic, 1993)

4.3 ไอออนของโลหะ

โลหะหนักบางชนิดมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราขาว เช่น Cu Mn และ Zn เป็นต้น โดยเชื้อราขาวต้องการโลหะหนักเหล่านี้ปริมาณเพียงเล็กน้อยสำหรับกระบวนการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน แต่ในบางครั้งหากมีปริมาณที่สูงเกินไปอาจเป็นพิษต่อราได้ จากการศึกษาของ Baldrian (2003) พบว่าการเติม Zn ที่ความเข้มข้นในช่วง 0.006 - 1.8 mM และ Cu ความเข้มข้นในช่วง 0.0004 - 1.2 mM ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากโลหะ (Metal-free synthetic cultivation medium) จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสและเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสจาก *Phanerochaete chrysosporium* นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มการละลาย (Solubilization) และการย่อยสลายของโมเลกุลลิกนิน ซึ่งจะเห็นได้ว่าโลหะทั้งสองชนิดเกี่ยวข้องโดยตรงต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน

ในกรณีของเอนไซม์แลคเคสที่มี Cu เป็นองค์ประกอบอยู่ภายในโครงสร้างนั้น พบว่า การเติม Cu ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะช่วยเพิ่มการถอดรหัส (Transcription) และเพิ่มการผลิตเอนไซม์แลคเคส (Palmieri *et al.*, 2000; Galhaup and Haltrich, 2001) นอกจากนี้ Baldrian *et al.* (2002) ได้รายงานว่าการเติม Cu ที่

ความเข้มข้น 50 mM สามารถกระตุ้นกิจกรรมเอนไซม์แลคเคสของ *Pleurotus ostreatus* ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยจำนวนมากที่รายงานว่า การเติม Cu สามารถกระตุ้นการผลิตเอนไซม์แลคเคสของเชื้อราขาวหลายชนิด เช่น *Trametes versicolor* (Collins et al., 1997), *Trametes pubescens* และ *Ganoderma applanatum* (Galhaup and Haltrich, 2001) *Pleurotus ostreatus* (Palmieri et al., 2000) เป็นต้น

4.4 อินดิเวอร์

จากการศึกษาการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินในเชื้อราขาว พบว่า กลไกการผลิตเอนไซม์มีทั้งแบบ constitutive enzyme และ inducible enzyme โดยสารประกอบทางเคมีหลายชนิดสามารถเหนี่ยวนำ (Induce) ให้เกิดการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินในเชื้อราขาวได้ ซึ่งส่วนมากเป็นสารประกอบประเภทฟีนอลิก (Phenolic compound) ที่มีโครงสร้างคล้ายลิกนินหรืออนุพันธ์ของลิกนิน โดยงานวิจัยส่วนใหญ่จะศึกษาถึงชนิด ปริมาณ และระยะเวลาในการเติมอินดิเวอร์ที่เหมาะสมสำหรับการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินในเชื้อราขาว ดังเช่น

Arora and Gill (2001) ศึกษาผลของอินดิเวอร์ต่อการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์แลคเคสจาก *Phlebia radiata* โดยพบว่า veratryl alcohol (3,4-Dimethoxybenzyl alcohol) ที่ความเข้มข้น 1 mM สามารถกระตุ้นการผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ถึง 200 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับสถานะที่ไม่มีอินดิเวอร์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Eggert และคณะ (1996) ที่รายงานว่า veratryl alcohol ที่ความเข้มข้น 1 mM สามารถกระตุ้นให้กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสของ *Pycnoporus cinnabarinus* เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับสถานะที่ไม่มีอินดิเวอร์ นอกจากนี้ veratryl alcohol ยังเหนี่ยวนำให้การผลิตเอนไซม์แลคเคสใน *Ganoderma lucidum* เพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่า (D'souza et al., 1999) ซึ่งจะเห็นได้ว่า veratryl alcohol ถูกใช้อย่างแพร่หลายสำหรับการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์แลคเคสในเชื้อราขาวหลายชนิด อีกทั้งสารชนิดนี้ยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการย่อยสลายลิกนินในธรรมชาติด้วย

Eggert และคณะ (1996) ศึกษาผลของอินดิเวอร์ต่อการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์แลคเคสจาก *Pycnoporus cinnabarinus* โดยพบว่ากิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้นเป็น 9 เท่า หลังจากเติม 2,5 - xyldine ลงไป 24 ชั่วโมง ในสถานะการเพาะเลี้ยงแบบเขย่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen และคณะ (2003) ที่พบว่า 2,5 - xyldine สามารถกระตุ้นการผลิตเอนไซม์แลคเคสจาก *Volvariella volvaceae* ได้ แต่ในทางกลับกันมีรายงานว่าสารดังกล่าวสามารถยับยั้งการผลิตเอนไซม์แลคเคสจาก *Podospira anserine* (Rogalski et al., 1990) ได้เช่นกัน

การศึกษาผลของอินดิวิเชอร์ต่อการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินของเชื้อราขาว พบว่า สารประกอบประเภทอะโรมาติก เช่น guaiacol และ ferulic acid เป็นต้น สามารถกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ แลคเคสได้ เช่น ferulic acid สามารถเหนี่ยวนำให้ *Trametes versicolor* ผลิตเอนไซม์แลคเคสมากขึ้นเป็น 2 เท่า (Leonowicz *et al.*, 1978) guaiacol สามารถเหนี่ยวนำให้ *Trametes pubescens* ผลิตเอนไซม์ แลคเคสเพิ่มขึ้น 2 เท่า (Galhaup and Haltrich, 2001) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า lignocellulosic substrate สามารถเหนี่ยวนำให้ *Phanerochaete chrysosporium* ผลิตเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส เพิ่มขึ้นด้วย (Kapich *et al.*, 2004)

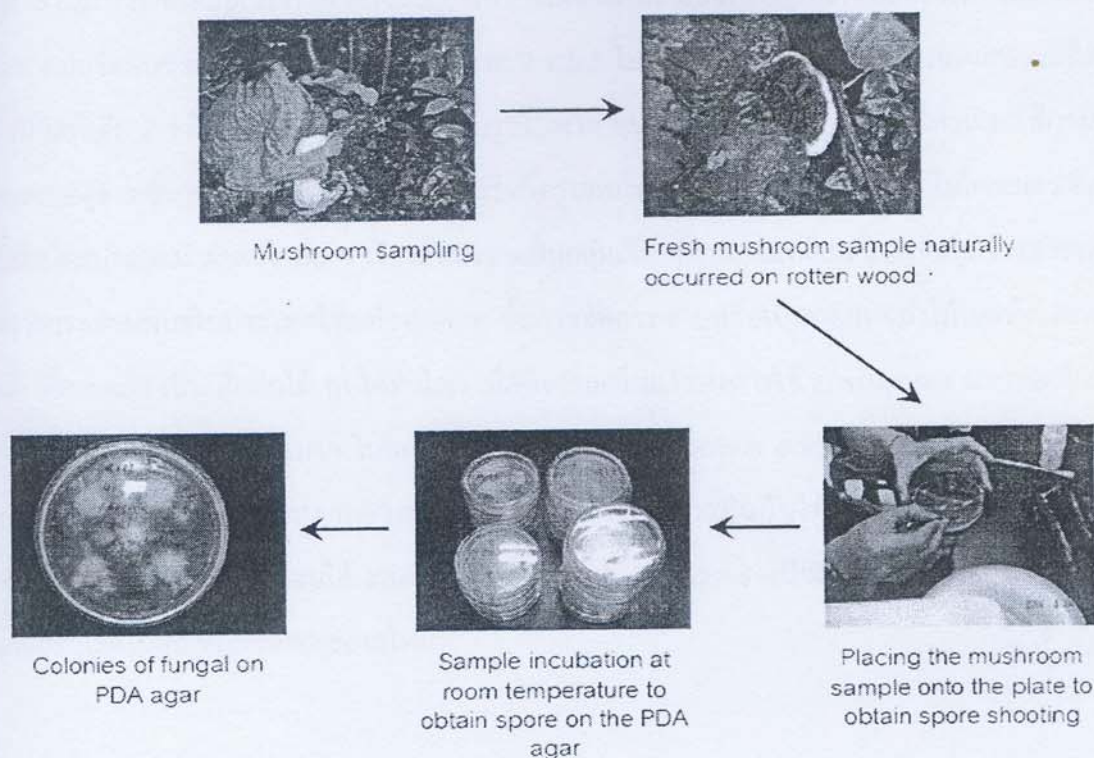
4.5 การควบคุมแบบ Catabolite repression

โดยปกติแล้วกลูโคสมักถูกพบว่าเป็นสารที่ยับยั้งการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน เนื่องจากสาร catabolite ที่เกิดขึ้นจะทำหน้าที่ยับยั้งยีนของกลุ่มเอนไซม์ย่อยสลายลิกนิน และจากการศึกษาของ Boominathan and Reddy (1992) ได้อธิบายว่าระยะเริ่มต้นของการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินใน *Phanerochaete chrysosporium* กิจกรรมเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นจะสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของปริมาณ cAMP นอกจากนี้การศึกษาเพิ่มเติมพบว่าเมื่อยับยั้ง cAMP จะทำให้เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสถูกยับยั้งและการ ผลิตเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสถูกทำให้ผลิตช้าลงหรือถูกยับยั้งเมื่อระดับของ cAMP ภายในเซลล์ลดลง

จากการศึกษาโดย Galhaup *et al.* (2002) พบว่าการยับยั้งที่เกิดจากกลูโคสมีผลต่อ *Trametes pubescens* โดยเมื่อค่อย ๆ เพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสจาก 10 กรัมต่อลิตร ไปจนถึง 40 กรัมต่อลิตร ส่งผล ให้กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสเพิ่มขึ้นถึง 5 เท่า แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นกลูโคสเป็น 60 กรัมต่อลิตร กิจกรรมของ เอนไซม์แลคเคสกลับมีค่าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Dekker and Barbosa (2001) ที่พบว่าเมื่อความ เข้มข้นของกลูโคสมากกว่า 10 กรัมต่อลิตร จะยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์แลคเคสของ *Botryosphaeria* sp.

5. การคัดแยกสายพันธุ์เชื้อราขาว

Apiwattanapiwat W. และคณะ (2006) ทดลองนำตัวอย่างชิ้นไม้ผุภายในเขตบริเวณอุทยาน แห่งชาติเขาใหญ่ จ.นครราชสีมา มาเพื่อคัดแยกสายพันธุ์เชื้อราขาวที่พบในประเทศไทย โดยวิธีการคัดเลือก สายพันธุ์สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 ขั้นตอนการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราขาว (สถานที่ทำการทดลอง: ฝ่ายปฏิบัติการเทคโนโลยีเอนไซม์ และการจัดการของเสีย สถาบันคันคว่ำและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)

ผลการทดลองดังกล่าว พบว่า มีสายพันธุ์เชื้อราขาวจำนวน 64 สายพันธุ์ และเชื้อราขาวจำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ KAPI03 KAPI04 KAPI13 KAPI25 KAPI30 KAPI39 และ KAPI50 สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่มีลิกนินสังเคราะห์เป็นองค์ประกอบ จากเหตุผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าเชื้อราขาวทั้ง 7 สายพันธุ์สามารถใช้ลิกนินสังเคราะห์เป็นแหล่งอาหารได้ อย่างไรก็ตามเมื่อนำเชื้อราขาวทั้ง 7 สายพันธุ์มาทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นในหลอดทดลองเพื่อกำจัดสีที่จากโรงงานผลิตเยื่อและกระดาษ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อราสายพันธุ์ KAPI25 KAPI39 และ KAPI50 มีประสิทธิภาพในการลดสีน้ำทิ้งเท่ากับ 54.4% 54.9% และ 53.7% ตามลำดับ (P. Vaithanomsat และคณะ, 2006)

Lentinus strigosus เป็นเชื้อราขาวที่จัดอยู่ในคลาสเบสิดิโอไมซีท (Basidiomycetes) ซึ่งมีพัฒนาการขั้นสูงที่สามารถเจริญเป็นดอกเห็ดได้ (รูปที่ 2.7) โดยภาษาท้องถิ่นเรียกว่าเห็ดหูกวาวหรือเห็ดเพ็ก เมื่อเจริญเป็นดอกเห็ดจะมีลักษณะทางกายภาพดังนี้ คือ ดอกเห็ดอ่อนสีน้ำตาลอ่อนอมม่วงแดงแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือขาวนวล หมวกเห็ดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 - 5 ซม. รูปกรวยตันหรือรูปพัดเพราะการเจริญของหมวกไม่เท่ากัน ส่วนมากด้านหนึ่งจะเล็กกว่าอีกด้านหนึ่ง ขอบมีขนละเอียดหนาแน่น ครีbspีขาวนวล ขนากันตามยาว และมีความยาว 4 ขนาด สันจักฟันเลื่อยเล็ก ๆ ก้านยาว 0.5 - 3 ซม. เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5

- 8 มม. ส่วนมากก้านไม่อยู่กึ่งกลางดอกจะเอียงไปข้างใดข้างหนึ่ง มีขนละเอียดสีเหมือนหมวก เนื้อเห็ดเหนียวเล็กน้อย สปอร์ค่อนข้างกลมหรือรี สี ไม่มีสี ขนาด 2×5.5 ไมโครเมตร ที่ปลายข้างหนึ่งของสปอร์มีติ่งเล็ก ๆ ในครีมีซิสติเดีย 2 ชนิด ชนิดที่อยู่ตามขอบครึ่งรูปใบพาย ขนาด $4 - 6 \times 18 - 23$ ไมโครเมตร อีกชนิดหนึ่งเจริญแทรกอยู่ตามชั้นของเซลล์สร้างสปอร์รูปยาวรีหรือรูปคนโท ขนาด $5 - 7 \times 28 - 45$ ไมโครเมตร ซิสติเดียชนิดนี้มีผนังหนาและมักมีเส้นใยสั้น ๆ เรียงล้อมรอบเป็นกลุ่มเล็ก ๆ รูปสามเหลี่ยม โดยเห็นดูทึบหรือเห็นเพ็ก มีเขตการกระจายพันธุ์ในประเทศไทยทั่วทุกภาค ขึ้นกระจัดกระจายหรือเป็นกลุ่มบนลำไม้ไผ่แห้งและตามกอหญ้าเพ็กที่ตายแล้ว เป็นเห็ดกินได้ พบได้ทั่วโลก เมื่อพิจารณาในแง่ของการใช้ *L. strigosus* มากำจัดลิกนินพบว่ามีการวิจัยที่เกี่ยวข้องน้อยมาก ในขณะที่มีการใช้งานการใช้ *Lentinus edodes* (เห็ดหอม) มากำจัดสีย้อมอย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตามจากรายงานวิจัยดังกล่าวเป็นการยืนยันได้ว่าราในจินสนี้สามารถกำจัดสารประกอบที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ และด้วยเหตุผลที่ว่า *L. strigosus* เป็นเห็ดพื้นเมืองที่สามารถพบได้ทุกภาคและเจริญได้ในอุณหภูมิของประเทศไทย



รูปที่ 2.7 ลักษณะดอกเห็ดของ *L. strigosus*

Manzanares และคณะ (1995) ทำการศึกษาการบำบัดสีน้ำของน้ำทิ้งจากขั้นตอนการต้มเยื่อกระดาษด้วยสารละลายต่างของโรงงานผลิตกระดาษและเยื่อกระดาษ โดยใช้ราขาวในกลุ่ม *Trametes versicolor* IJFM A-137 ผลการศึกษาพบว่า เชื้อราในกลุ่มดังกล่าวสามารถกำจัดปริมาณสีในน้ำทิ้งได้ 21% ภายในระยะเวลาการบำบัด 9 วัน และพบว่ามีปริมาณเอนไซม์แลคเคสซึ่งถูกผลิตขึ้นจากเชื้อราขาวเป็นเอนไซม์หลักในกระบวนการย่อยสลายสารประกอบลิกนินในน้ำทิ้ง ในลักษณะงานวิจัยเดียวกัน Calvo และคณะ (1998) ทำการศึกษาเชื้อราขาวในกลุ่ม *Coriopsis gallica* เพื่อลดสีในน้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษที่มีสภาพ

เป็นด่าง ($\text{pH} < 7$) และพบว่าเชื้อ *C. gallica* จะสร้างเอนไซม์แลคเคสในระหว่างกระบวนการลดสี ซึ่งเอนไซม์แลคเคสจะถูกสร้างมากที่สุดในอาหารที่มีส่วนประกอบของน้ำทิ้งจากโรงงาน โดยกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสจะสามารถตรวจวัดได้หลังจากระยะเวลาการบำบัด 2 วัน

6. การบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง

ถังปฏิกรณ์เยื่อกรองเป็นระบบบำบัดน้ำเสียที่มีการผสมผสานกระบวนการพื้นฐาน 2 ขั้นตอน ที่ได้ปรับเปลี่ยนมาจากระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ คือ อาศัยการทำงานร่วมกันของการบำบัดทางชีวภาพและการบำบัดทางกายภาพ (พรทิพย์ และ ศุภลักษณ์, 2552) ซึ่งการทำงานของถังปฏิกรณ์เยื่อกรองจะทำการโดยสารแขวนลอยและสารอินทรีย์เล็กๆ ถูกย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์จะถูกแยกตัวออกจากน้ำจากการกรองด้วยเยื่อเมมเบรน (จันทร์ทรงกลด, 2550)

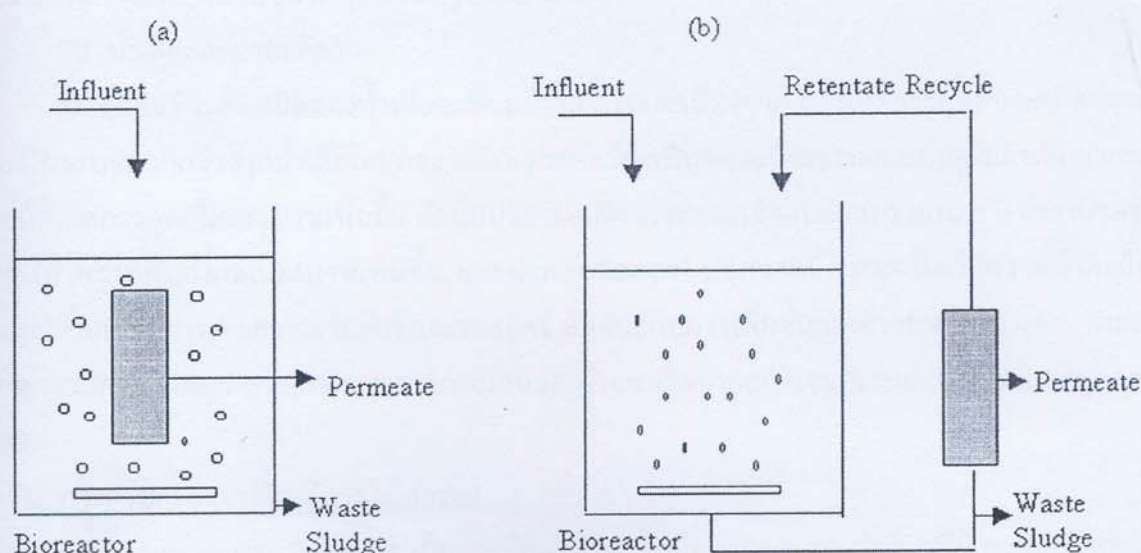
กระบวนการถังปฏิกรณ์เยื่อกรองมีลักษณะเฉพาะตัวซึ่งแตกต่างจากกระบวนการแอกทิเวเตดสลัดจ์หลายประการ ตัวอย่างเช่น ถังปฏิกรณ์เยื่อกรองช่วยเพิ่มความเข้มข้นของชีวมวลในระบบทำให้มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารได้สูงและช่วยลดขนาดของถังเนื่องจากไม่ต้องใช้ถังตกตะกอน ทำให้อัตราการไหลของน้ำเข้าระบบไม่มีผลต่อการตกตะกอนเหมือนที่เกิดในแอกทิเวเตดสลัดจ์ และนอกจากนี้ Hydraulic shock/Organic shock มีผลน้อยมากต่อการทำงานของระบบเนื่องจากคุณสมบัติเหล่านี้จึงทำให้กระบวนการถังปฏิกรณ์เยื่อกรองจึงมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียได้สูงกว่าระบบบำบัดน้ำเสียแบบเดิม (พรทิพย์ และศุภลักษณ์, 2552)

ลักษณะทั่วไปของถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง ภายในถังปฏิกรณ์น้ำเสียจะถูกสูบจากถังพักน้ำเสียเข้าถังที่มีการติดตั้งชุดเมมเบรนและที่เติมอากาศเพื่อให้สัมผัสกับตะกอนจุลินทรีย์ภายในถัง จุลินทรีย์จะย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียด้วยการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน แล้วทำการกรองน้ำสะอาดออกด้วยเมมเบรนที่บรรจุอยู่ภายในถัง น้ำที่ผ่านการกรองแล้วจะถูกดึงออกจากระบบ ส่วนจุลินทรีย์จะถูกดึงกลับไปเครื่องทำปฏิกิริยาทางชีวภาพและตะกอนของเสียที่เป็นส่วนเกินจะถูกสูบออกไป มวลจุลินทรีย์จะถูกจำกัดอยู่ภายในระบบที่มีการจัดเตรียมทั้งเรื่องการควบคุมอายุของเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในถังปฏิกรณ์การทำความสะอาดเมมเบรนสามารถทำได้โดยอาศัยหลักการเติมอากาศจากหัวปั๊มอากาศ ซึ่งอากาศจะถูกปล่อยเข้าไปจากด้านล่างของชุดเมมเบรนเพื่อให้ฟองอากาศยกตัวสัมผัสกับสิ่งสกปรกที่เกาะติดผิวหน้าของเมมเบรนและกำจัดสิ่งอุดตันที่ผิวหน้าของเมมเบรนออก นอกจากนั้นรูปแบบการกรองน้ำโดยให้เกิดทิศทางการไหลแบบ Cross Flow ก็จะช่วยป้องกันสิ่งตกค้างของตะกอนที่จะอุดตันผิวหน้าของเมมเบรน การทำความสะอาดเมมเบรนสามารถล้างกับน้ำหรือล้างด้วยสารเคมี

ระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง มีการใช้งานโดยทั่วไปมีอยู่ 2 รูปแบบ ได้แก่

(1) Submersed/Immersed เป็นชนิดที่ตัวของเมมเบรนจุ่มอยู่ในน้ำเสียโดยไม่ต้องดึงน้ำออกมาบำบัดข้างนอก เมมเบรนชนิดนี้จะมีราคาแพงกว่า ขึ้นอยู่กับการเลือกใช้งาน ดังแสดงในรูปที่ 2.8(a) น้ำเข้าจะถูกสูบเข้าถังปฏิกรณ์ชีวภาพเพื่อสัมผัสกับมวลชีวภาพและกรองด้วยเมมเบรน การทำความสะอาดสามารถทำได้โดยการเติมอากาศ โดยอากาศจะถูกปล่อยเข้าไปจากทางด้านล่างของชุดเมมเบรนเพื่อกำจัดสิ่งอุดตันที่ผิวหน้าของเมมเบรนด้วยการยกตัวของฟองอากาศ (Airlift effect) การใช้งานแบบกรองขนานกับทิศทางการไหล (Cross flow) และฟองอากาศจะช่วยป้องกันสิ่งตกค้างของตะกอนที่จะอุดตันผิวหน้าของเมมเบรนและอากาศยังถูกใช้สำหรับการออกซิเดชันและการสันดาปภายในของจุลินทรีย์ น้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วจะไหลออกจากถังด้วยการดูดผ่านเมมเบรน ซึ่งในปัจจุบันการใช้เมมเบรนทั้ง MF และ UF จะใช้รูปแบบนี้

(2) Side Stream เป็นเมมเบรนชนิดที่อาศัยการดึงน้ำเสียออกมาบำบัดกับตัวเมมเบรนที่อยู่ข้างนอกดังแสดงในรูปภาพที่ 2.8(b) น้ำเข้าจะไหลสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ซึ่งจะสัมผัสกับมวลชีวภาพ ของผสมนี้จะถูกสูบจากถังปฏิกรณ์ภายใต้แรงดันไปถูกกรองผ่านเมมเบรน น้ำส่วนที่ผ่านเมมเบรนจะไหลออกจากระบบ ในขณะที่มวลชีวภาพทั้งหมดจะถูกนำกลับไปสู่ถังปฏิกรณ์ ตะกอนส่วนเกินจะถูกสูบออกเพื่อควบคุมอายุตะกอนให้คงที่ และเมมเบรนจะทำความสะอาดด้วยการล้างย้อนกลับ (Backwashing) ล้างด้วยสารเคมีหรือฟองอากาศ



รูปที่ 2.8 ประเภทของเมมเบรนที่มีการใช้งาน (a) เมมเบรนชนิด Submersed/Immersed MBR และ (b) เมมเบรนชนิด Side Stream MBR