



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การคัดแยกและผลิตแบคทีเรียทนเค็มที่สามารถบำบัดน้ำเสียจาก
โรงงานผักและผลไม้ดอง

**Isolation and Production of Salt-tolerant Bacteria for Pickled
Industry Wastewater Treatment**

โดย นาย ฐปน ชื่นบาล และคณะ

มกราคม 2548

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การคัดแยกและผลิตแบคทีเรียทนเค็มที่สามารถบำบัดน้ำเสียจาก
โรงงานผักและผลไม้ดอง

Isolation and Production of Salt-tolerant Bacteria for Pickled
Industry Wastewater Treatment

คณะผู้วิจัย

สังกัด

1. นายฐปน ชื่นบาล

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2. นายเสนีย์ กาญจนวงศ์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกเชื้อแบคทีเรียทนเค็มเพื่อบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผัก-ผลไม้คอง โดยคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างน้ำเสียและดินจากโรงงานคองผัก และตัวอย่างอาหารคองเค็มในจังหวัดเชียงใหม่ สามารถแยกแบคทีเรียทนเค็มได้จำนวน 34 ไอโซเลต เมื่อนำเชื้อทั้งหมดมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อในอาหารที่มีความเค็ม โดยทำการเลี้ยงเชื้อในอาหาร Nutrient broth ที่มีความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 0 - 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ผลการทดลองขั้นตอนนี้สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่ทนความเค็มได้ในช่วงกว้างจำนวน 10 ไอโซเลต หลังจากนั้นนำเชื้อที่คัดเลือกทั้ง 10 ไอโซเลต มาเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผักคอง 3 สัปดาห์และตรวจวัดประสิทธิภาพการลดค่า FCOD และ BOD ผลการทดลองพบว่า S_7B_3 , W_3B_1 และ S_8B_1 มีประสิทธิภาพในการลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุด คือจาก 7,920 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 857, 1,118 และ 1,324 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และลดค่าบีโอดี จาก 6,300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 686, 894 และ 1,059 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ การทดสอบการจำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่า เชื้อรหัส W_3B_1 , S_7B_3 และ S_8B_1 จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Bacillus cereus*, *Pseudomonas* และ *Erwinia cupripedii* ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการทดสอบ pH และความเข้มข้นของน้ำเสียของโรงงานคองผักที่เหมาะสมกับเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลต พบว่า pH ที่เหมาะสมของ *Bacillus cereus* เท่ากับ 6 และ *Pseudomonas fluorescens* กับ *Erwinia cupripedii* เท่ากับ 7 ความเข้มข้นของน้ำเสียที่เหมาะสมกับเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลตเท่ากับ 100 % การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลต ที่เตรียมในรูปแบบพบว่ามีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียได้ใกล้เคียงกับเชื้อที่เตรียมในรูปแบบของเหลว

Abstract

The objective of this research is to isolate salt-tolerant bacteria for pickling-wastewater treatment. Salt-tolerant bacteria were isolated from wastewater and soil samples from pickle factories, and from salted food samples, Chiang Mai, Thailand. Thirty-four bacterial isolates were achieved. Growth of all isolates in different salt concentrations (0-25 % (w/v)) was tested. Ten isolates with the broad range of salt-tolerant property were selected and cultured in pickling wastewater for three weeks. The efficiency of the isolates in wastewater treatment was measured by reduction of FCOD and BOD. Three potential isolates; S₇B₃, W₃B₁, and S₈B₁ were found to reduce FCOD from 7,920 mg/L to 857, 1,118, and 1,324 mg/L, and BOD from 6,300 mg/L to 686, 894, and 1,059 mg/L, respectively. The three isolates, S₇B₃, W₃B₁, and S₈B₁ were identified as *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Erwinia cupripedii*, respectively. The optimum pH and pickling-wastewater concentration for each isolate were determined. The optimum pH was 6 for *Bacillus cereus*, and 7 for *Pseudomonas fluorescens* and *Erwinia cupripedii*. The optimum wastewater concentration for all three isolates was 100 %. The powder preparations of the three isolates were found to be as efficient as liquid preparations in pickling-wastewater treatment.

Executive Summary

Wastewater from pickle industries normally has high concentration of NaCl, low pH, and high COD concentration. The normal biological wastewater treatment processes are unable to purify pickling wastewater, as growth of microorganisms is strongly inhibited by the high salt concentration and low pH. The objective of this research is to isolate salt-tolerant bacteria to be used in pickling wastewater treatment.

The research is carried out by isolation of salt-tolerant bacteria from pickling wastewater, soil, and salted foods collected in Chiang Mai, Thailand, using a halophilic agar medium containing 5 % (w/v) NaCl. Growth of the obtained isolates was then observed in media containing 5, 10, 15, 20, and 25 % (w/v) NaCl for seven days by means of optical density measurement at 660 nm. The isolates that displayed growth in a broad NaCl-concentration range were used in further investigation of their potential for wastewater treatment. This was conducted by culturing the isolates in pickling wastewater and reduction of FCOD and BOD was analyzed at three-day intervals for three weeks. Salt-tolerant bacteria that have high potentials for wastewater treatment were further determined for their growth rate, characteristics, and identification using biochemical characterization. The optimum pH and wastewater concentration for these bacterial isolates were also identified by culturing in pickling wastewater adjusted to pH to 5, 6, 7, and 8 and pickling wastewater concentrations at 50, 75, and 100 % (v/v). FCOD, SS, TS, and TVS values were measured every four-day for sixteen days. Selected bacterial isolates were then prepared into a powder form. The efficiency in treating pickling-wastewater of the powder preparation of the selected isolates was studied in comparison to the liquid preparation, through the analysis of FCOD and BOD every four day for sixteen days.

The results showed that thirty-four isolates of salt-tolerant bacteria were obtained from wastewater (3 isolates), soil (28 isolates), and salted foods (3 isolates). After further investigation of their growth in media containing different salt-concentration, ten isolates with a broad range of salt-tolerant property (8 isolates from soil sample : S₂B₃, S₇B₁, S₇B₂, S₇B₃, S₇B₄, S₈B₁, S₈B₂, S₈B₃ and 2 isolates from water sample: W₂B₁, W₃B₁) were selected. These ten isolates were cultured in pickling wastewater for three weeks and their potential for wastewater treatment was observed.

The results showed that all isolates can reduce FCOD and BOD in wastewater but three isolates (S_7B_3 , W_3B_1 , and S_8B_1) were shown to have high efficiency in reducing FCOD and therefore were selected for further studies. The isolates S_7B_3 , W_3B_1 , and S_8B_1 reduced FCOD from 7,290 mg/L to 857, 1,118, and 1,324 mg/L, respectively, and reduced BOD from 6,300 mg/L to 686, 894, and 1,324 mg/L, respectively. All three isolates were identified using biochemical tests (API 50 CHB/E media for W_3B_1 and conventional biochemical methods for S_7B_3 and S_8B_1). The results showed that S_7B_3 , W_3B_1 , and S_8B_1 were *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Erwinia cupripedii*, respectively. All three isolates had lag phase of 1-9 hours and log phase of 9-12 hours. The optimum pH was determined as 6 for *Bacillus cereus*, and 7 for *Pseudomonas fluorescens* and *Erwinia cupripedii*. The optimum wastewater concentration for all three strains was 100%. The powder preparation of all three strains showed similar result to the liquid preparation in wastewater treatment.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
Abstract	ii
Executive Summary	iii
บทนำ	1
การตรวจเอกสาร	1
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ	14
ผลการทดลอง	23
สรุปผล	49
เอกสารอ้างอิง	50

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1	แบบที่เรขทศนเค็มที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำเสีย ดิน และอาหาร ที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่ ความเข้มข้นสูงเป็นองค์ประกอบ ในกระบวนการผลิต	24
ตารางที่ 2	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ของเชื้อที่ความเข้มข้นของเกลือระดับ ต่าง ๆ	25

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 ตัวอย่างการเก็บดินที่โรงงานคองผลไม้ (21/1 หมู่ 4 ต.เมืองเส้น อ.สันทราย จ.เชียงใหม่)	15
รูปที่ 2 ตัวอย่างการเก็บน้ำจากบริษัทสันติภาพ	16
รูปที่ 3 ไดอะแกรมการวิจัย	17
รูปที่ 4 เครื่อง Freeze dry (Dura-Dry)	22
รูปที่ 5 ตัวอย่างการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Halophilic agar * ของตัวอย่างน้ำจากบริษัทสันติภาพ	23
รูปที่ 6 การทำเชื้อบริสุทธิ์ โดยวิธี Cross streak plate technique ของเชื้อ W ₁ B ₁	23
รูปที่ 7 ลักษณะการเจริญของเชื้อในอาหาร Halophilic broth ที่มี ความเข้มข้นเกลือระดับ 0 - 25 เปอร์เซ็นต์	26
รูปที่ 8 ปริมาณการเปลี่ยนแปลง FCOD ของแบคทีเรียทนเค็ม 10 ไอโซเลตที่เลี้ยง ในน้ำเสียจากโรงงานคองผลไม้และผลไม้เป็นระยะเวลา 21 วัน	27
รูปที่ 9 ปริมาณการเปลี่ยนแปลง BOD ของแบคทีเรียทนเค็ม 10 ไอโซเลตที่เลี้ยง ในน้ำเสียจากโรงงานคองผลไม้และผลไม้เป็นระยะเวลา 21 วัน	28
รูปที่ 10 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของแข็งแขวนลอยทั้งหมดของแบคทีเรียทนเค็ม 10 ไอโซเลตที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานคองผลไม้และผลไม้เป็นระยะเวลา 21 วัน	29
รูปที่ 11 ช่วงระยะเวลาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทนเค็ม ไอโซเลต S ₇ B ₃ , W ₃ B ₁ และ S ₈ B ₁	30
รูปที่ 12 แบคทีเรีย รหัส W ₃ B ₁ (<i>Bacillus cereus</i>)	31
รูปที่ 13 แบคทีเรียรหัส S ₇ B ₃ (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	31
รูปที่ 14 แบคทีเรีย รหัส S ₈ B ₁ (<i>Enwinia cupripedii</i>)	32
รูปที่ 15 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD โดยแบคทีเรียรหัส S ₈ B ₁ ที่ช่วง pH 5 - 8	33
รูปที่ 16 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียรหัส S ₈ B ₁ ที่ ช่วง pH 5 - 8	33
รูปที่ 17 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียรหัส S ₇ B ₃ ที่ช่วง pH 5 - 8	34
รูปที่ 18 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (TVS) โดยแบคทีเรียรหัส S ₇ B ₃ ที่ช่วง pH 5 - 8	34
รูปที่ 19 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD (mg/L) โดยแบคทีเรียรหัส S ₇ B ₃ ที่ช่วง pH 5 - 8	35

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 20 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียรหัส S_8B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8	35
รูปที่ 21 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียรหัส S_8B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8	36
รูปที่ 22 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (TVS) โดยแบคทีเรียรหัส S_8B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8	36
รูปที่ 23 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD (mg/L) โดยแบคทีเรียรหัส W_3B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8	37
รูปที่ 24 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียรหัส W_3B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8	37
รูปที่ 25 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียรหัส W_3B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8	38
รูปที่ 26 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (TVS) โดยแบคทีเรียรหัส W_3B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8	38
รูปที่ 27 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD (mg/L) โดยแบคทีเรียรหัส S_7B_3 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	39
รูปที่ 28 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD (mg/L) โดยแบคทีเรียรหัส S_8B_1 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	40
รูปที่ 29 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD (mg/L) โดยแบคทีเรียรหัส W_3B_1 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	40
รูปที่ 30 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียรหัส S_7B_3 ที่ เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	41
รูปที่ 31 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียรหัส S_8B_1 ที่เปอร์เซ็นต์ การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	41
รูปที่ 32 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียรหัส W_3B_1 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	42
รูปที่ 33 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียรหัส S_7B_3 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	42

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 34 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียรหัส S_8B_1 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	43
รูปที่ 35 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียรหัส W_3B_1 ที่เปอร์เซ็นต์ การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	43
รูปที่ 36 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (TVS) โดยแบคทีเรีย S_8B_3 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	44
รูปที่ 37 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (TVS) โดยแบคทีเรีย S_8B_1 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	44
รูปที่ 38 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (mg/L) โดยแบคทีเรีย W_3B_1 ที่เปอร์เซ็นต์ การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์	45
รูปที่ 39 การเปลี่ยนแปลงค่า FCOD ของระบบที่มีการเติมเชื้อผง	46
รูปที่ 40 การเปลี่ยนแปลงของค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) ของระบบที่มีการเติมเชื้อผง	47
รูปที่ 41 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ของระบบที่มีการเติมเชื้อผง	47
รูปที่ 42 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย TVS ของระบบที่มีการเติมเชื้อผง	48

บทนำ

โรงงานฝักคองเป็นโรงงานแปรรูปผลผลิตทางการเกษตรที่มีกระจายทั่วไปในเขตภาคเหนือ และเนื่องจากโรงงานเหล่านี้ส่วนใหญ่มีขนาดเล็ก ทำให้น้ำเสียไม่ได้รับการบำบัดอย่างถูกต้องและเนื่องจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพทั่วไปในการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มยังพบปัญหาอยู่มาก เช่น จุลินทรีย์ทั่วไปไม่สามารถบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มมากกว่า 3-5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ จุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไปมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของออสโมทิก พบว่า การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเกลืออย่างรวดเร็วตั้งแต่ 0.5-2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ยับยั้งประสิทธิภาพของระบบบำบัดอย่างมีนัยสำคัญ การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของเกลือมีแนวโน้มที่จะยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึมและจุลชีววิทยาการย่อยสลายภายในเซลล์ และ น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มมักมีปริมาณสารแขวนลอยสูง โดยเกลือสามารถชักนำให้เกิดเซลล์แตก เป็นสาเหตุให้น้ำออกมีปริมาณสารแขวนลอยสูงขึ้น และประชากรโปรโตซัวและจุลินทรีย์ชนิดเส้นใย (Filamentous microorganism) มีจำนวนลดลง ทำให้เกิดฟล็อกได้ไม่ดีเท่าที่ควร จากปัญหาข้างต้นทำให้การบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มมากด้วยกระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยานั้นมีประสิทธิภาพต่ำ ดังนั้นการพัฒนากระบวนการบำบัดน้ำเสียขนาดเล็กที่ควบคุมการทำงานได้ง่าย ซึ่งจำเป็นต้องใช้แบคทีเรียทนเค็มในการบำบัดน้ำเสียประเภทนี้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อหาเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่มีศักยภาพในการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการแก้ปัญหาดังกล่าวให้ดีขึ้น

การตรวจเอกสาร

1. แบคทีเรียชอบเค็ม (Halophilic bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มนี้ต้องการเกลือในการเจริญ โดยแบคทีเรียประเภทนี้จะแบ่งได้ตามลักษณะความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ในการเจริญ ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 พวกชอบเกลือเล็กน้อย (Slightly halophilic bacteria) เป็นพวกที่เจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือ 0.5 - 3 เปอร์เซ็นต์ แยกจากปลาและอาหารทะเล กลุ่มที่สอง พวกชอบเกลือปานกลาง (Moderate halophilic bacteria) เจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือ 3 - 15 เปอร์เซ็นต์ มักแยกได้จากปลาเค็ม เนื้อเค็ม ฝักคอง และกลุ่มที่สาม พวกชอบเกลือสูง (Extreme halophilic bacteria) เป็นพวกเจริญได้ดีในที่ที่มีเกลือ เข้มข้นสูง 15 - 30 เปอร์เซ็นต์

นงลักษณ์ (2541) ได้แบ่งแบคทีเรียพวกชอบเค็ม (Halophilic bacteria) เป็น 3 กลุ่ม ตามความเข้มข้นของเกลือที่แบคทีเรียเจริญได้ดังนี้ 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 นอนฮาโลไฟล์ (Non-halophiles) เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 2 - 5 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 สไลต์ฮาโลไฟล์ (Slight halophiles) เจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือ 5 - 20 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 3 มอดอเรทฮาโลไฟล์ (Moderate halophiles) เจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือ 20 - 30 เปอร์เซ็นต์ และการแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียชอบเค็มอาจจะแตกต่างกันเช่น

บัญญัติ (2525) ได้แบ่งแบคทีเรียในกลุ่มนี้เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1 คือ ออบลิเกทฮาโลไฟล์ (Obligate halophiles) เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 15 - 30 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 2 คือ มอดอเรทฮาโลไฟล์ (Moderate halophiles) เจริญในอาหารที่มีเกลือ 1 - 20 เปอร์เซ็นต์

มัทนา (2538) ได้แบ่งแบคทีเรียที่ชอบเกลือเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 สไลต์ฮาโลไฟล์ เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 0.5 - 3 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 มอดอเรทฮาโลไฟล์ เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 3 - 15 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 3 เอ็กทริมฮาโลไฟล์ เจริญในอาหารที่มีเกลือ 15 - 30 เปอร์เซ็นต์

ลัคควาลย์ (2536) ได้ทำการจำแนกแบคทีเรียที่ชอบเกลือไว้โดยอาศัยความเข้มข้นของเกลือโดยดูที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ โดยสามารถแบ่ง 4 กลุ่ม ได้ดังนี้ กลุ่มที่ 1 นอนฮาโลไฟล์ สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่เลี้ยงที่มีเกลือโซเดียมอยู่ 0.2 โมลาร์ แต่สำหรับพวกแบคทีเรียทนเกลือสามารถทนความเข้มข้นของเกลือได้สูงกว่านี้ กลุ่มที่ 2 สไลต์-ฮาโลไฟล์ (Marine bacteria) สามารถเจริญได้ดีที่สุดในช่วงของเกลือโซเดียม 0.2 - 0.5 โมลาร์ กลุ่มที่ 3 มอดอเรทฮาโลไฟล์ สามารถเจริญได้ดีที่สุดในช่วงของเกลือโซเดียม 0.5 - 2.5 โมลาร์ และกลุ่มที่ 4 เอ็กทริมฮาโลไฟล์ สามารถเจริญได้ดีในช่วงเกลือโซเดียมที่มีในอาหารในปริมาณ 2.5 - 5.2 โมลาร์ ในช่วงที่อึดตัวไปด้วยเกลือโซเดียม

1.1 แบคทีเรียที่ชอบความเค็มจัด (Extreme halophilic bacteria)

แบคทีเรียที่ชอบความเค็มจัด จัดเป็นพวก Chemoorganotroph ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน และอิเล็กตรอนได้พลังงานจากการออกซิเดชันสารอินทรีย์ในสภาพที่มีอากาศ ซึ่งอาจ จัด

อยู่ในกลุ่ม Heterotroph เนื่องจากไม่สามารถสังเคราะห์อาหารเองได้ต้องอาศัยสารอินทรีย์จากสิ่งมีชีวิตอื่นต้องการเกลือที่มีความเข้มข้น 17–23 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเจริญและการดำรงชีวิต นอกจากนี้ยังเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน หรือคล้ายจาน (Halobacterium) จนถึงรูปร่างทรงกลม (Halococcus) โคโลนีสีแดงส้ม เนื่องจากประกอบด้วยแคโรทีนอยด์เพื่อปกป้องแสงแดดในสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงเซลล์จะสามารถทนต่อการสูญเสียน้ำได้โดยการรักษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมคลอไรด์ภายในเซลล์ให้สูงเพื่อรักษาแรงดันออสโมติก ซึ่งเยื่อหุ้มเซลล์ และไรโบโซมจะสามารถคงสภาพได้และเอนไซม์จะมีความว่องไวที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์ หรือโซเดียมคลอไรด์สูง ส่วนมากพบในทะเลสาบน้ำเค็มจัด เช่น ทะเลเดดซี โรงงานผลิตเกลือ ปลาเค็ม เป็นต้น

Halobacterium มีรูปร่างของเซลล์เป็นแบบท่อนขนาด 0.6–1.0 ไมครอน โดยมากมักอยู่เดี่ยวๆ มีการเคลื่อนที่โดยใช้แฟลเจลลาที่ขั้วเซลล์ หรือบางชนิดอาจไม่เคลื่อนที่ ติดสีย้อมแกรมลบ ต้องการออกซิเจนในการเจริญ สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30–50 องศาเซลเซียส และ pH 7.2–7.4 แต่ที่ช่วง pH 5.5–8.0 ผนังเซลล์จะไม่สามารถพบกรดโคอะมิโนฟิลิกหรือกรดมิวรามิก ผนังเซลล์ของ Halobacterium เป็นโปรตีนหน่วยย่อยซึ่งเชื่อมต่อกันเฉพาะในสภาพที่มีเกลือเท่านั้น ดังนั้นแบคทีเรียกลุ่มนี้จึงมีรูปร่างแบบท่อนในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 3.5 โมลาร์ แต่เมื่อความเข้มข้นของเกลือลดลงเซลล์จะมีรูปร่างหลายแบบ และที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 1.5 โมลาร์ เซลล์จะมีรูปร่างกลม เนื่องจากการสูญเสียน้ำผนังเซลล์แบคทีเรียพวกนี้จึงต้องการเกลือที่มีความเข้มข้น 10–20 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเจริญ แต่ถ้าความเข้มข้นของเกลือมีค่าต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ เซลล์จะสลายสำหรับในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง เซลล์จะพยายามต้านทานการสูญเสียน้ำด้วยการปรับสภาพให้ภายในเซลล์มีความเข้มข้นของเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์สูงขึ้น เพื่อให้ไรโบโซมและไซโทพลาสซึมเมมเบรนคงสภาพอยู่ได้ รวมทั้งทำให้เอนไซม์สามารถทำงานได้ด้วย ดังนั้นแบคทีเรียเหล่านี้จึงพบในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ขณะที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียกลุ่ม Halococcus ประกอบด้วย Heteropolysaccharide ที่สลับซับซ้อนทำให้สามารถทนทานได้แม้อยู่ในสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำ Halobacterium เป็นแบคทีเรียกลุ่มแอโรบิก แต่สามารถสร้าง ATP ได้โดยการหมักกรดอะมิโนอาร์จินีน ทำให้สามารถดำรงชีวิตแบบแอโรบิกได้ แต่วิธีการสร้าง ATP เฉพาะช่วงที่ ออกซิเจนดำรงควัตถุสีม่วงที่เรียกว่า Bacteriorhodopsin จะเกิดขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อเซลล์ที่มีรงควัตถุนี้ได้รับแสงสีของรงควัตถุดังกล่าวจะซิดข้างลง และเกิดการเคลื่อนที่ของโปรตอน (H^+)

ออกนอกเซลล์ ทำให้เกิดแรงขับเคลื่อนโปรตอนที่เราเรียกว่า Proton motive force และมีการสร้าง ATP เกิดขึ้นได้

กลุ่มของแบคทีเรียที่ชอบเค็มจัดและมีรูปร่างเซลล์เป็นแบบท่อน ได้แก่ *Halobacterium salinarum*, *H. cutirubrum*, *H. halobium*, *H. trapanicum* ส่วนกลุ่มที่มีรูปร่างเซลล์แบบกลม (Cocci) ได้แก่ *Micrococcus litoralis*, *M. morrhuae*, *M. radiodurans* นอกจากนี้ยังพบอีกว่า *H. cutirubrum* สามารถต้านทานต่อรังสี Ultraviolet และ Ionizing raditions ได้เหมือนกับ *M. radiadurans*

1.1.1 ปัจจัยที่จำเป็นสำหรับการเจริญของแบคทีเรียที่ชอบความเค็มจัด

1.1.1.1 ไอออนิก

เป็นที่ทราบกันมาเป็นระยะเวลาหลายปีแล้วเกี่ยวกับความต้องการเกลือโซเดียม-คลอไรด์ของจุลินทรีย์ชอบเค็มชนิดต่าง ๆ โดยความต้องการเกลือโซเดียมเป็นสิ่งที่จำเพาะเจาะจงสำหรับ จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้และเกลือโซเดียมคลอไรด์ก็ไม่สามารถถูกแทนที่ได้โดยเกลือชนิดอื่นและแบคทีเรียกลุ่มนี้จะไม่สามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือน้อยกว่า 3 โมลาร์ ข้อจำกัดเกี่ยวกับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์จะมีแนวโน้มลดลงอีกจนถึง 1.5 โมลาร์ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์ แต่ไม่สามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 1.0 โมลาร์ ในสภาวะที่อิ่มตัวด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์และความต้องการคลอไรด์จะปรากฏขึ้นเมื่อเกลือโซเดียมรูปอื่น ๆ ไม่สามารถใช้สำหรับการเจริญได้

โพแทสเซียมยังคงมีความจำเป็นสำหรับแบคทีเรียกลุ่มนี้มากที่สุดเช่นกันที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเท่ากับ 50 – 100 ppm เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญมากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามรูปแบบสามารถใช้แทนโพแทสเซียมได้ที่ระดับความเข้มข้น 10 – 100 เท่าของความต้องการโพแทสเซียมในสภาพที่มีการเจริญที่วิกฤต ซึ่งสภาพดังกล่าวจะทำให้โคไลนของแบคทีเรียมีสีซีดจาง ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าโพแทสเซียมจำเป็นสำหรับการสร้างรงควัตถุของ จุลินทรีย์ดังกล่าว

แมกนีเซียมก็จัดเป็นไอออนอีกชนิดหนึ่งที่มีความจำเป็นสำหรับการเจริญ โดยระดับความเข้มข้นของแมกนีเซียมที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ คือ 0.1 – 0.5 โมลาร์ ซึ่งที่ระดับความเข้มข้นนี้ทำให้เซลล์ของแบคทีเรียมีลักษณะรูปท่อนปกติ และที่ระดับความเข้มข้นของแมกนีเซียม

ไอออนที่ค่อนข้างต่ำเซลล์แบคทีเรียจะมีลักษณะทรงกลมซึ่งเป็นลักษณะที่แสดงถึง การตอบสนองต่อภาวะขาดแคลนแมกนีเซียมไอออน แต่รูปร่างของเซลล์จะกลับคืนสู่สภาพเดิมเมื่อ ถูกย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของแมกนีเซียมไอออนที่เหมาะสม การเพาะเลี้ยงในสภาพเขย่าที่ประกอบด้วยไอออนของเหล็กความเข้มข้น 10 ppm จะทำให้ผลผลิตของเซลล์เพิ่มขึ้น และการเจริญจะดียิ่งขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเกลือโซเดียมมีค่าเกินกว่าระดับต่ำสุดของระดับที่ต้องการ และสภาวะที่มีแมกนีสิสในปริมาณเพียงเล็กน้อย (0 – 0.5 ppm) จะช่วยกระตุ้นการเจริญและเพิ่มการสร้างรงควัตถุ

1.1.1.2 อุณหภูมิ

แบคทีเรียชอบเค็มสีแดงเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 37 - 45 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้อัตราและปริมาณการเจริญยังขึ้นกับอุณหภูมิและความเข้มข้นของเกลือด้วย จากการตรวจวัดการเจริญด้วยการวัดความขุ่น พบว่า ที่อุณหภูมิสูงและความเข้มข้นของเกลือตั้งแต่ 20 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปจะทำให้อัตราการเจริญสูงกว่า และในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมจะ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานวิทยา และเป็นสิ่งที่ชี้ให้เห็นว่าการวัดความขุ่นอาจเป็นวิธีที่ไม่เหมาะสำหรับการตรวจวัดค่าการ เจริญในสภาวะที่แตกต่างกัน

1.1.1.3 ออกซิเจน

ปลา และผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่จมอยู่ในสารละลายเกลือมักไม่เกิดสีแดงของโคโลนีของจุลินทรีย์ชอบเค็ม แต่ส่วนที่โผล่ขึ้นมากลับปรากฏสีแดงให้เห็นถึงความต้องการออกซิเจนของจุลินทรีย์ชอบเค็ม และในการศึกษาก่อนนี้พบว่า การเจริญของแบคทีเรียชอบเค็มเกิดขึ้นบนอาหารแข็ง และไม่ปรากฏการเจริญในอาหารเหลว แต่การเติมอากาศในอาหารเหลวทำให้เกิดการเจริญอย่างรวดเร็ว และได้จำนวนเซลล์ในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการสำหรับการศึกษาทางด้านเคมีและชีวเคมี แต่อย่างไรก็ตามยังคงไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับความต้องการออกซิเจนที่แท้จริงของ จุลินทรีย์ในกลุ่มชอบเค็ม เช่นเดียวกับข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยต่าง ๆ ที่ต้องการสำหรับการเจริญยังคงมีความขัดแย้งกัน เช่น จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญ สามารถเจริญได้ในสภาพอุณหภูมิสูง และเต็มไปด้วยสารละลายเกลือ ซึ่งส่งผลให้ความสามารถการละลายของออกซิเจนมีค่าต่ำกว่าสภาวะปกติ ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นสิ่งที่จำกัดระดับการกวน และความแรงของปั๊มอีกด้วย นั่นหมายถึง การจำกัดประสิทธิภาพในการเติมอากาศนั่นเอง

สิ่งที่น่าสนใจอีกอย่างหนึ่ง คือ ส่วนห่อหุ้มของ Red halophilic rods และการดำรงอยู่ของผนังเซลล์ของ Red halophilic rods ส่วนห่อหุ้มของจุลินทรีย์กลุ่มนี้ไม่มี DAP และกรดมิวรามิก ซึ่งเป็นสิ่งที่สามารถนำมาพิจารณาถึงการคงสภาพอยู่ได้ของผนังเซลล์ได้ จากข้อมูลที่ได้ศึกษาในอดีตระบุว่าผนังเซลล์สามารถนำมาศึกษาได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และพบว่าที่ความเข้มข้นของเกลือต่ำกว่า 1.6 โมลาร์ ทำให้ผนังเซลล์เริ่มแตกตัวด้วย ลักษณะทางกายภาพและเคมีของผนังเซลล์ทำให้สามารถอธิบายถึงการคงสภาพอยู่ได้ของผนังเซลล์ได้มากยิ่งขึ้น และจุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกับ Eubacteria ที่ผ่านมารายงานเกี่ยวกับ Anaerobic halophilic bacteria นั้นมีอยู่น้อยมาก แต่ยังพอมีรายงานเกี่ยวกับ Strict anaerobe non-motile rod ว่าไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่ำกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมต่อการเจริญมีค่าเท่ากับ 12 – 15 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีรายงานที่กล่าวถึง Facultatively anaerobic halophile ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่เจริญในสภาวะที่ก้ำกึ่งละลายในน้ำเกลือได้ต่ำ แต่ยังไม่มีการนำเสนอข้อมูลมากนัก

อย่างไรก็ตามได้มีรายงานถึงการแยกเชื้อ Anaerobic bacteria หลายชนิดจากตะกอนใต้ทะเลเดดซี ซึ่งเชื้อเหล่านี้จะทำหน้าที่เป็น Lactose fermented methane producers, Denitrifiers sulphate reducers และ Cellulose decomposers แต่ข้อมูลต่างๆ เหล่านี้ยังมีอยู่น้อยมาก และการปรากฏของเชื้อเหล่านี้ก็มีระยะเวลาที่ไม่ยาวนานมากนัก ในขณะที่เดียวกันก็พบว่าการรายงานถึงแบคทีเรียในกลุ่ม Non-sporing rod ที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์อย่างน้อยที่สุด 15 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพไร้อากาศ แต่ไม่ปรากฏว่ามีการศึกษาหรือเสนอข้อมูลเพิ่มเติมในระยะเวลาต่อมา

1.2 แบคทีเรียที่ชอบความเค็มปานกลาง (Moderate halophilic bacteria)

แบคทีเรียที่ชอบความเค็มปานกลางไม่สามารถเจริญได้โดยปราศจากการเติมเกลือ ความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมต่อการเจริญมีค่าอยู่ระหว่าง 3 – 5 เปอร์เซ็นต์ มีการศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ชอบเค็มปานกลางในกลุ่ม Denitrification อย่างกว้างขวางในประเทศญี่ปุ่น แต่รายงานต่างๆ มักมุ่งเน้นถึงการศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาของ *Pseudomonas* strain No. 101 และ *Micrococcus* sp. No. 203 ถึงแม้จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะถูกศึกษาโดยหลายคนในสภาพของแบคทีเรียทนเค็มและแบคทีเรียชอบเค็ม แต่สามารถเจริญได้ดีที่ความเข้มข้นของเกลือ 10 เปอร์เซ็นต์ หรือบางทีอาจถูกศึกษาในสภาพมอดเคอเรทฮาโลไฟล์ด้วย

แบคทีเรียที่ชอบความเค็มปานกลาง มีความต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์ แบบ เาะจง *Micrococcus halodentificans* ไม่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นเกลือ 1.75 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่านี้ ความเข้มข้นของเกลือที่ต่ำที่สุดที่สามารถเจริญได้ คือ 4.5 เปอร์เซ็นต์ แต่เจริญได้ดีที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 23 เปอร์เซ็นต์ แต่จะไม่สามารถเจริญได้ถ้ามีเกลือ พวก NaBr, NaNO₃, LiCl และ KCl การอยู่รอดของเชื้อขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเกลือที่ใช้

2. ปัญหาการบำบัดน้ำเสียที่มีเกลือปนเปื้อนโดยกระบวนการทางชีวภาพ

เกลือเป็นสารที่ก่อให้เกิดผลกระทบและความยุ่งยากในการบำบัดน้ำเสียโดยกระบวนการทางชีวภาพ โดยปัญหาหลักที่เกิดขึ้นสามารถสรุปได้ดังนี้

- จุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไปมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของ อีออน พบว่า การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเกลืออย่างรวดเร็ว 0.5 - 2 เปอร์เซ็นต์ทำให้ยับยั้งประสิทธิภาพของระบบบำบัดอย่างมีนัยสำคัญ ก่อให้เกิดของแข็งแขวนลอยในน้ำออกเพิ่มมากขึ้น และสูญเสียของแข็งระเหย (Volatile solids) ในถังปฏิกรณ์ จึงจำเป็นต้องปรับสภาพจุลินทรีย์ให้คุ้นเคยกับน้ำเสียที่มีความเค็ม Kincannon and Gaudy (1968) และต้องมีถึงปรับสภาพน้ำเสียให้มีความเข้มข้นของเกลือคงที่ก่อนบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็ม Stover and Obayashi (1991)

- การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของเกลือมีแนวโน้มที่จะยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึม และจุลศาสตร์การย่อยสลายภายในเซลล์ การศึกษาการลดลงของอัตราการย่อยสลายจำเพาะของสาร Aliphatic ketones (Acetone propanone butanone) พบว่าปริมาณ สารอินทรีย์ทั้งหมด (TOC) ต่อของแข็งแขวนลอยในถังเดิมอากาศ (MLVSS) ต่อชั่วโมง ลดลงจาก 0.3 mg/l TOC/ mg MLVSS / h เหลือเพียง 0.12 mg/l TOC/ mg MLVSS / h เมื่อเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของเกลือ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ผลจากการลดลงของอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ในถังปฏิกรณ์ดังกล่าว ทำให้ต้องปฏิบัติงานที่ค่า F/M เมื่อบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็ม Stover and Obayashi (1991)

- น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มมักมีปริมาณสารแขวนลอยสูง มีหลายรายงานยืนยันว่า มีปริมาณสารแขวนลอยในน้ำออกสูงเกิน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเกลือสามารถชักนำให้เกิดเซลล์แตก เป็นสาเหตุให้น้ำออกมีปริมาณสารแขวนลอยสูงขึ้น และประชากร โปรโตซัว และจุลินทรีย์ชนิดเส้นใย (Filamentous microorganism) มีจำนวนลดลง ทำให้เกิดฟล็อกได้ไม่ดีเท่าที่ควร Woodland and Irrine (1994)

น้ำเสียที่มีความเค็มสูงเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความยุ่งยากต่อการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการบำบัดแบบธรรมดา เนื่องจากเกลือความเข้มข้นสูงจะไปรบกวนและก่อให้เกิดความผิดปกติของกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์จุลินทรีย์และเป็นสาเหตุของการเกิดพลาสโมไลซิส (Plasmolysis) รวมทั้งการสูญเสียศักยภาพทางด้านการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายมลสารด้วย Kargi and Dincer (1996) ดังนั้นการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มสูงด้วยกระบวนการทางชีวภาพที่อาศัยจุลินทรีย์ธรรมดาทั่วไป จึงมีประสิทธิภาพในการกำจัด COD (Chemical oxygen demand) ที่ค่อนข้างต่ำผลของเกลือต่อประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการทางชีวภาพได้มีการศึกษาและรายงานไว้หลายฉบับ ซึ่งการศึกษาถึงผลของเกลือต่อ ประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียแบบแผ่นหมุนชีวภาพ (Rotating biodisc contractor) ในการบำบัดน้ำเสียชุมชนที่มีการปนเปื้อนของน้ำทะเล และพบว่าระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของระบบแผ่นหมุนชีวภาพ (Rotating biodisc contractor)

ขณะที่ Kargi and Dincer (1996) ที่ทำการศึกษาผลของเกลือต่อประสิทธิภาพการบำบัดด้วยกระบวนการทางชีวภาพของน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยกระบวนการ Fed – batch operation พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือในน้ำเสียทำให้ประสิทธิภาพ และอัตราการกำจัด COD ลดลง

Kincannon and Guady (1968) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือในน้ำเสีย ส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อจุลินทรีย์และประสิทธิภาพในการกำจัด BOD ลดลงประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการเติมสารละลายเกลือ (NaCl) ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ให้กับตะกอนจากน้ำจืด อย่างไรก็ตามเมื่อสภาพการบำบัดปกติของระบบแอกติเวเต็ดสลัดจ์ถูกเปลี่ยนแปลงให้มีความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการให้สารอาหารอาหารของจุลินทรีย์ พบว่าประสิทธิภาพของการกำจัด BOD ลดลงกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเกลืออย่างกะทันหันทำให้เกิดการปลดปล่อยสารอินทรีย์บางอย่างออกนอกเซลล์เป็นผลให้ปริมาณ Soluble COD ในน้ำเพิ่มมากขึ้น และพบว่ามีปริมาณตะกอนแขวนลอยเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ตะกอนที่เกิดขึ้นในสภาพที่มีความเค็มสูงจะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและ โปรตีนต่ำขณะเดียวกันก็มีปริมาณไขมันและอาร์เอ็นเอสูง และการเพิ่มความเข้มข้นของเกลืออย่างรวดเร็วจะให้ผลร้ายมากกว่าการเพิ่มขึ้นที่ระมัดระวัง

Lawton and Eggert (1957) พบว่า น้ำเสียที่มีความเข้มข้นของเกลือเกินกว่า 20 กรัมต่อลิตร ให้ประสิทธิภาพในการกำจัด BOD ต่ำที่สุด ผลของความเค็มต่อกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่มีการเติมอากาศที่ศึกษาโดย Stewart, et al. (1962) พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัด BOD จะลดลงชั่วคราวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเกลืออย่างรุนแรงในสภาวะที่ Organic และ Hydraulic loadings สูง

Ludzack and Noran (1965) ได้ทำการศึกษาถึงความเข้มข้นของเกลือต่อกระบวนการออกซิเดชันแบบแอโรบิก พบว่าความเข้มข้นของเกลือที่มากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้ความสามารถในการลดค่า BOD และประสิทธิภาพในการเกิดฟล็อกลดลง แต่การเกิด Nitrification ค่อนข้างช้า การบำบัดน้ำเสียที่อุดมไปด้วย Halogenate organic ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือที่แตกต่างกันพบว่าประสิทธิภาพในการกำจัด BOD ลดลง เมื่อความเข้มข้นของเกลือในน้ำเสียเพิ่มมากขึ้น (Belkin, et al. , 1993)

Woodlard and Irrine (1994) ศึกษาการบำบัดน้ำเสีย Hypersaline ด้วยจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียชอบเค็มในระบบ SBR และ Biofilm reactor พบว่าที่ระดับความเค็ม 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าประสิทธิภาพการกำจัดฟีนอล ที่ความเข้มข้นของฟีนอลในน้ำเข้า 100 ppm เท่ากับ 99 เปอร์เซ็นต์

Kargi and Uygur (1996) ได้ทดสอบเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เพื่อการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มด้วยระบบ Aerated percolate unit พบว่าจุลินทรีย์กลุ่ม Halobacter ที่ได้จากแอควีเคสสาลต์ มีประสิทธิภาพในการกำจัด COD สูงที่สุด นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของเกลือต่อ ประสิทธิภาพของระบบดังกล่าวมาแล้วในตอนต้น จากการศึกษาจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์เหล่านี้ไม่สามารถดำรงชีพอยู่รอดได้ในสภาพที่มีความเค็มสูง ในการกำจัดสารอินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับน้ำเสียที่มีความเค็มสูงโดยปราศจากการ ทำให้เจือจางจำเป็นต้องอาศัยจุลินทรีย์ชนิดพิเศษ ในสภาพธรรมชาติที่มีความเค็มจัด เช่น Great salt lake และบ่อตากเกลือมักจะมีหลากหลายในจำนวนชนิดของจุลินทรีย์ทนเค็มสูง ซึ่งจุลินทรีย์ทนเค็มและจุลินทรีย์ชอบเค็มเหล่านี้มีเมตาบอลิซึมที่หลากหลายคล้ายกับปฏิกิริยาสำคัญต่างๆ ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบธรรมชาติ

นอกจากนี้ยังพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ เช่น Non – halophilic และ Marine bacteria ในแหล่งดังกล่าวด้วย แบคทีเรียทนเค็มเหล่านี้สามารถทนทานต่อแรงดันออสโมติกของสภาพแวดล้อมที่มีความเค็มสูงได้โดยการสะสมสารละลายบางอย่างไว้ในไซโตพลาสซึม Moderate halophile สะสมไอออนบวกอนินทรีย์หลายชนิด เช่น K^+ และ Na^+ และสารอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น กรดอะมิโน บีเทน และกลีเซอรอล เพื่อการควบคุมแรงดันออสโมซิสภายในเซลล์ ขณะที่ Extreme halophile จะเลือกสะสมโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) แต่ไม่จำเป็นสำหรับการปรับแรงดันออสโมติกแต่อย่างใด จุลินทรีย์ทนเค็มทั้ง 2 กลุ่ม มีความต้องการ Na^+ อย่างจำเพาะสำหรับการดูดซับธาตุอาหาร และควบคุมระดับ pH ของไซโตพลาสซึม

Kubo, et al. (2001) ได้ทดลองคัดแยกตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างดินและน้ำ ซึ่งพบว่าเป็นเชื้อ *Staphylococcus* sp. และ *Bacillus cereus* เจริญได้ดีในอาหารที่เกลือเข้มข้น 0 – 15 เปอร์เซ็นต์ ได้นำเชื้อที่คัดแยกได้ไปบำบัดน้ำเสียที่มีปริมาณเกลือสูงจากโรงงานบิวคอง พบว่าสามารถลดค่า COD ได้ 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดลองเลี้ยงในฟลาสก์ และสามารถลดค่า COD ได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปเลี้ยงในถังทดลองขนาดปริมาตร 1 ลูกบาศก์เมตร โดยใช้เวลาในการทดลอง 7 วัน ที่อุณหภูมิ 23 – 27 องศาเซลเซียส

Dincer and Kargi (2001) ได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพการกำจัด COD ในการบำบัดน้ำเสียที่ประกอบด้วย Diluted Molasses Urea KH_2PO_4 และเกลือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 0 – 10 เปอร์เซ็นต์ ด้วยระบบบำบัดแบบ Rotating biological disc โดยทำการตรวจวัดประสิทธิภาพในการกำจัด COD ภายใต้สภาพการบำบัดที่แตกต่างกัน คือ จำนวนจานหรือพื้นที่ผิวของจานชีวภาพ COD loading rate และความเข้มข้นของเกลือ พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัด COD จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีการเพิ่มจำนวนจานหรือพื้นที่ผิวของจานชีวภาพ แต่จะลดลงเมื่อเพิ่ม COD loading rate และความเข้มข้นของเกลือ นอกจากนี้ยังได้เสนอสมการความสัมพันธ์ของประสิทธิภาพในการกำจัด COD ในฟังก์ชันของจำนวนหรือพื้นที่ผิวของจานชีวภาพ COD loading rate และความเข้มข้นของเกลือ โดยค่าคงที่ต่างๆ ของความสัมพันธ์สามารถหาได้จาก ข้อมูลจากการทดลอง

Neji, et al. (2002) ได้ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตผลิตภัณฑ์จากทะเลด้วยระบบ Fixed – bed reactor พบว่าน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของเกลือมากกว่า 30 กรัมต่อลิตร

ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัด COD ลดลง เนื่องจากการเกิดพลาสมโไลซิสของจุลินทรีย์ การพัฒนาจุลินทรีย์ทนเค็มที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งดังกล่าวโดยอาศัยระบบ Fix – bed reactor สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัด COD ให้มีค่าสูงถึง 87 เปอร์เซ็นต์ และ TOC 99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Kargi and Dincer (1998) ได้ทำการบำบัดน้ำเสียที่ประกอบด้วยเกลือ (NaCl) ในปริมาณต่าง ๆ กัน คือ 0 – 10 เปอร์เซ็นต์ ด้วยระบบ Rotating biodisc unit แบบไหลต่อเนื่อง โดยมีการเติมจุลินทรีย์ทนเค็ม *Halobacter halobium* – Supplement activated sludge culture เพื่อลด อิทธิพลจากเกลือ และทำการตรวจวัดอัตราและประสิทธิภาพในการกำจัด COD ของระบบภายใต้สภาพการบำบัดที่แตกต่างกันดังนี้ คือ A/Q Ratio COD loading rate และ ความเข้มข้นของเกลือ พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดได้ (มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์) โดยการเพิ่มค่า A/Q Ratio (500 – 2,500 ตารางเมตร . ชั่วโมงต่อลูกบาศก์เมตร) แต่ประสิทธิภาพจะลดลงเมื่อ COD loading rate (2,000 – 8,000 กิโลกรัม COD ต่อตารางเมตร.ชั่วโมง) และความเข้มข้นของเกลือเพิ่มมากขึ้น และที่ระดับความเข้มข้นของ COD ที่เข้าสู่ระบบเท่ากับ 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำเป็นต้องมีการเติมอากาศในส่วนของการไหลเพื่อให้เซลล์ของแบคทีเรียทนเค็มอยู่ในสภาพแขวนลอย และทำงานได้ส่วนการสร้างตัวแบบทางคณิตศาสตร์เพื่ออธิบายถึงการดำเนินไปของระบบสามารถทำได้โดยใช้ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบ และผลการยับยั้งจากเกลือที่มีนัยสำคัญเกิดขึ้นที่ระดับ ความเข้มข้นของเกลือ โซเดียมคลอไรด์มากกว่า 3 เปอร์เซ็นต์

Woodlard and Irrine (1995) ได้ศึกษาถึงการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มสูง (มากกว่า 3.5 เปอร์เซ็นต์) ด้วยระบบ Sequencing batch reactor (SBR) โดยใช้จุลินทรีย์ชอบเค็มปานกลาง (Moderate halophilic) ที่คัดแยกได้จาก Great salt lake Utha USA. เพื่อเร่งให้เกิดการสร้างตะกอน Halophilic sludge ในระบบ SBR เป็นเวลา 7 เดือน พบว่าจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายสารประกอบ Phenol ได้มากกว่า 99.5 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำเสียที่มีปริมาณเกลือ 5 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่อัตราการกำจัดขั้วสเตรทอื่น ๆ มีค่าใกล้เคียงกับระบบบำบัดแบบธรรมดาทั่วไป

Intrasungkha, et al. (1999) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารของการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตอาหารทะเลสังเคราะห์ที่มีเกลือเป็นองค์ประกอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ด้วยระบบ Sequencing batch reactor (SBR) ในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาถึงอิทธิพลจากความเค็มต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสรวมทั้งการตอบสนองต่อความเค็มของแบคทีเรียกลุ่มต่าง ๆ ในรูปของประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหาร ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการบำบัดน้ำเสียด้วยระบบ SBR มีประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารดีที่สุดในระดับความเค็มในน้ำเสียนี้น้ำค่าต่ำ คือ 0.2 – 0.3 เปอร์เซ็นต์ และประสิทธิภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสมีค่าลดลงเมื่อระดับความเค็มมีค่าเท่ากับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าประชากรของแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีเปอร์เซ็นต์โมเลกุลของกรดนิวคลีอิกชนิด Guanine + Cytosine ในองค์ประกอบของดีเอ็นเอที่ค่อนข้างสูง และเมื่อมีการเติมอะซิเตทในน้ำเสียพบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารได้รวมทั้งทำให้สัดส่วนของแบคทีเรียในกลุ่ม Beta proteobacterial subclass สูงขึ้นด้วย

วิโรจน์ (2541) ได้ติดตามประชากรของ *Acinetobacter* sp. ในระบบบำบัด Three-stage phoredox ชนิดทนต่อโซเดียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ประชากร *Acinetobacter* sp. ลดลงและหมดจากระบบภายใน 46 ชั่วโมงหลังจากเลี้ยงเชื้อในระบบ

ชฎารัตน์ (2540) ได้ศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของเกลือต่อการกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในกระบวนการแยกทิวเด็คสัลด์จ์แบบฟลอยด์ค็อกซ์ 3 ขั้นตอน พบว่าที่ระดับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0 – 30 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีการกำจัดคาร์บอนอินทรีย์ในรูป COD ลดลงจาก 96.5 เป็น 87.1, 84.0 และ 73.6 เปอร์เซ็นต์ โดยที่การกำจัดไนโตรเจนทั้งหมดลดลงจาก 88.8 เป็น 86.1, 72.5 และ 71.2 เปอร์เซ็นต์

Woodlard and Irrine (1995) ทดสอบการบำบัดน้ำเสียจำลองที่ประกอบด้วย Phenol และเกลือที่ความเข้มข้น 1 – 15 เปอร์เซ็นต์ ด้วยแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกจาก Great salt lake Utha USA ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบ Sequencing batch biofilm reactor โดยจุลินทรีย์ทนเค็ม เหล่านี้จะสร้าง Biofilm บนท่อซีลีโคนที่ใช้เดิมอากาศให้กับถังปฏิกรณ์ พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัด Phenol (99 เปอร์เซ็นต์) ไม่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น

ชั้นของเกลือในน้ำเสียอย่างรวดเร็ว (5 – 15 เปอร์เซ็นต์) สภาพดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า Halophilic bacteria biofilm สามารถบำบัดน้ำเสียที่ความเค็มระดับต่าง ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Kargi and Uygur (1997) ทดสอบการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยโมลาส ความเข้มข้นต่ำ ยูเรีย, KH_2PO_4 , MgSO_4 และเกลือความเข้มข้นต่าง ๆ (1 – 5 เปอร์เซ็นต์ NaCl) ด้วยระบบ Rotating biodisc contractor (RBC) ที่ได้รับการปลูกเชื้อแบคทีเรียทนเค็ม *Halobacter halobium* ปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาตรการบำบัด เพื่อศึกษาผลของการเติมอากาศใน ชั้นของเหลว และความเข้มข้นของเกลือระดับต่าง ๆ (1 ~ 5 เปอร์เซ็นต์) พบว่าการเติมอากาศใน ชั้นของเหลวที่ความเข้มข้นของเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มอัตราการกำจัด COD ได้อย่างมีนัยสำคัญ (71 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับการบำบัดที่ไม่มีการเติมอากาศ (49 เปอร์เซ็นต์) และการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือในน้ำเสียจาก 0 เป็น 5 เปอร์เซ็นต์ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัด COD ลดลงจาก 95 เหลือเพียง 60 เปอร์เซ็นต์

Glass and Silverstein (1998) ศึกษาปฏิกิริยา Denitrification ในน้ำเสียที่มีปริมาณไนเตรท (2,700 5,400 และ 8,200 มิลลิกรัมต่อลิตร $\text{NO}_3 - \text{N}$) Ion strength เท่ากับ 0.8, 2.7 และ 3.0 ตามลำดับ และ Total dissolved solid เท่ากับ 5, 16 และ 18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ด้วยระบบ Sequencing batch reactor (SBR) ในระดับ Bench scale ที่มีการปรับสภาพน้ำเสีย ให้มีค่า pH เท่ากับ 9 พบว่าอัตราการกำจัดไนเตรทลดลงสูงสุดจากระดับ 50 เป็น 19 มิลลิกรัม $\text{NO}_3 - \text{N}$ ต่อ กรัม MLSS ต่อ ชั่วโมง เมื่อปริมาณ Total dissolved solid เพิ่มขึ้น

Belkin, et al. (1993) ทดสอบการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่มีความเค็มสูง (32 กรัมต่อลิตร TDS 550 องศาเซลเซียส) ด้วย Biphasic laboratory bench scale reactor system พบว่าสามารถกำจัด Dissolved organic carbon ได้ 70 และ 84 เปอร์เซ็นต์ ในสถานะที่มีและไม่มี ฟองถ่านกัมมันต์ ตามลำดับ การบำบัดในสภาพไร้อากาศมีความจำเป็นสำหรับทุกระบบการบำบัดทั้งในระดับของการกำจัด Dissolved organic carbon และการกำจัดพิษ ส่วนการบำบัดด้วยระบบอื่น ได้แก่ Activated sludge และ Aerated lagoon reactors ให้ประสิทธิภาพที่คล้ายกัน แต่ในระบบชนิดหลังต้องอาศัยระยะเวลาในการบำบัดที่ยาวนานกว่า แต่ประสิทธิภาพดังกล่าวจะมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มมากขึ้น

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และการเก็บตัวอย่าง

1. ตัวอย่างดิน น้ำ และอาหาร

1.1 ตัวอย่างดิน เก็บตัวอย่างดินที่ 2 ระดับความลึก คือ ระดับความลึกที่ 15 เซนติเมตร และระดับความลึกที่ 30 เซนติเมตร

1.2 ตัวอย่างน้ำ เก็บตัวอย่างจากน้ำทั้งจากการหมักดอง หรือน้ำทิ้งที่มีองค์ประกอบของเกลือในกระบวนการผลิต

1.3 ตัวอย่างอาหาร เก็บตัวอย่างอาหารที่มีเกลือในองค์ประกอบ เช่น ปลาเค็ม ปูเค็ม น้ำนุญ

2. รายละเอียดจุดเก็บตัวอย่าง

โครงการได้เก็บตัวอย่างน้ำและดินจากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 12 แหล่ง รูปตัวอย่างการเก็บตัวอย่างน้ำและดินแสดงในรูปที่ 1 และ 2 ตามลำดับ และรูปจุดเก็บตัวอย่างในจังหวัดเชียงใหม่แสดงในภาคผนวก จุดเก็บตัวอย่างทั้ง 12 แหล่งมีดังนี้

1. ตัวอย่างดินเค็มจากนาเกลือ จ.สมุทรสาคร วันที่ 13 กรกฎาคม 2545
2. ตัวอย่างเกลือ จากเหมืองโปแตส จ.นครราชสีมา วันที่ 22 สิงหาคม 2545
3. อาหารเค็มต่าง ๆ (ปลาร้า ปลาเค็ม น้ำนุญ) วันที่ 28 สิงหาคม 2545
4. ตัวอย่างน้ำจากบริษัทสันติภาพ ต.แม่แฝกใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ วันที่ 3 กันยายน 2545
5. ตัวอย่างดินจากน้ำพุร้อน อ.สันกำแพง จ.เชียงใหม่ วันที่ 9 กันยายน 2545
6. ตัวอย่างดินจากเขื่อนแม่กวง อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ วันที่ 9 กันยายน 2545
7. ตัวอย่างดินจากศูนย์ศึกษาการพัฒนาการห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ วันที่ 9 กันยายน 2545
8. ตัวอย่างดินจาก ต.สันทรายน้อย อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ วันที่ 9 กันยายน 2545
9. ตัวอย่างดินและน้ำจากโรงงานดองผลไม้ 21/1 หมู่ 4 ต.เมืองเก็น อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ วันที่ 15 พฤศจิกายน 2545
10. ตัวอย่างดินและน้ำจากโรงงานดองผลไม้ อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่ วันที่ 9 ธันวาคม 2545
11. ตัวอย่างดินและน้ำจากโรงงานดองไข่เค็ม อ.เมือง จ.เชียงใหม่ (10 มกราคม 2546)
12. ตัวอย่างดินและน้ำจากโรงงานดองผักและผลไม้ดอง อ.เมือง จ.เชียงใหม่ (10 มกราคม 2546)

หมายเหตุ : การเก็บตัวอย่างนอกเหนือจากตัวอย่างน้ำและดินจากโรงงานผักและผลไม้ต้องมีเหตุผลดังนี้

- การเก็บตัวอย่างดินจากน้ำพุร้อน อ.สันกำแพง จ.เชียงใหม่เนื่องจากมีเอกสารอ้างอิงว่าสถานที่พบแบคทีเรียทนร้อนจะสามารถพบแบคทีเรียทนเค็มได้ด้วย
- การเก็บตัวอย่างจากดินจากเขื่อนแม่กวง อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ และ ดินจากศูนย์ศึกษาการพัฒนาการห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ เนื่องจากนำเป็นแหล่งอ้างอิงเพื่อใช้เปรียบเทียบกับแหล่งที่มีเกลือกับที่ไม่มีเกลือ
- การเก็บตัวอย่างจากดินบริเวณต.สันทรายน้อย อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ เนื่องจาก บริเวณนั้นมีการทำนา จึงมีการใช้ปุ๋ยเคมีในการปรับปรุงดินโดยปุ๋ยนั้นอาจจะมีส่วนประกอบของเกลืออยู่ด้วย



รูปที่ 1 ตัวอย่างการเก็บดินที่โรงงานคองผลไม้

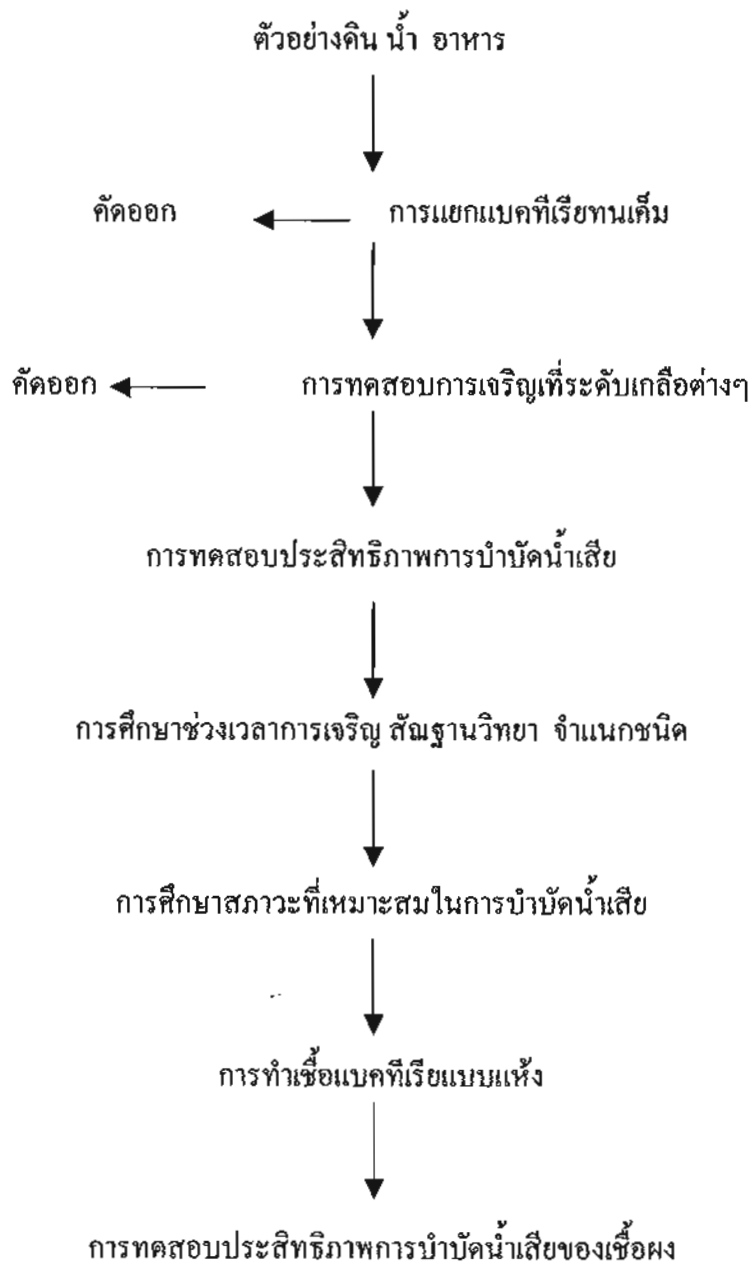
(21/1 หมู่ 4 ต.เมืองเส็น อ.สันทราย จ.เชียงใหม่)



รูปที่ 2 ตัวอย่างการเก็บน้ำจากบริษัทสันติภาพ ฮั่วเฟ่ง
จ. เชียงใหม่

วิธีการทดลอง

การทดลองมีขั้นตอนดังรูปที่ 3 มีรายละเอียดดังนี้



รูปที่ 3 ไคอะแกรมการวิจัย

1. การแยกแบคทีเรียทนเค็ม

1.1 การคัดแยกจากตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดินของโรงงานผักและผลไม้ดอง และบริเวณที่เกี่ยวข้อง ที่ระดับความลึก 15 และ 30 เซนติเมตร มาตัวอย่างละ 1 กรัม นำมาใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร Halophilic broth จำนวน 25 มิลลิลิตร แล้วเขย่าที่ 155 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมงให้นำมาตรวจสอบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ในสารละลายที่เขย่าหรือไม่โดยการตรวจสอบรูปร่างและการติดสีของแบคทีเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่าง การเรียงตัวและการติดสีของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นนำสารละลายที่ได้นำมาเจือจางด้วยอาหารเหลว (Halophilic broth) ตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-6} หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ที่ระดับ 10^{-3} - 10^{-5} มาทำการ Spread ลงบนอาหาร Halophilic agar แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยนำไปทำการ Cross streak plate technique 2 - 3 ครั้ง จากนั้นนำแบคทีเรียทนเค็มที่บริสุทธิ์แล้วเก็บไว้ในอาหาร Halophilic agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

1.2 การแยกจากตัวอย่างน้ำ

ปิเปตตัวอย่างน้ำจำนวน 1 มิลลิลิตร นำมาใส่ขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร Halophilic broth จำนวน 25 มิลลิลิตร แล้วเขย่าที่ 155 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมงให้นำมาตรวจสอบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ในสารละลายที่เขย่าหรือไม่โดยการตรวจสอบรูปร่างและการติดสีของแบคทีเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่าง การเรียงตัวและการติดสีของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นนำสารละลายที่ได้นำมาเจือจางด้วยอาหารเหลว (Halophilic broth) ตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-6} หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ที่ระดับ 10^{-3} - 10^{-5} มาทำการ Spread ลงบนอาหาร Halophilic agar แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยนำไปทำการ Cross streak plate technique 2 - 3 ครั้ง จากนั้นนำแบคทีเรียทนเค็มที่บริสุทธิ์แล้วเก็บไว้ในอาหาร Halophilic agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

1.3 การแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างอาหารที่เป็นอาหารแห้งให้ทำการบดให้ละเอียด จากนั้นชั่งมา 1 กรัม แต่ถ้าวัวเป็นตัวอย่างอาหารที่มีทั้งส่วนทั้งของแข็งและส่วนของเหลวให้ทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียด จากนั้น ปิเปตตัวอย่างจำนวน 1 มิลลิลิตร นำมาใส่ขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร Halophilic broth จำนวน 25 มิลลิลิตร แล้วเขย่าที่ 155 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมงให้นำมาตรวจสอบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ในสารละลายที่เขย่าหรือไม่โดยการตรวจสอบรูปร่างและการติดสีของมียาได้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่าง การเรียงตัวและการติดสีของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นนำสารละลายที่ได้นำมาเจือจางด้วยอาหารเหลว (Halophilic broth) ตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-6} หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ที่ระดับ 10^{-3} - 10^{-5} มาทำการ Spread ลงบนอาหาร Halophilic agar แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยนำไปทำการ Cross streak plate technique 2 - 3 ครั้ง จากนั้นนำแบคทีเรียทนเค็มที่บริสุทธิ์แล้วเก็บไว้ในอาหาร Halophilic agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

2. การทดสอบความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือต่าง ๆ

นำแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ ไปเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth ที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาวัดค่าการเจริญ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ตรวจสอบแล้วคัดเลือกแบคทีเรียทนเค็มที่สามารถเจริญได้ดีที่ระดับความเข้มข้นเกลือสูง

3. การทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้

1. ทำเชื้อเริ่มต้นโดยนำแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำหัวเชื้อเริ่มต้นมา 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 1 ลิตรซึ่งมีตัวอย่าง น้ำเสียจากโรงงานคอกผักและผลไม้ (โรงงานสันติภาพ อ่าวพังงา) 500 มิลลิลิตร โดยมีการปรับ pH ให้เท่ากับ 7 แล้วต่อท่อเครื่องฟั่นอากาศเข้าไปในขวดรูปชมพู่ ไว้ในที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 21 วัน โดยวัดประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ โดยทำการวัดทุก ๆ 3 วัน โดยค่าที่วัด ได้แก่ ค่า FCOD BOD ของแข็งแขวนลอย ปริมาณของแข็งทั้งหมด วิธีวิเคราะห์ใช้ตาม Standard Methods (APHA,)

3. นำแบคทีเรียทนเค็มที่มีประสิทธิภาพในการลดค่า ค่า FCOD BOD ของน้ำแขวนลอย ปริมาณของแข็งทั้งหมด ที่ดีที่สุดมาทำการศึกษาช่วงระยะเวลาการเจริญและจำแนกชนิด

4. การศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรีย

4.1 การศึกษาช่วงระยะเวลาการเจริญ

นำแบคทีเรียมาเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 155 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 ชั่วโมง เพื่อทำ Colony plate count จากนั้นนำค่าที่ได้นำมาทำกราฟการเจริญ

•

4.2 ศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา

นำแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกแล้วมาเลี้ยงบนอาหาร Halophilic agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจดูสีของโคโลนี ลักษณะและขนาดของโคโลนี และการติดสีย้อมแกรม

4.3 การจำแนกชนิดของแบคทีเรียทนเค็มที่คัดเลือก

นำแบคทีเรียทนเค็มที่คัดเลือกมาจำแนกชนิดของแบคทีเรียโดยใช้หลักของ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt, et al., 1995) ใช้ชุดทดสอบ api[®] 20 E (bioMeriux, Inc) ซึ่งเหมาะสมสำหรับการทดสอบ Enterobacteriaceae และ Gram - negative rods และ ชุดทดสอบ api[®] 50 CHB (bioMeriux, Inc)

5. การศึกษาหาสภาพที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อที่ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ดีที่สุด

5.1 การศึกษาหาสภาวะ pH ที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อที่ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ดีที่สุด

1. ทำเชื้อเริ่มต้น โดยนำแบคทีเรียที่ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดที่ดีมาเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth ปริมาตร 20 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำหัวเชื้อเริ่มต้นมา 7.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 ลิตรซึ่งมีตัวอย่าง น้ำเสียจากโรงงานคองคักและผลไม้ (โรงงานสันติภาพฮั่วเฟิง) 150 มิลลิลิตร โดยมีการปรับ pH ในระดับต่างๆ คือ 5, 6, 7 และ 8 แล้วต่อท่อเครื่องฟั่นอากาศเข้าไปในขวดรูปชมพู่ ทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 16 วัน โดยวัดประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ โดยทำการวัดทุก ๆ 4 วัน โดยค่าที่วัด ได้แก่ ค่า FCOD ของน้ำแขวนลอย ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหย วิเคราะห์โดยใช้ตาม Standard Methods (APHA,)

5.2 การศึกษาหาระดับความเข้มข้นของน้ำเสียที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อที่ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ดีที่สุด

1. ทำเชื้อเริ่มต้น โดยนำแบคทีเรียที่ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดที่เดิมมาเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth ปริมาตร 20 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. นำหัวเชื้อเริ่มต้นมา 7.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 ลิตรซึ่งมีตัวอย่าง น้ำเสียจากโรงงานคองคักและผลไม้ (โรงงานสันติภาพฮั่วฟ่ง) 150 มิลลิลิตร โดยมีการปรับ pH อยู่ในช่วง 7.2 จากนั้นทำการเจือจางน้ำเสียโดยทำการกำหนดเปอร์เซ็นต์ 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ แล้วต่อท่อเครื่องพ่นอากาศเข้าไปในขวดรูปชมพู่ ไว้ในที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นเวลา 16 วัน โดยวัดประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ โดยทำการวัดทุก ๆ 4 วัน โดยค่าที่วัด ได้แก่ ค่า FCOD ของแข็งแขวนลอย ปริมาณของแข็งทั้งหมด และ ปริมาณของแข็งระเหย วิเคราะห์โดยใช้ตาม Standard Methods (APHA,)

6. การศึกษาการทำเชื้อแบคทีเรียทนเค็มแบบแห้ง

1. ทำเชื้อเริ่มต้น โดยนำแบคทีเรียที่ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดที่ดีที่สุดมาเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. นำหัวเชื้อเริ่มต้นมา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ซึ่งมีอาหาร Halophilic broth ปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยมีการปรับ pH และทำการเขย่าเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงให้เชื้ออยู่ในช่วงของการเจริญ Stationary phase
3. ทำการแยกเซลล์ของเชื้อที่ผ่านการเขย่าแล้วโดยการล้างเซลล์โดยใช้น้ำเกลือที่มีความเข้มข้น 0.89 % (w/v)
4. จากนั้นนำเซลล์ที่ได้จากการล้างเซลล์ไปใส่อาหาร Skim milk โดยใช้ปริมาณของอาหาร Skim milk ในปริมาตร 10 มิลลิลิตร ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้น 100 มิลลิลิตร และทำให้ส่วนผสมเข้ากัน
5. นำไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง
6. นำเชื้อที่ผ่านการทำเยือกแข็ง มาทำให้แห้งโดยอาศัยเครื่องมือ Freeze dry แสดงในรูปแบบที่ 4 ซึ่งเครื่องมือชนิดนี้จะทำงานโดยอาศัยหลักการระเหิดภายใต้ระบบความดันสูง



รูปที่ 4 เครื่อง Freeze dry (Dura-Dry)

7. การทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อผง

1. ทำเชื้อเริ่มต้นจากแบคทีเรียที่ทำผงแห้งมาเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth โดยจะใช้หัวเชื้อเริ่มต้นในการทดสอบ 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำหัวเชื้อเริ่มต้นมา 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ใส่ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานคองค็อกและผลไม้ (โรงงานสันติภาพฮั่วเฟ่ง) 150 มิลลิลิตร โดยมีการปรับ pH ให้เท่ากับ 7.2 แล้วต่อท่อเครื่องฟั่นอากาศเข้าไปในขวดรูปชมพู่ ทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 16 วัน โดยวัดประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ โดยทำการวัดทุก ๆ 4 วัน โดยค่าที่วัด ได้แก่ ค่า FCOD ของแข็งแขวนลอย ปริมาณของแข็งทั้งหมด และ ปริมาณของแข็งระเหย

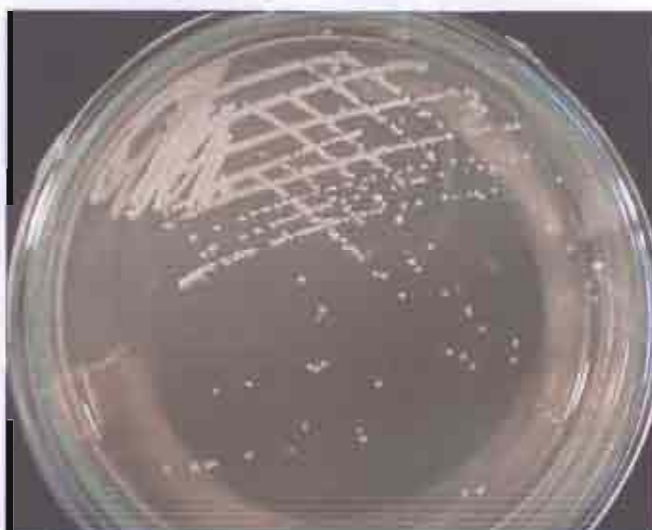
ผลการทดลอง

1. การคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่าง

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างดิน 8 ตัวอย่าง น้ำ 2 ตัวอย่าง และอาหาร 3 ตัวอย่าง ด้วยอาหาร Halophilic agar ที่ประกอบด้วยเกลือ 5 % (รูปตัวอย่างการคัดแยกเชื้อบนอาหาร Halophilic agar และรูปวิธีการทำให้เชื้อบริสุทธิ์ โดยวิธี cross streak plate technique แสดงในรูปที่ 5 และ 6 ตามลำดับ) สามารถแยกแบคทีเรียทนเค็มได้จำนวน 34 ไอโซเลต แสดงในตารางที่ 1



รูปที่ 5 ตัวอย่างการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Halophilic agar ของตัวอย่างน้ำจากบริษัทสันติภาพ



รูปที่ 6 การทำเชื้อบริสุทธิ์ โดยวิธี Cross streak plate technique ของเชื้อ W₁B₁

ตารางที่ 1 แบบที่เรีบทนเค็มที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำเสีย คิน และอาหารที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่ความเข้มข้นสูงเป็นองค์ประกอบในกระบวนการผลิต

จุดเก็บตัวอย่าง	เชื้อที่แยกได้
- ตัวอย่างน้ำจากบริษัทสันติภาพ ต.แม่แฝกใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	W_1B_1
- ตัวอย่างคินจากน้ำพุร้อน อ.สันกำแพง จ.เชียงใหม่	S_1B_1, S_1B_2
- ตัวอย่างคินจากเขื่อนแม่กวง อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่	$S_2B_1, S_2B_2, S_2B_3, S_2B_4, S_2B_5, S_2B_6, S_2B_7, S_2B_8, S_2B_9$
- ตัวอย่างคินจากศูนย์ศึกษาการพัฒนาการห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ	$S_3B_1, S_3B_2, S_3B_3, S_3B_4, S_3B_5$
- ตัวอย่างคินจาก ต.สันทรายน้อย อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	S_4B_1, S_4B_2, S_4B_3
- คินเค็มจากนาเกลือ จ.สมุทรสาคร	S_5B_1
- เกลือ จากเหมืองโปแตส จ.นครราชสีมา	S_6B_1
- อาหารเค็มต่างๆ	
- ปลาร้า	F_1B_1
- ปลาเค็ม	F_2B_1
- น้ำบูดู	F_3B_1
- ตัวอย่างคินจากโรงงานคองผลไม้ 21/1 หมู่ 4 ต.เมืองเส้น อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	$S_7B_1, S_7B_2, S_7B_3, S_7B_4$
- ตัวอย่างน้ำจากโรงงานคองผลไม้ 21/1 หมู่ 4 ต.เมืองเส้น อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	W_2B_1
- ตัวอย่างคินโรงงานคองผลไม้ อ.สันป่าคอง จ.เชียงใหม่	S_8B_1, S_8B_2, S_8B_3
- ตัวอย่างน้ำจากโรงงานคองผลไม้ อ.สันป่าคอง จ.เชียงใหม่	W_3B_1

หมายเหตุ F - ตัวอย่างอาหารที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่ความเข้มข้นสูงเป็นองค์ประกอบในกระบวนการผลิต
 S - ตัวอย่างคิน
 W - ตัวอย่างน้ำ

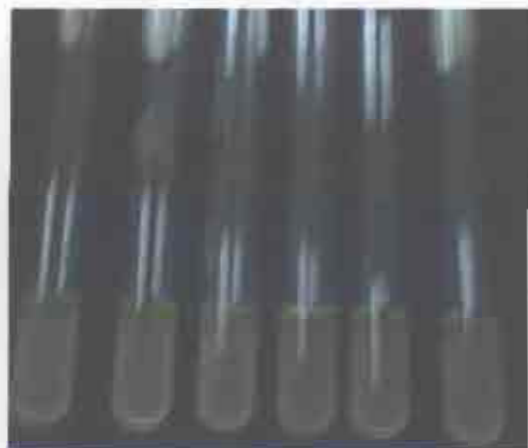
2. การทดสอบการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มแต่ละไอโซเลทที่คัดแยกได้เมื่อทำการทดสอบในช่วงระดับความเค็ม 0 - 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

เมื่อนำแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทคัดแยกได้และทำให้บริสุทธิ์แล้วจากการ Cross streak plate technique มาทำการศึกษาการเจริญโดยเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth ที่มีเกลือเป็นส่วนผสมที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (แสดงในรูปที่ 7) และวัดค่าการเจริญด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่นแสง 660 นาโนเมตร ผลการทดลองขั้นตอนนี้แสดงในตารางที่ 2 และสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่ทนความเค็มได้ในช่วงกว้างจำนวน 10 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดิน 8 ไอโซเลท คือ S_2B_3 , S_7B_1 , S_7B_2 , S_7B_3 , S_7B_4 , S_8B_1 , S_8B_2 และ S_8B_3 และเป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากน้ำ 2 ไอโซเลท W_2B_1 , W_3B_1

ตารางที่ 2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรของเชื้อที่ความเข้มข้นของเกลือระดับต่าง ๆ

รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของเกลือ (เปอร์เซ็นต์)					
	0	5	10	15	20	25
W_1B_1	0.82	1.098	0.339	0.185	0.127	0.057
W_2B_1	<u>0.427</u>	<u>1.006</u>	<u>0.606</u>	<u>0.278</u>	<u>0.061</u>	<u>0.053</u>
W_3B_1	<u>0.222</u>	<u>0.788</u>	<u>0.884</u>	<u>0.408</u>	<u>0.233</u>	<u>0.315</u>
S_1B_1	0.283	0.69	0.718	0.104	0.108	0.025
S_1B_2	1.065	0.577	0.412	0.083	0.018	0.002
S_2B_1	0.163	0.629	0.378	0.017	0.096	0.045
S_2B_2	0.113	1.129	0.182	0.069	0.07	0.106
S_2B_3	0.906	0.821	0.666	0.02	0.083	0.021
S_2B_4	0.709	0.88	0.308	0.142	0.079	0.149
S_2B_5	0.865	0.471	0.367	0.623	0.219	0.129
S_2B_6	0.618	0.8	0.275	0.259	0.152	0.085
S_2B_7	0.422	0.68	0.427	0.253	0.121	0.084
S_2B_8	0.594	0.426	0.2	0.338	0.132	0.045
S_2B_9	0.928	1.11	0.631	0.413	0.138	0.044
S_3B_1	<u>0.57</u>	<u>0.354</u>	<u>0.18</u>	<u>0.094</u>	<u>0.154</u>	<u>0.04</u>
S_3B_2	0.745	1.197	1.179	1.029	0.228	0.111
S_3B_3	0.476	0.807	0.941	0.185	0.158	0.132
S_3B_4	0.425	0.461	0.482	0.302	0.122	0.018
S_3B_5	0.231	0.461	0.42	0.411	0.058	0.052

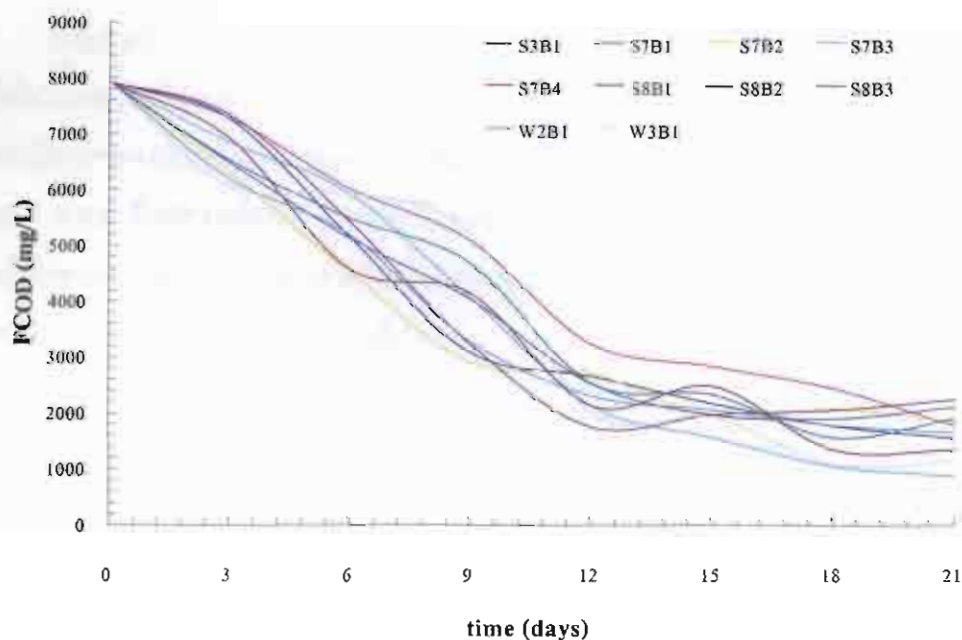
S ₄ B ₁	0.918	0.863	0.174	0.249	0.154	0.168
S ₄ B ₂	0.234	0.295	0.295	0.087	0.03	0.087
S ₄ B ₃	0.206	1.334	1.164	0.234	0.091	0.072
S ₅ B ₁	0.202	0.864	0.507	0.361	0.15	0.09
S ₆ B ₁	0.519	0.511	0.152	0.091	0.142	0.028
S ₇ B ₁	<u>0.632</u>	<u>0.754</u>	<u>0.86</u>	<u>0.202</u>	<u>0.162</u>	<u>0.256</u>
S ₇ B ₂	<u>0.629</u>	<u>0.299</u>	<u>0.203</u>	<u>0.231</u>	<u>0.202</u>	<u>0.098</u>
S ₇ B ₃	<u>0.792</u>	<u>0.629</u>	<u>0.548</u>	<u>0.243</u>	<u>0.135</u>	<u>0.087</u>
S ₇ B ₄	<u>0.934</u>	<u>0.819</u>	<u>0.717</u>	<u>0.302</u>	<u>0.364</u>	<u>0.096</u>
S ₈ B ₁	<u>0.996</u>	<u>1.235</u>	<u>1.309</u>	<u>0.657</u>	<u>0.342</u>	<u>0.278</u>
S ₈ B ₂	<u>0.414</u>	<u>1.453</u>	<u>0.761</u>	<u>0.569</u>	<u>0.285</u>	<u>0.274</u>
S ₉ B ₃	<u>0.797</u>	<u>0.335</u>	<u>1.197</u>	<u>0.596</u>	<u>0.319</u>	<u>0.241</u>
F ₁ B ₁	0.947	0.741	0.12	0.325	0.229	0.1
F ₁ B ₂	0.955	0.557	0.271	0.092	0.227	0.142
F ₁ B ₃	0.346	0.584	0.325	0.187	0.197	0.08



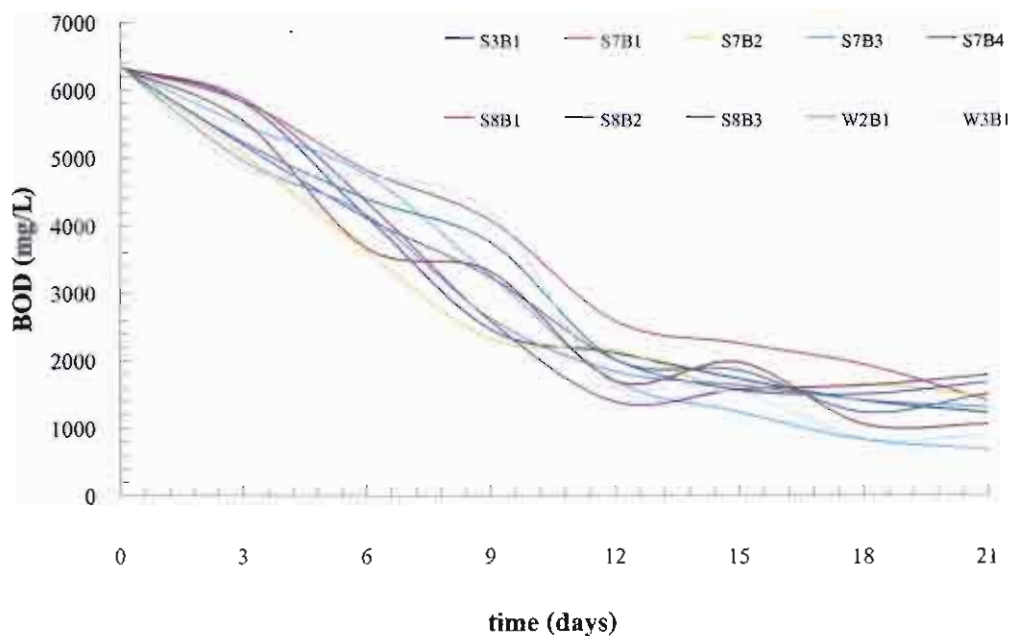
รูปที่ 7 ลักษณะการเจริญของเชื้อในอาหาร Halophilic broth ที่มี
ความเข้มข้นเกลือระดับ 0 - 25 เปอร์เซ็นต์

3. ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของโรงงานคองผักโดยเชื้อแบคทีเรียทนเค็ม

ผลการทดลองในข้อ 2 สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่ทนความเค็มได้ในช่วงกว้างจำนวน 10 ไอโซเลต คือ S_2B_3 , W_2B_1 , W_3B_1 , S_7B_1 , S_7B_2 , S_7B_3 , S_7B_4 , S_8B_1 , S_8B_2 และ S_8B_3 หลังจากนั้นนำเชื้อที่คัดเลือกทั้ง 10 ไอโซเลต มาเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานคองผัก 21 วัน โดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกะ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสีย โดยทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 วัน เพื่อวิเคราะห์ค่า FCOD BOD ของแข็งแขวนลอย และ ปริมาณของแข็งทั้งหมด จากการทดลองพบว่าเชื้อทุกไอโซเลตสามารถลดค่า FCOD ได้ โดยจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 6 วันแรก และตั้งแต่วันที่ 12 จะมีการลดลงน้อย เชื้อที่มีประสิทธิภาพดี 3 อันดับแรก คือ S_7B_3 (คัดแยกจากตัวอย่างดินโรงงานคองผลไม้ อ.สันทราย), W_3B_1 (คัดแยกจากตัวอย่างน้ำโรงงานคองผลไม้ อ.สันป่าตอง) และ S_8B_1 (คัดแยกจากตัวอย่างดินโรงงานคองผลไม้ อ.สันป่าตอง) มีประสิทธิภาพในการลดค่า FCOD ดีที่สุด คือจาก 7,920 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 857, 1,118 และ 1,324 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงในรูปที่ 8 และ BOD จาก 6,300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 686, 894 และ 1,059 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงในรูปที่ 9

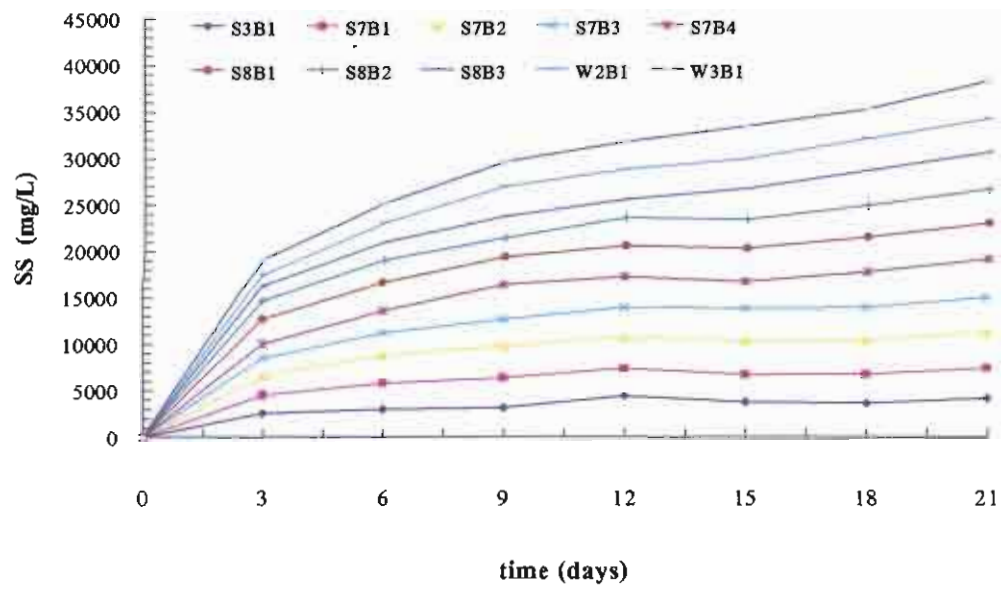


รูปที่ 8 ปริมาณการเปลี่ยนแปลง FCOD ของแบคทีเรียทนเค็ม 10 ไอโซเลตที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานคองผักเป็นระยะเวลา 21 วัน



รูปที่ 9 ปริมาณการเปลี่ยนแปลง BOD ของแบคทีเรียทนเค็ม 10 ไอโซเลทที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานคองผักและผลไม้เป็นระยะเวลา 21 วัน

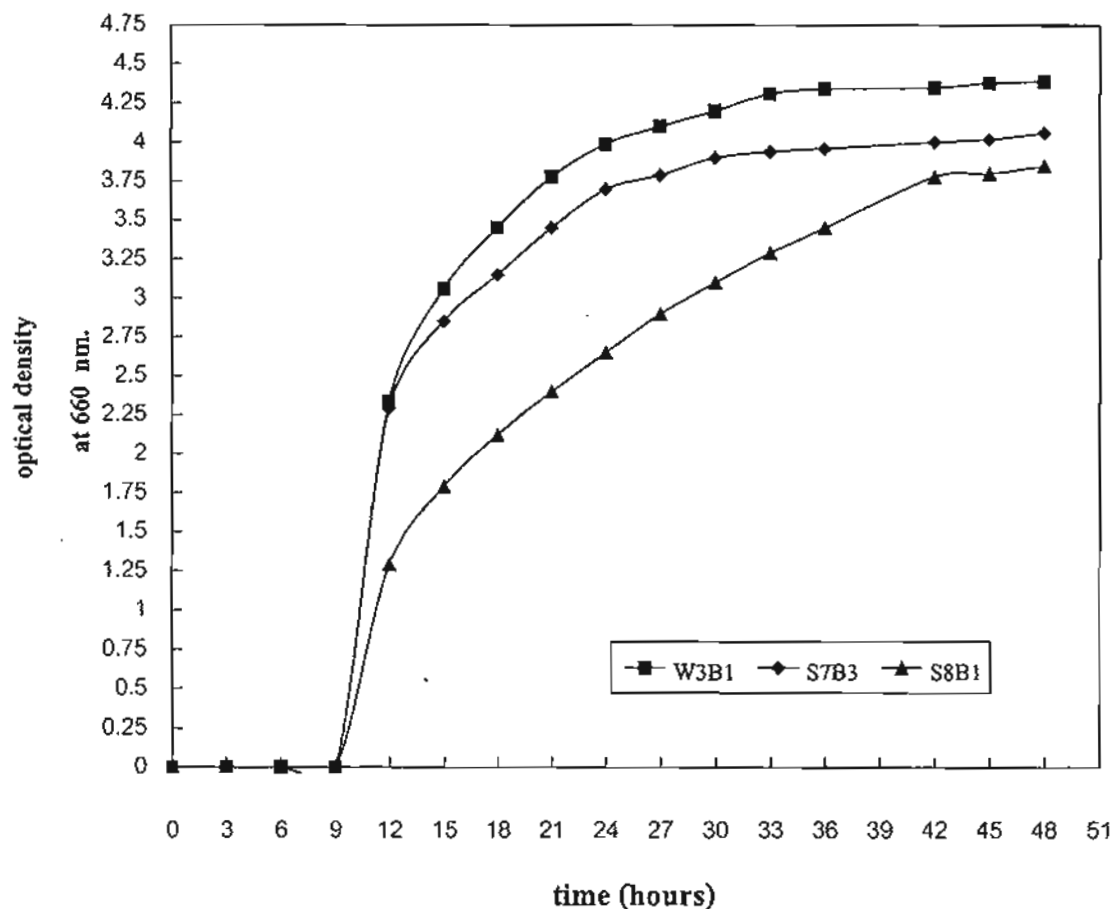
นอกจากนี้การวัดค่าปริมาณของแข็งแขวนลอยของน้ำเสียที่บำบัดด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 10 ไอโซเลท พบว่าปริมาณของแข็งแขวนลอยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (เนื่องจากก่อนทำการทดลองมีการกรองน้ำที่นำมาบำบัดก่อน เพื่อกำจัดเชื้อแบคทีเรียตัวอื่นออกก่อน) เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 2,500 – 4,200 มิลลิกรัมต่อลิตร (แสดงในรูปที่ 10) ซึ่งการที่ค่าของแข็งแขวนลอยเพิ่มขึ้นแสดงว่าแบคทีเรียสามารถเจริญโดยใช้แร่ธาตุในน้ำเสียที่นำมาบำบัดเป็นอาหารและในขณะเดียวกันก็ช่วยลดค่า FCOD และ BOD ดังที่กล่าวมาข้างต้น



รูปที่ 10 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของแข็งแขวนลอยทั้งหมดของแบคทีเรียทนเค็ม 10 ไอโซเลท
ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานคองคักและผลไม้เป็นระยะเวลา 21 วัน

4. การศึกษาช่วงระยะเวลาการเจริญ

การศึกษาระยะการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 3 ไอโซเลต ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียได้ดีที่สุด 3 อันดับแรก คือ S_7B_3 , W_3B_1 และ S_8B_1 แสดงในรูปที่ 11 พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต มีช่วงระยะ Lag phase อยู่ในช่วง 3-9 ชั่วโมง และ Log phase อยู่ในช่วง 9-16 ชั่วโมง

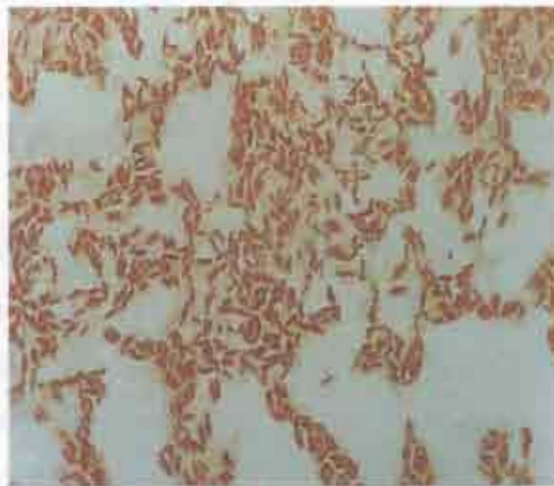


รูปที่ 11 ช่วงระยะเวลาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทนเค็มไอโซเลต S_7B_3 , W_3B_1 และ S_8B_1

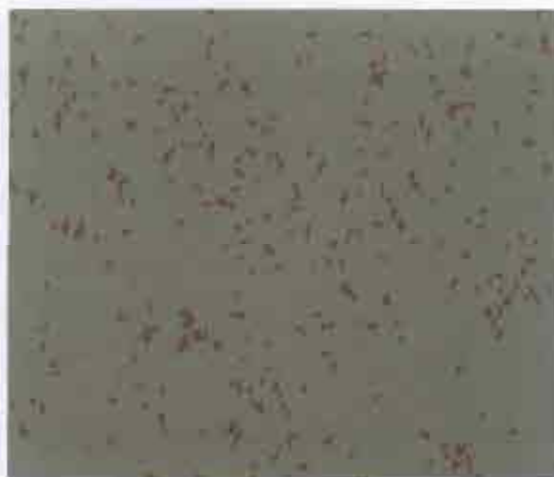
5. การจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ดีที่สุด

การทดสอบการจำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่า เชื้อรหัส W₃B₁ ทดสอบตามหลัก API 50 CHB จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Bacillus cereus* แสดงในรูปที่ 12 ส่วนเชื้อรหัส S₇B₃ และ S₈B₁ ใช้วิธีการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยเปรียบเทียบกับ Bergey 's Manual of Determinative Bacteriology และชุดทดสอบ ชุดทดสอบ api[®] 20 E (bioMeriux, Inc) พบว่า เชื้อรหัส S₇B₃ จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Pseudomonas fluorescens* แสดงในรูปที่ 13 ส่วนเชื้อรหัส S₈B₁ จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Enwinia cupripedii* แสดงในรูปที่ 14

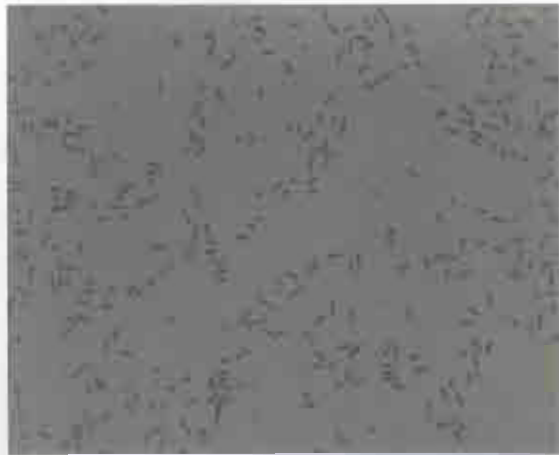
๘



รูปที่ 12 แบคทีเรีย รหัส W₃B₁ (*Bacillus cereus*)



รูปที่ 13 แบคทีเรียรหัส S₇B₃ (*Pseudomonas fluorescens*)



รูปที่ 14 แบคทีเรีย รหัส S₈B₁ (*Erwinia carotovora*)

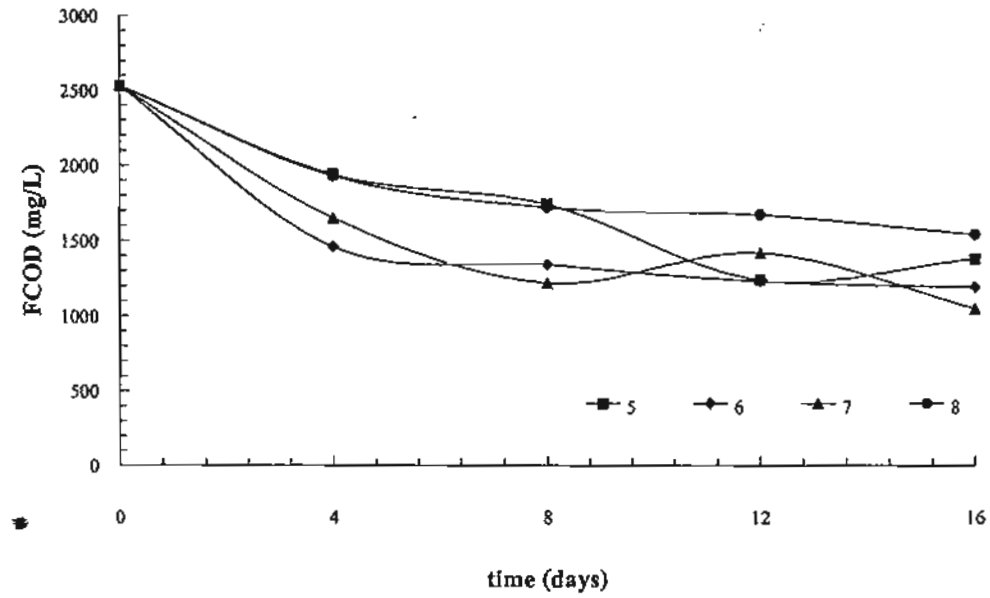
6. การศึกษาหาสภาพที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อที่ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ดีที่สุด

เชื้อที่นำมาใช้ในการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสม คือ แบคทีเรีย รหัส S₇B₃ (*Pseudomonas fluorescens*) แบคทีเรีย รหัส W₃B₁ (*Bacillus cereus*) และแบคทีเรีย รหัส S₈B₁ (*Erwinia carotovora*) ซึ่งเป็นเชื้อที่ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียดีที่สุดจากการคัดจากเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 34 ไอโซเลต

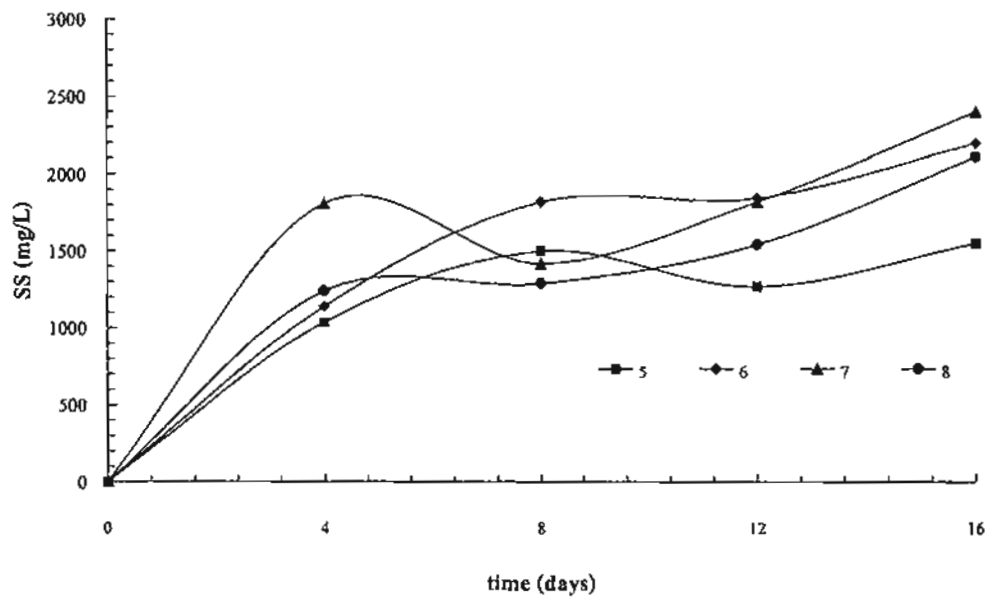
6.1 การศึกษาหาสภาวะ pH ที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อที่ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ดีที่สุด

ผลการศึกษาสภาพ pH ที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย โดยศึกษา pH 5, 6, 7 และ 8 และทำการวัดหาประสิทธิภาพในการบำบัดโดยวัดค่า FCOD ปริมาณของแข็งแขวนลอย ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหย ทำการตรวจวัดทุก ๆ 4 วัน เป็นเวลา 20 วัน ผลการทดลองพบว่า S₇B₃ สามารถลดค่า FCOD ได้ดีที่สุดที่ pH เท่ากับ 7 (รูปที่ 15) W₃B₁ สามารถลดค่า FCOD ได้ดีที่สุดที่ pH เท่ากับ 6 (รูปที่ 19) และ S₈B₁ สามารถลดค่า FCOD ได้ดีที่สุดที่ pH เท่ากับ 7 (รูปที่ 23)

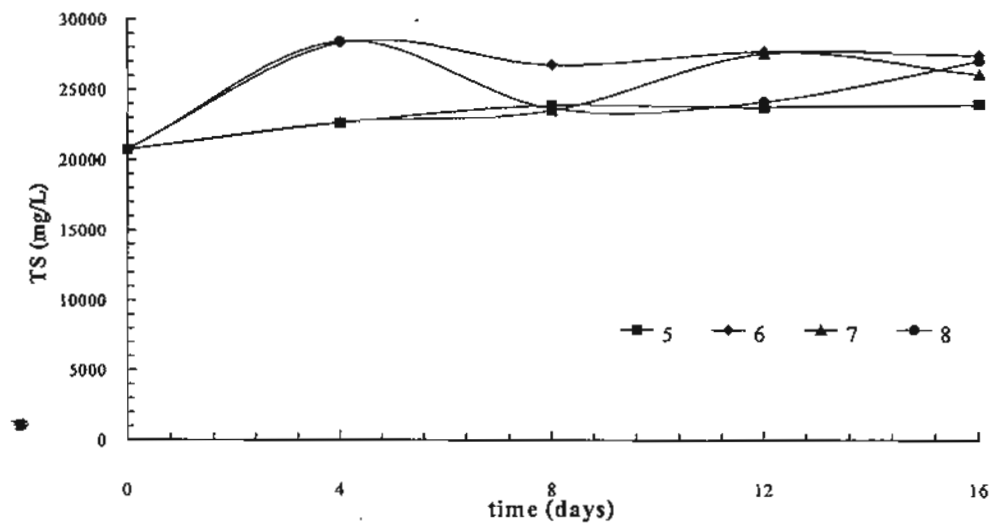
ผลการศึกษาปริมาณของแข็งแขวนลอย ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหย ของน้ำเสียที่บำบัดด้วย S₇B₃ (รูปที่ 16-18), W₃B₁ (รูปที่ 20-22) และ S₈B₁ (รูปที่ 24-26) ที่ช่วง pH 5-8 พบว่าปริมาณของแข็งแขวนลอย ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหย ของน้ำเสียที่บำบัดด้วยเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลตมีค่าเพิ่มขึ้น แสดงว่าเชื้อสามารถเจริญโดยใช้แร่ธาตุในน้ำเสียเป็นสารอาหารได้



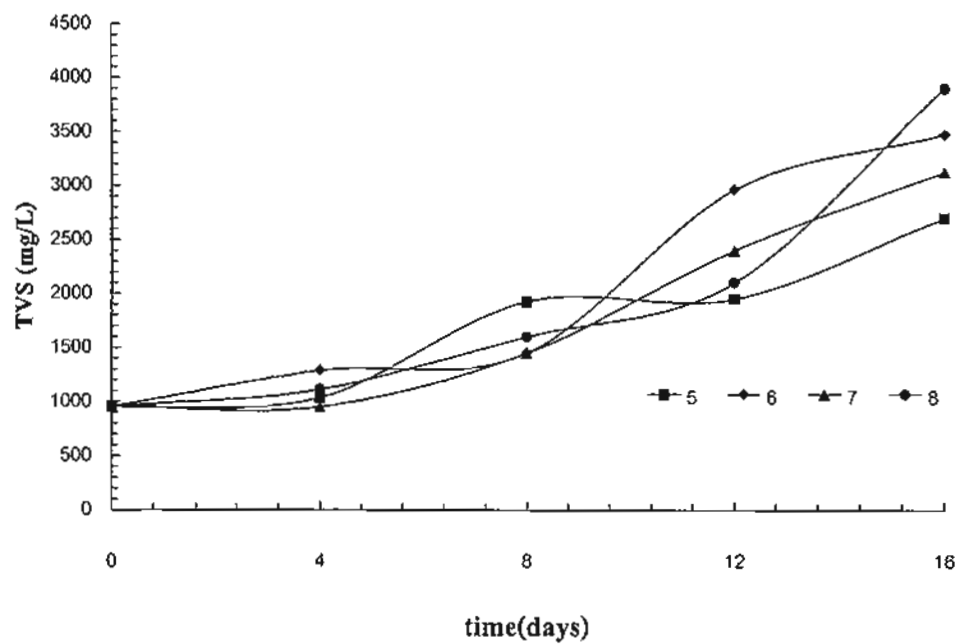
รูปที่ 15 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD โดยแบคทีเรียรหัส S_8B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8



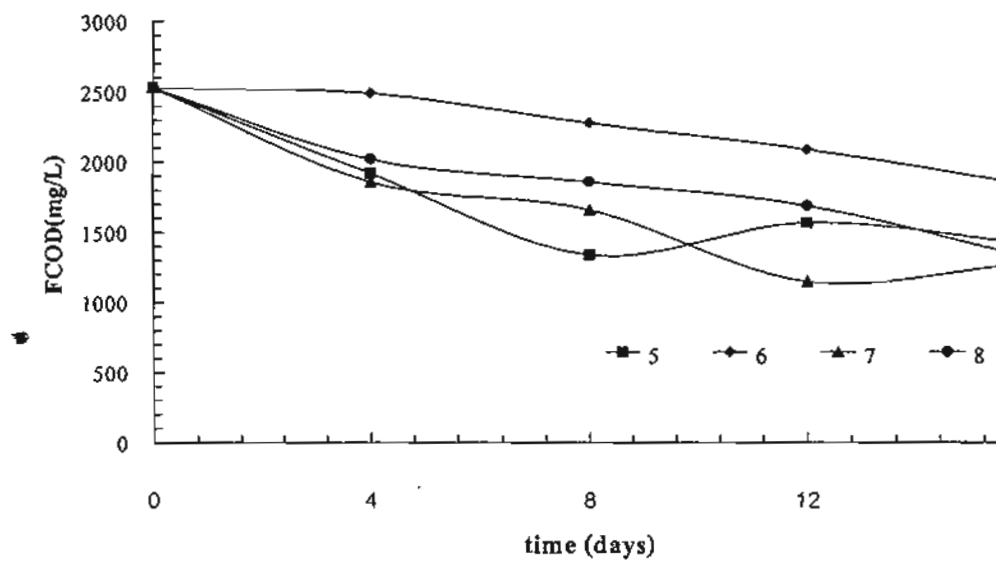
รูปที่ 16 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียรหัส S_8B_1 ที่ ช่วง pH 5 - 8



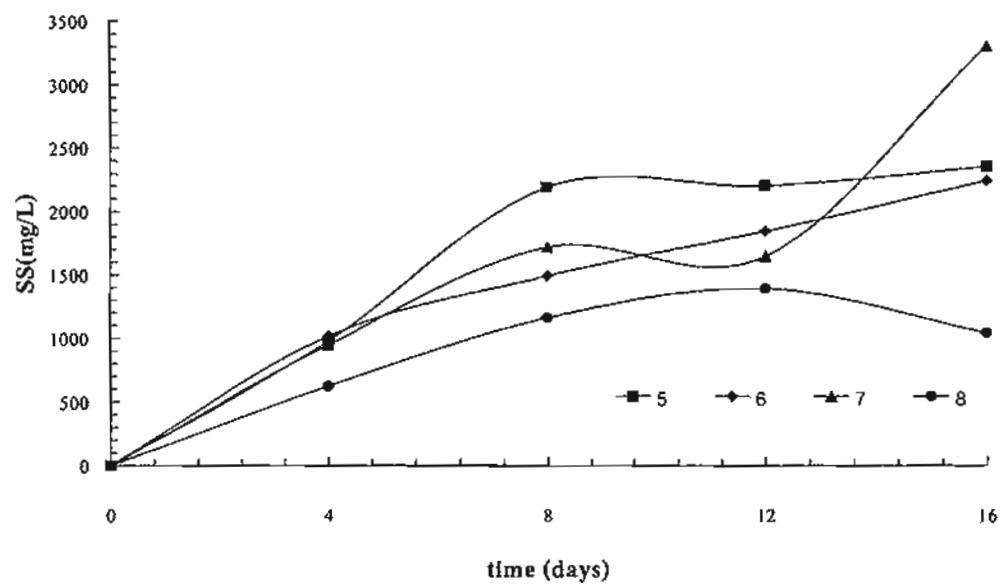
รูปที่ 17 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียห้ำ S_7B_3 ที่ช่วง pH 5 - 8



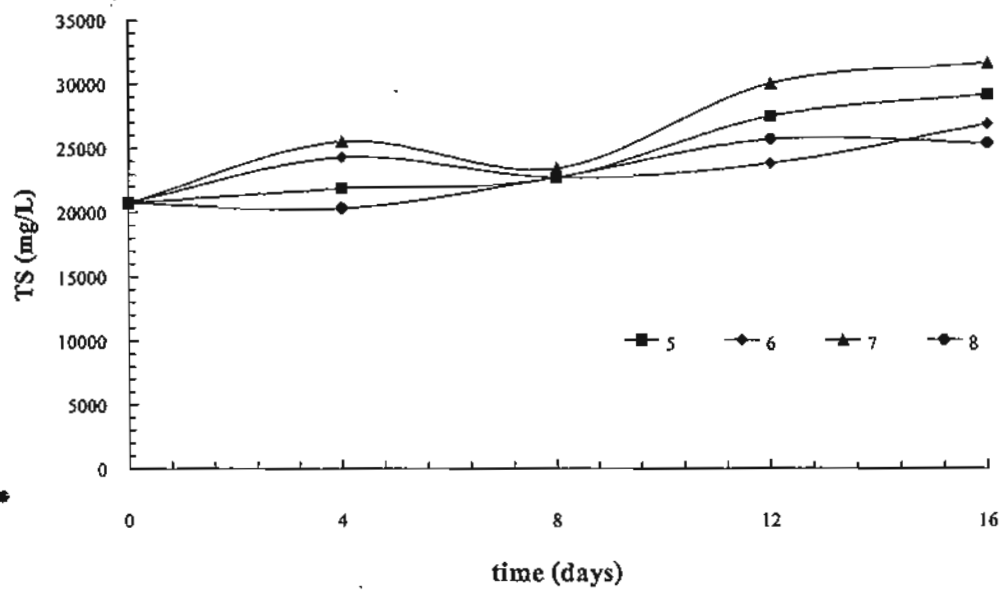
รูปที่ 18 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (TVS) โดยแบคทีเรียห้ำ S_7B_3 ที่ช่วง pH 5 - 8



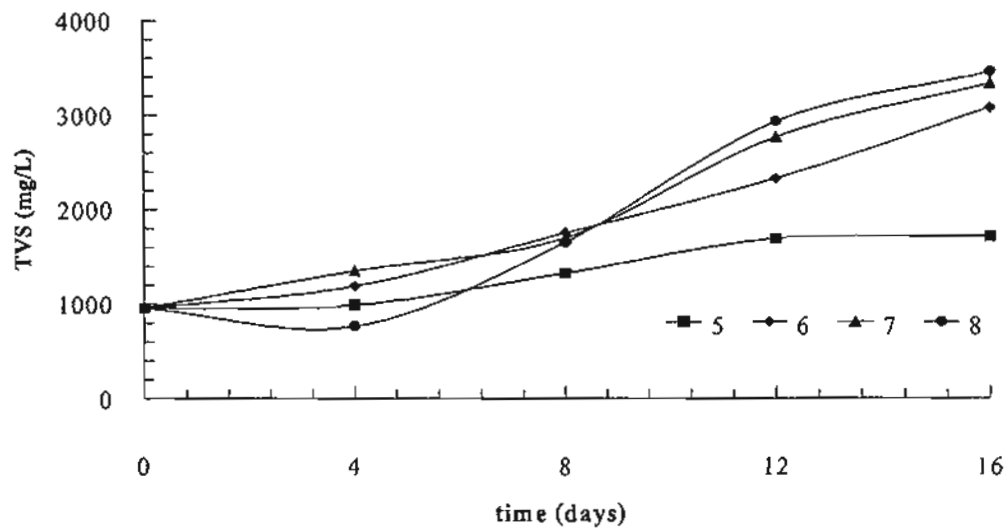
รูปที่ 19 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD (mg/L) โดยแบคทีเรียหีส S_7B_3 ที่ช่วง pH 5 - 8



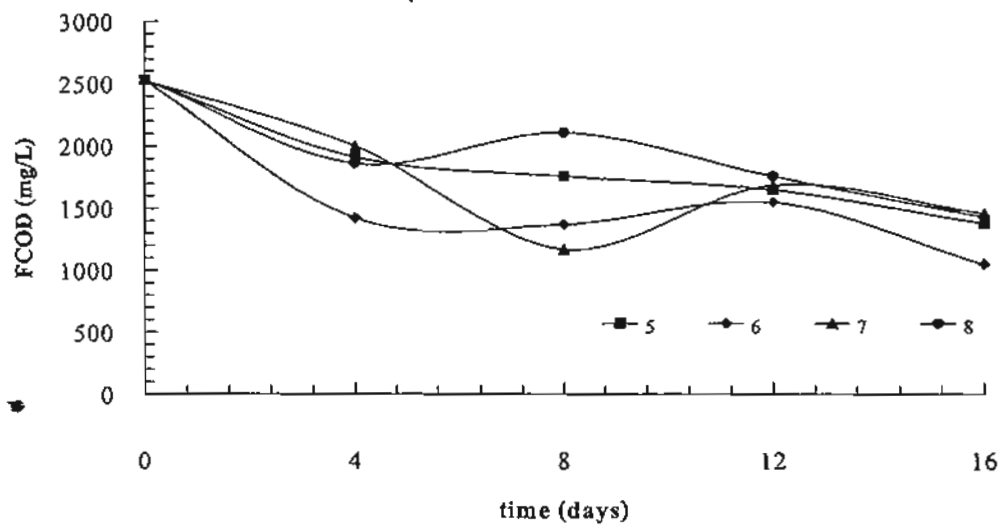
รูปที่ 20 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียหีส S_8B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8



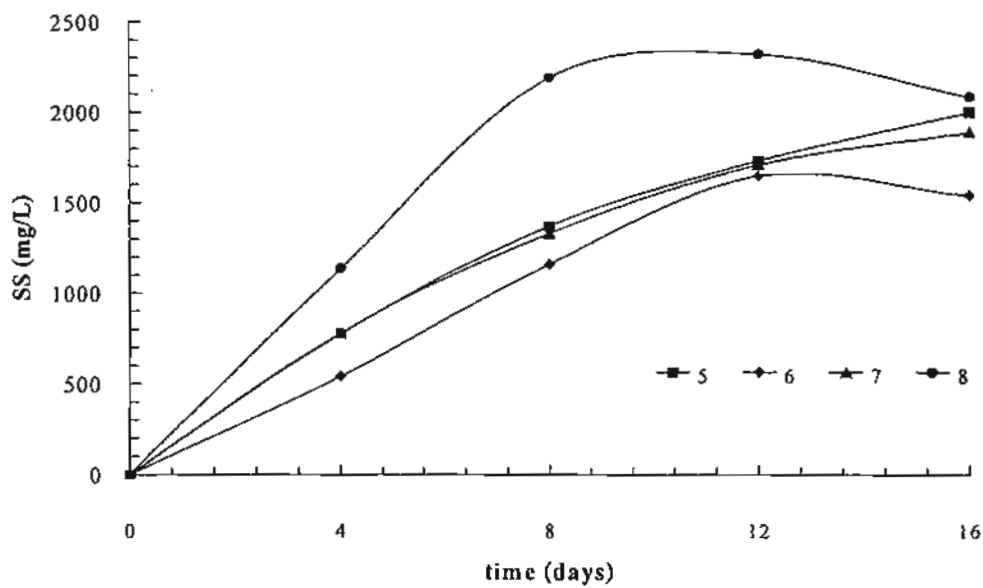
รูปที่ 21 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียรหัส S₈B₁ ที่ช่วง pH 5 - 8



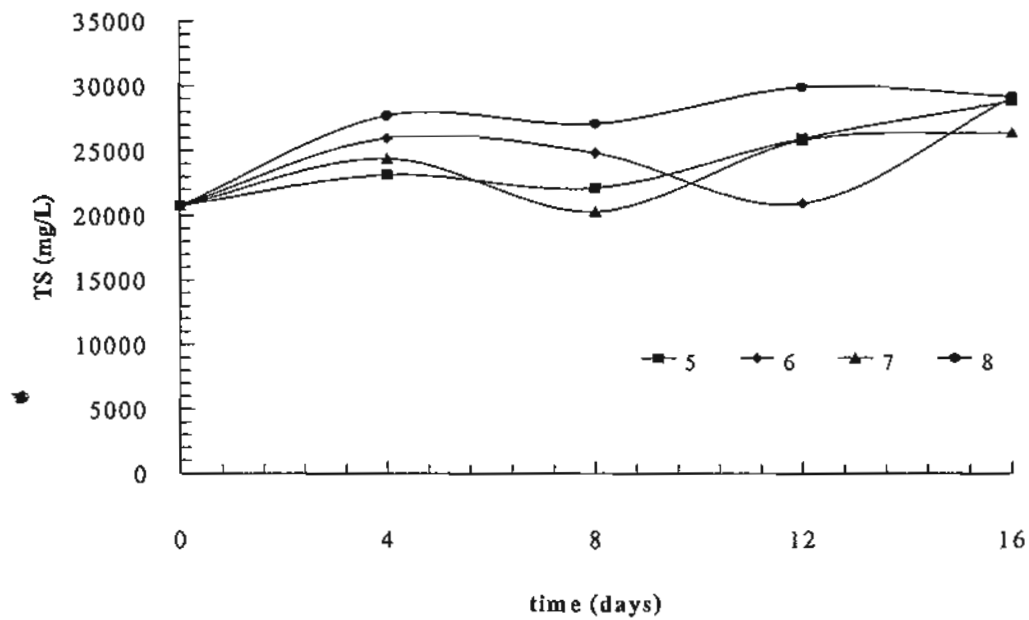
รูปที่ 22 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (TVS) โดยแบคทีเรียรหัส S₈B₁ ที่ช่วง pH 5 - 8



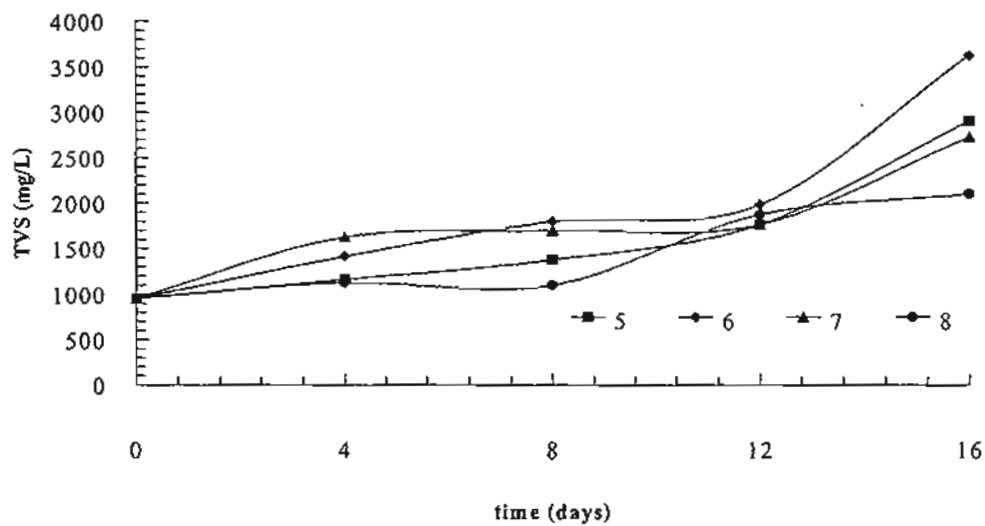
รูปที่ 23 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD (mg/L) โดยแบคทีเรียห้ำ W_3B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8



รูปที่ 24 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียห้ำ W_3B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8



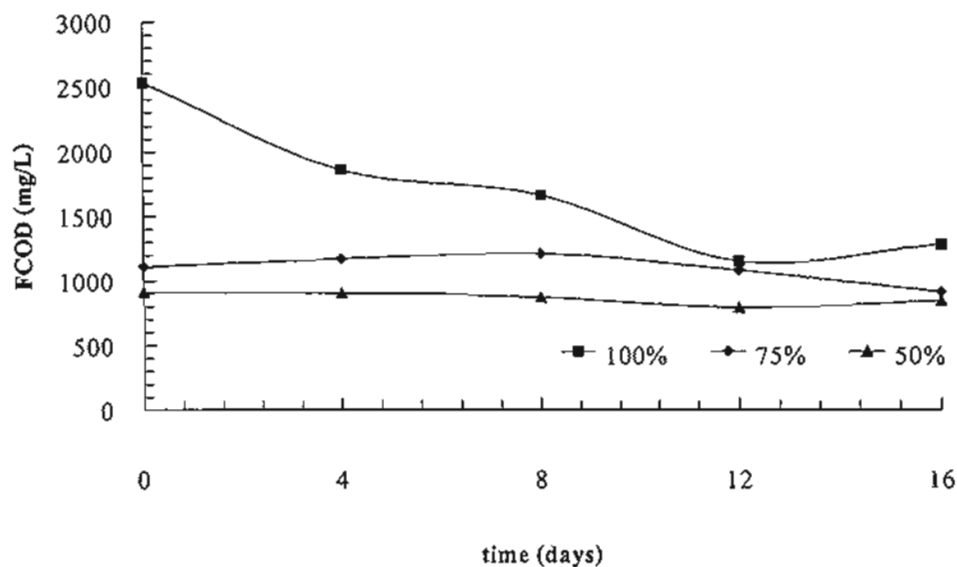
รูปที่ 25 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียรหัส W_3B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8



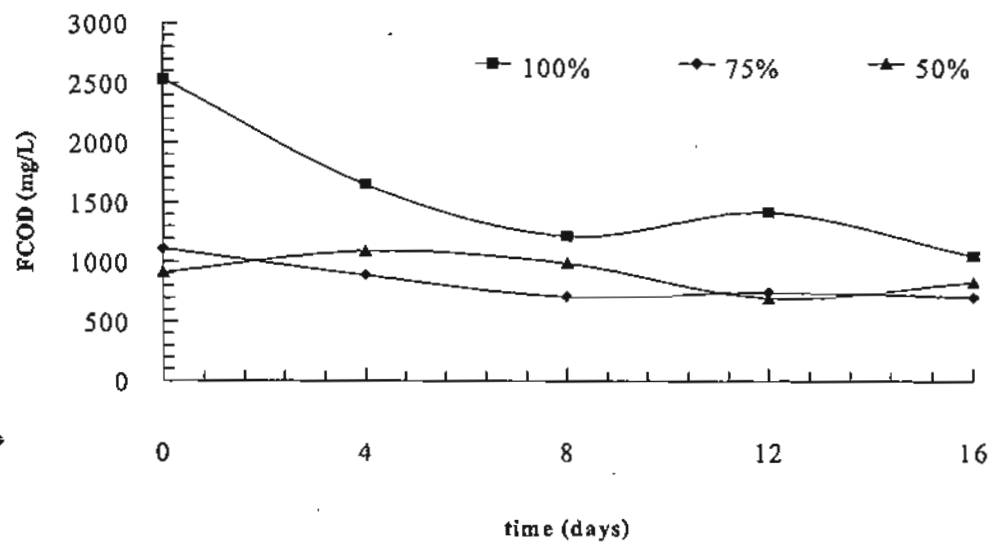
รูปที่ 26 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (TVS) โดยแบคทีเรียรหัส W_3B_1 ที่ช่วง pH 5 - 8

6.2 การศึกษาหาระดับความเข้มข้นของน้ำเสียที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อที่ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ดีที่สุด

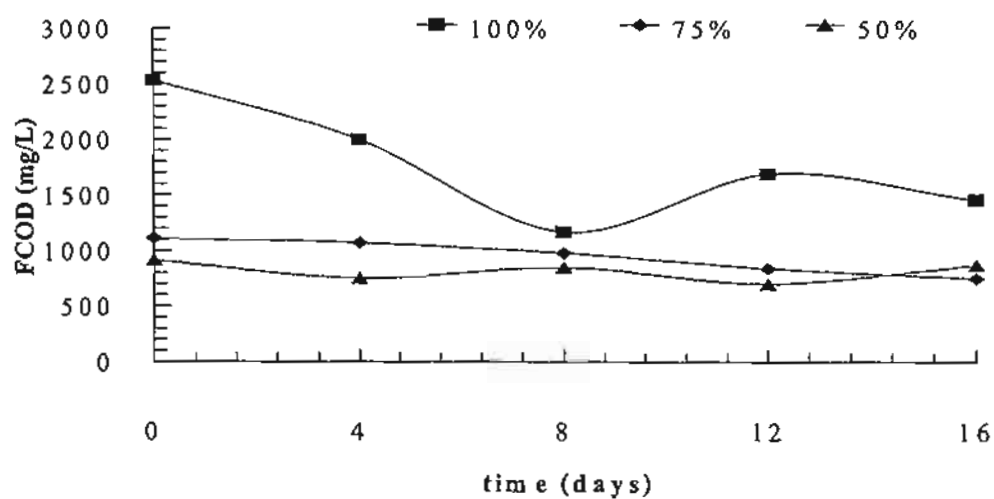
ผลของความเข้มข้นของน้ำเสียจากโรงงานคัดกรองที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียด้วยแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต โดยบำบัดน้ำเสียจากน้ำเสียจากโรงงานที่ระดับความเข้มข้น 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพในการลดค่า FCOD ดีที่สุดที่ความเข้มข้นของน้ำเสียเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ แสดงในรูปที่ 27-29 และค่าปริมาณของแฉ่งแขวนลอย ปริมาณของแฉ่งทั้งหมด และปริมาณของแฉ่งระเหย มากที่สุดที่ความเข้มข้นของน้ำเสียเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกัน รูปที่ 30-38



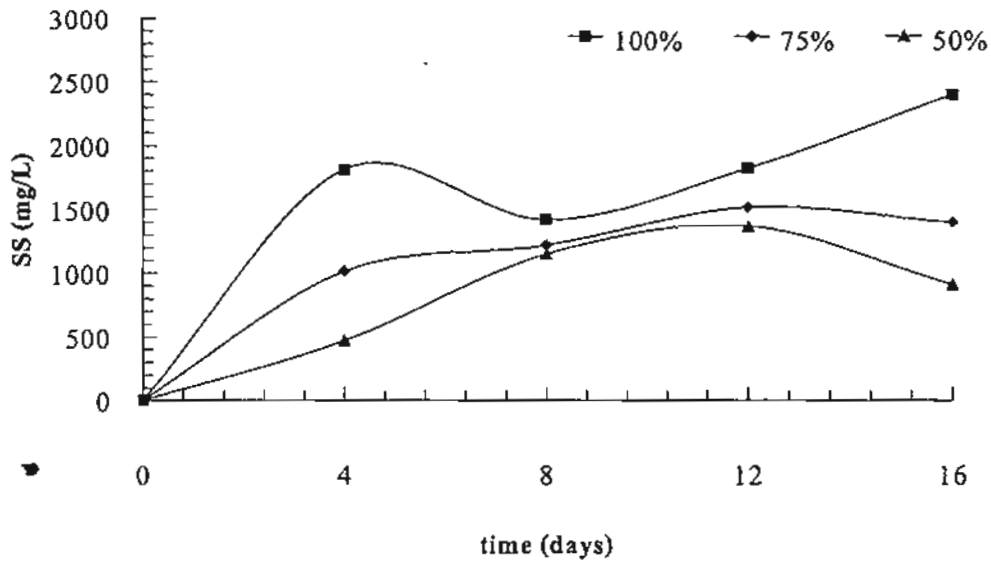
รูปที่ 27 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD (mg/L) โดยแบคทีเรียรหัส S₇B₃ ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์



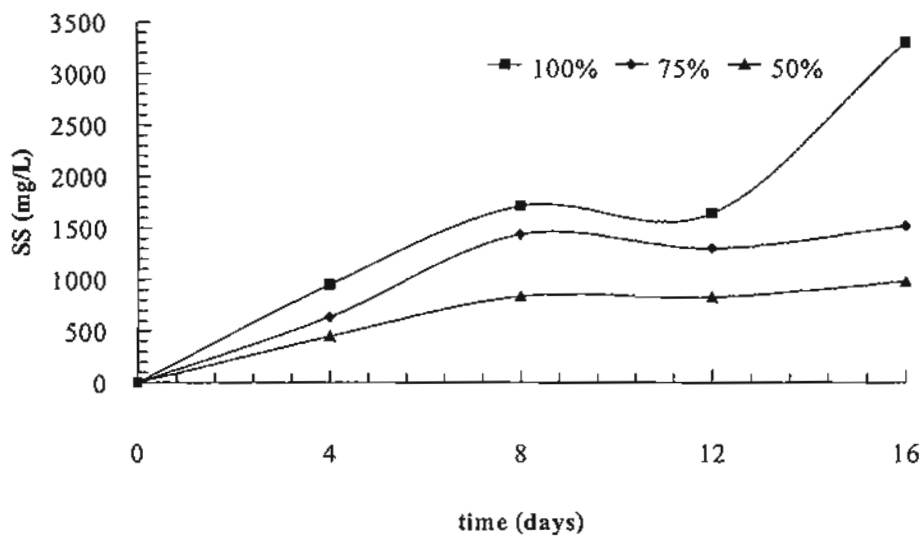
รูปที่ 28 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD (mg/L) โดยแบคทีเรียรหัส S₈B, ที่เปอร์เซ็นต์
การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์



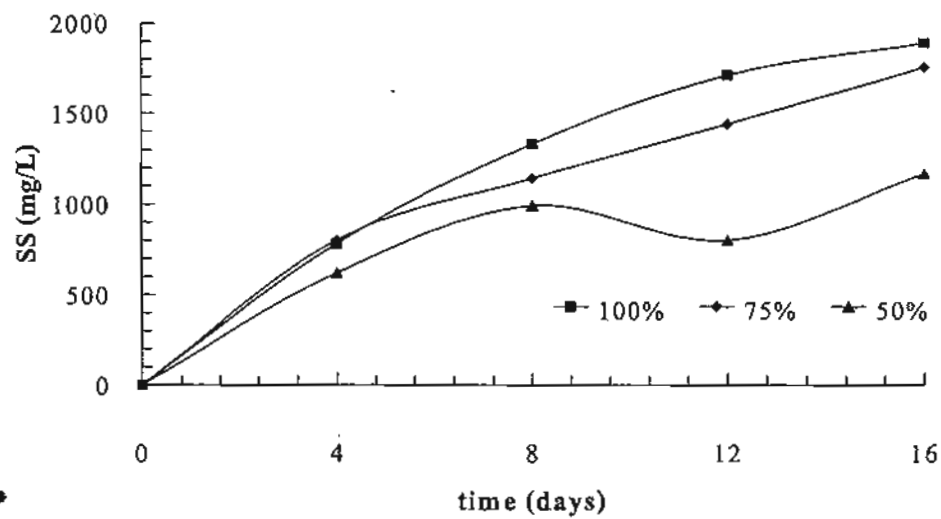
รูปที่ 29 การเปลี่ยนแปลง ค่า FCOD (mg/L) โดยแบคทีเรียรหัส W₃B, ที่เปอร์เซ็นต์
การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์



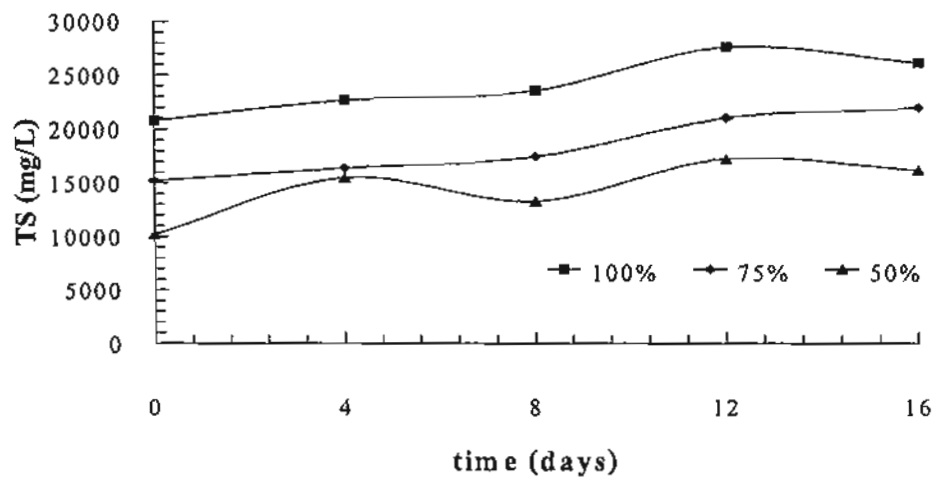
รูปที่ 30 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียรหัส S₈B₁ ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์



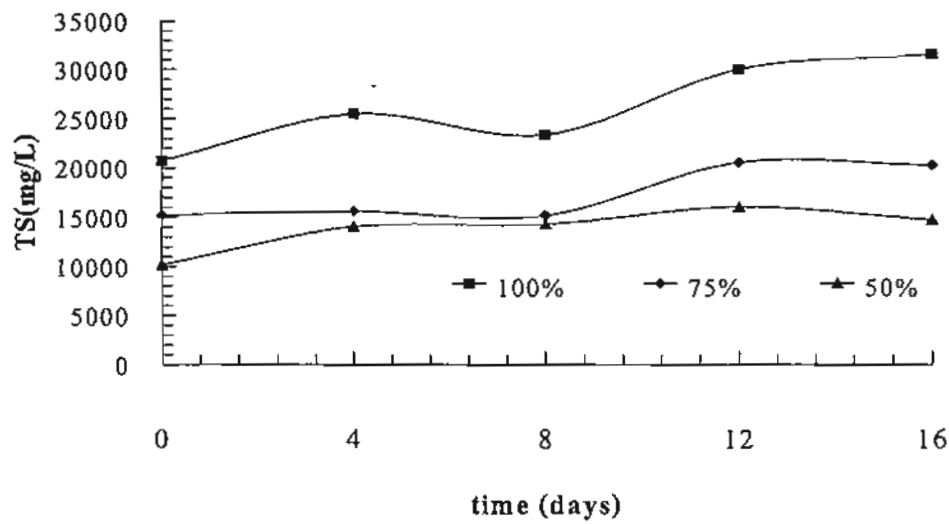
รูปที่ 31 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียรหัส S₈B₁ ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์



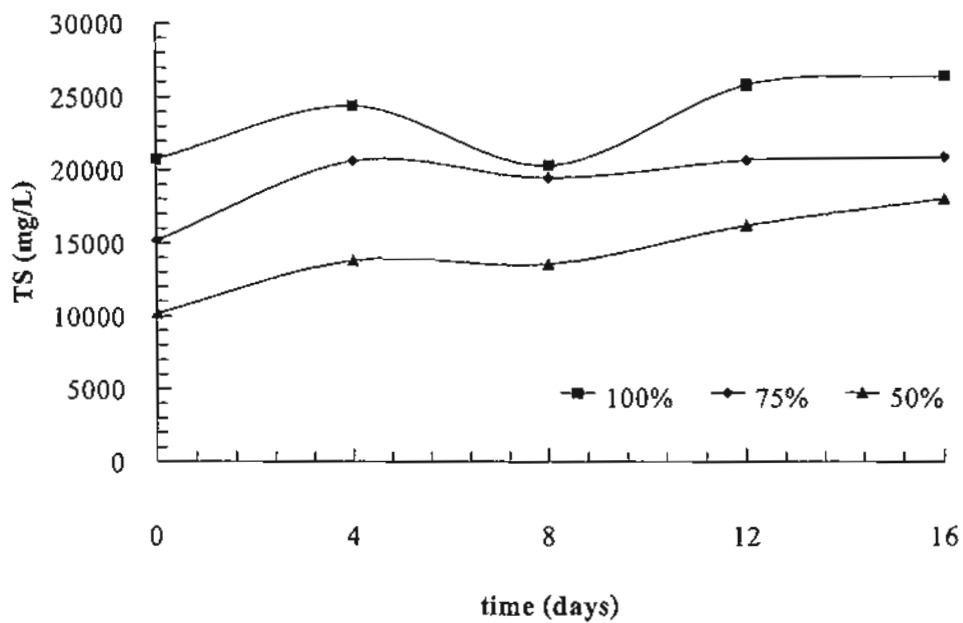
รูปที่ 32 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) โดยแบคทีเรียห้ำ W_3B_1 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์



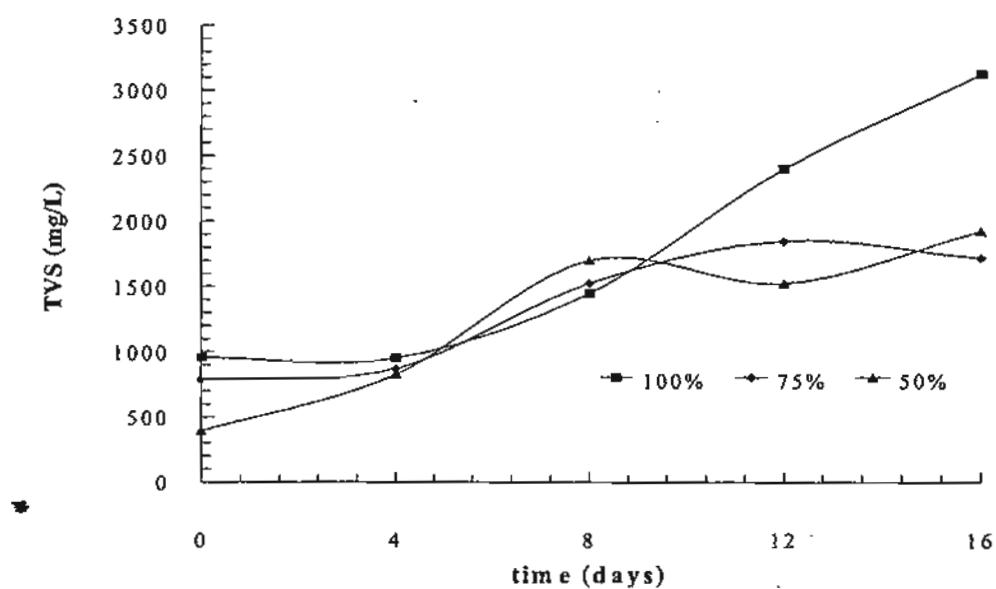
รูปที่ 33 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียห้ำ S_7B_3 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์



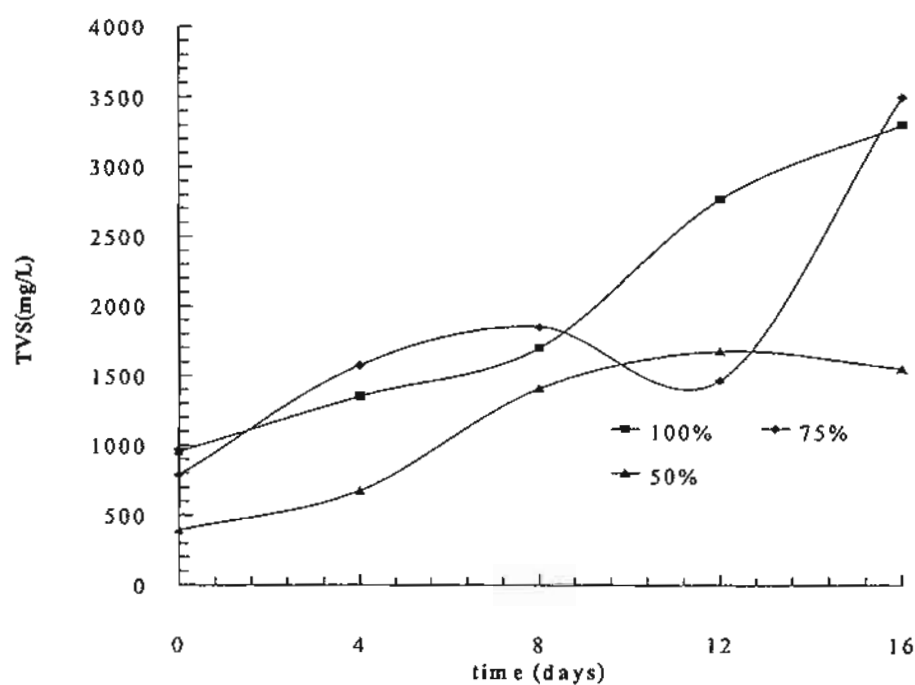
รูปที่ 34 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียรหัส S₈B₁ ที่เปอร์เซ็นต์
การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์



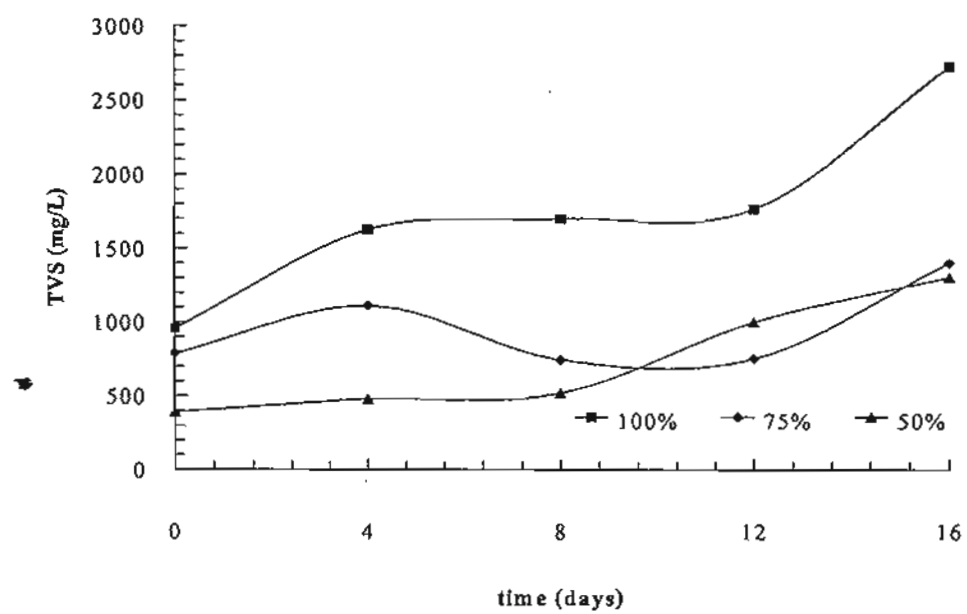
รูปที่ 35 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) โดยแบคทีเรียรหัส W₃B₁ ที่เปอร์เซ็นต์
การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 36 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (TVS) โดยแบคทีเรีย S_7B_3 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 37 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (TVS) โดยแบคทีเรีย S_8B_1 ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 38 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย (mg/L) โดยแบคทีเรีย W_3B_1 ที่เปอร์เซ็นต์
การเจือจางของน้ำเสีย 50 , 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์

7. การผลิตและทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรียทนเค็มแบบแห้ง

7.1 การคิดต้นทุนในการผลิตเชื้อผง

สูตรอาหารในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทนเค็ม (laboratory grade)

Yeast extract	10 กรัม
NaCl	50 กรัม
MgSO ₄ 7H ₂ O	25 กรัม
Casamino acid	10 กรัม
Peptone	5 กรัม
Trisodium citrate	3 กรัม
KCl	2 กรัม

ราคาคำนวณ การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาตร 1 ลิตร เท่ากับ 210 บาท

การทำแห้งอาหารเลี้ยงเชื้อ Skim milk ในการเตรียม 1 ลิตร ใช้ต้นทุน 200 บาท

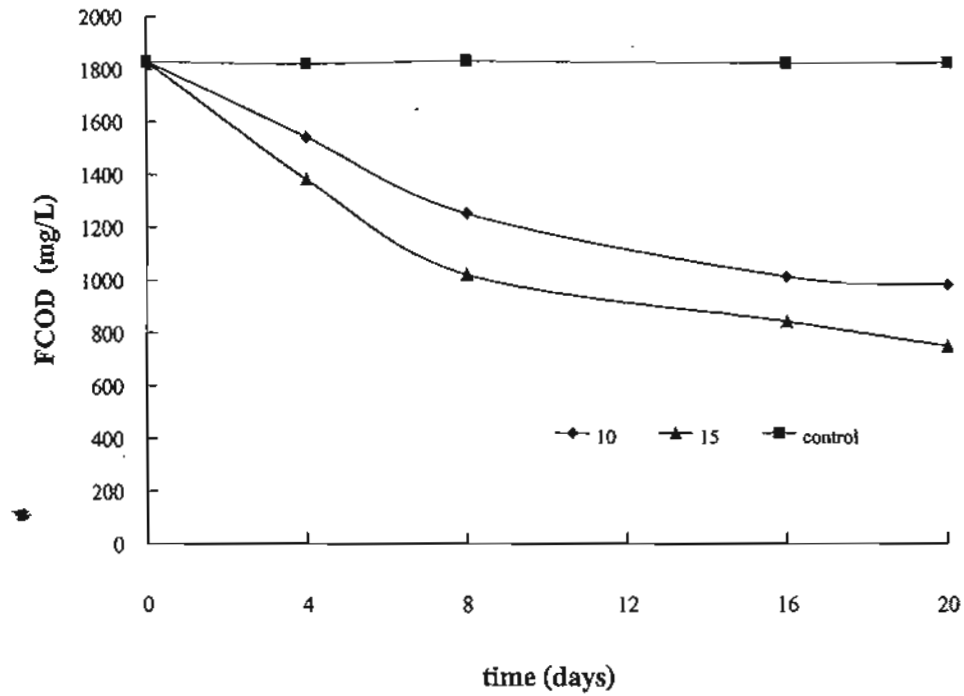
การเตรียมหัวเชื้อ 1 ลิตร จะให้ Skim milk เท่ากับ 100 มิลลิลิตร ต้นทุนเท่ากับ 20 บาท

ได้เชื้อผงจำนวน 0.4 กรัม

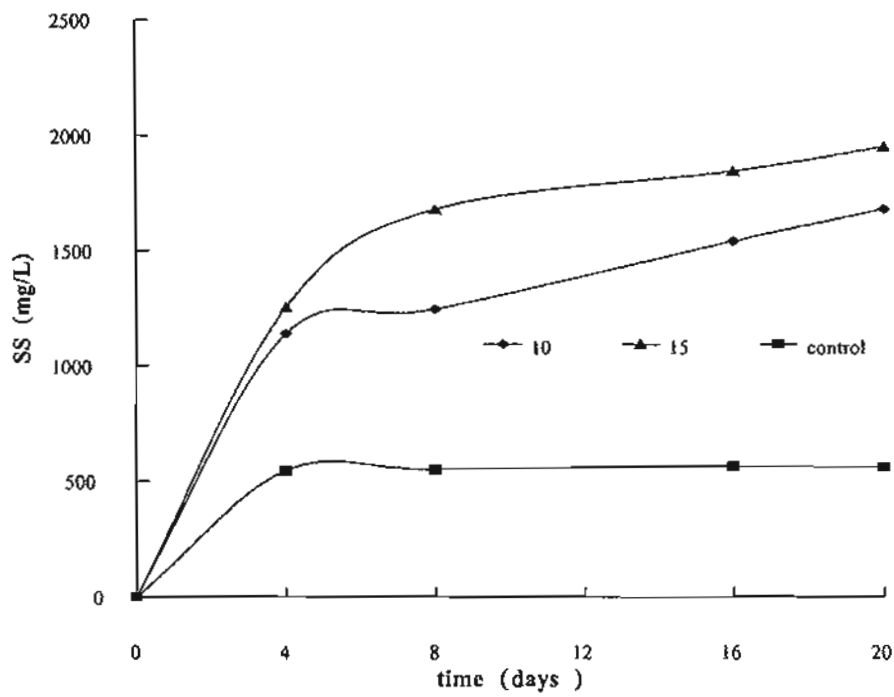
ดังนั้นถ้าต้องการเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 100 กรัมจะต้องใช้ต้นทุนเท่ากับ 5,750 บาท

7.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อผง

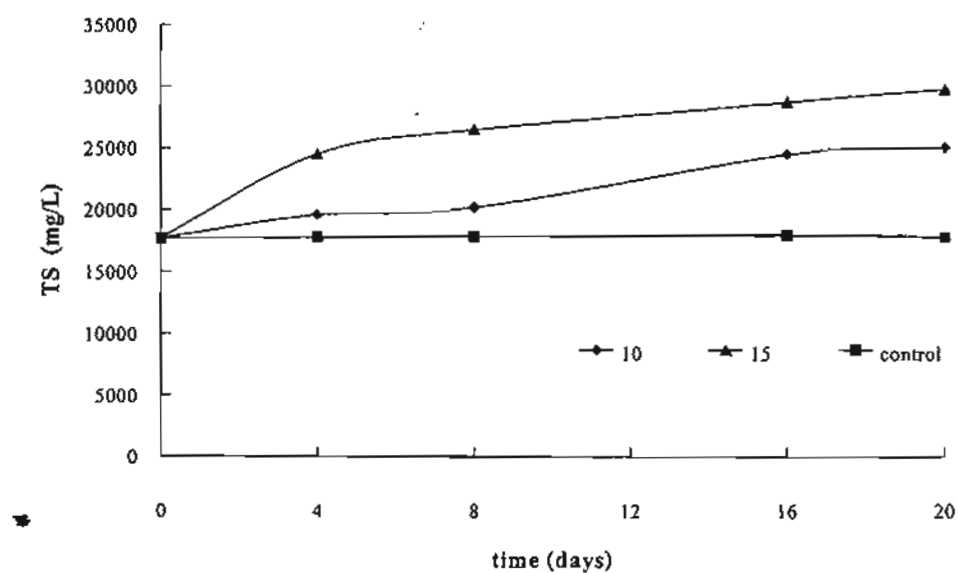
จากการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อผงของแบคทีเรีย 3 ไอโซเลต พบว่าประสิทธิภาพในการบำบัด FCOD ของระบบที่มีการเติมเชื้อผง 15 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพดีกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 39) และมีประสิทธิภาพในการบำบัดได้ใกล้เคียงกับการใช้เชื้อสดตั้งแต่ต้นที่เป็นของเหลวและปริมาณของแข็งแขวนลอย ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณของแข็งระเหยของเชื้อผงที่มีการเติมเชื้อผง 15 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 40-42) มีประสิทธิภาพดีกว่า 10 เปอร์เซ็นต์



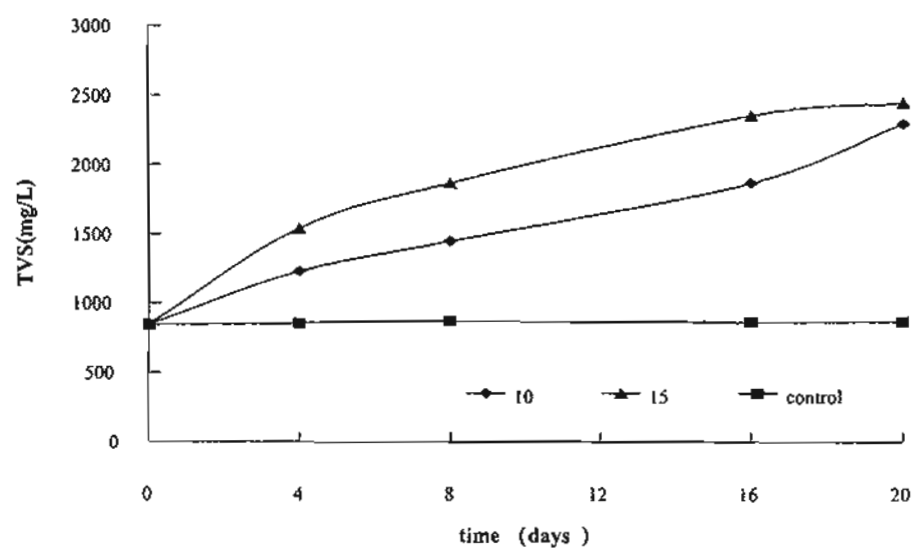
รูปที่ 39 การเปลี่ยนแปลงค่า FCOD ของระบบที่มีการเติมเชื้อผง



รูปที่ 40 การเปลี่ยนแปลงของค่าปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) ของระบบที่มีการเติมเชื้อผง



รูปที่ 41 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) ของระบบที่มีการเติม
เชื้อผง



รูปที่ 42 การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณของแข็งระเหย TVS ของระบบที่มีการเติม
เชื้อผง

สรุปผลการทดลอง

1. การคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างดิน น้ำ และอาหาร สามารถคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างดินได้ 28 ไอโซเลต ตัวอย่างน้ำ 3 ไอโซเลต และตัวอย่างอาหาร 3 ไอโซเลต
2. การตรวจสอบความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ในอาหารที่มีเกลือระดับความเข้มข้นต่าง ๆ สามารถคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มที่ทนความเค็มได้ในช่วงกว้างจำนวน 10 ไอโซเลต คัดแยกได้จากดิน 8 ไอโซเลต คือ S_2B_3 , S_7B_1 , S_7B_2 , S_7B_3 , S_7B_4 , S_8B_1 , S_8B_2 และ S_8B_3 และคัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำ 2 ไอโซเลต คือ W_2B_1 , W_3B_1
3. การทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียโรงงานฝักคองโดยใช้ถังปฏิกรณ์แบบกะและใช้เชื้อที่คัดเลือกได้ทั้ง 10 ไอโซเลต พบว่าเชื้อทุกไอโซเลตสามารถลดค่า FCOD และ BOD ได้ โดยเชื้อที่สามารถลดค่า FCOD และ BOD ได้ดี 3 อันดับแรก คือ S_7B_3 , W_3B_1 และ S_8B_1 มีประสิทธิภาพในการลดค่า COD ดีที่สุด คือจาก 7,920 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 857, 1,118 และ 1,324 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และ BOD จาก 6,300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 686, 894 และ 1,059 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ
4. การทดสอบการจำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่า เชื้อรหัส W_3B_1 ทดสอบตามหลัก API 50 CHB จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Bacillus cereus* ส่วนเชื้อรหัส S_7B_3 และ S_8B_1 ใช้วิธีการตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยเปรียบเทียบกับ Bergey 's Manual of Determinative Bacteriology และชุดทดสอบ ชุดทดสอบ api[®] 20 E (bioMeriux, Inc) พบว่า เชื้อรหัส S_7B_3 จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Pseudomonas fluorescens* ส่วนเชื้อรหัส S_8B_1 จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Enwinia cupripedii*
5. ค่า pH ที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียของ S_7B_3 , S_8B_1 และ W_3B_1 อยู่ในช่วง 6-7 และความเข้มข้นของน้ำเสียที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์
6. แบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดเมื่อทำเป็นผง สามารถนำมาใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการบำบัดน้ำเสียได้ ประสิทธิภาพใกล้เคียงกับหัวเชื้อแบบน้ำ

เอกสารอ้างอิง

- ชฎารัตน์ อนันต์. 2540. ผลของความเค็มที่มีต่อการกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของกระบวนการแยกทิวเต็ดสดัดจ์แบบฟลอคกซ์ 3 ขั้นตอน. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 733 น.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. 2525. จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ: โอเคียนสโตร์. 358 น.
- มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2538. จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ประมง. กรุงเทพฯ: ไร่เขียว. 238 น.
- ลัดดาวัลย์ รัสมิทัต. 2536. จุลชีววิทยาทางอาหาร. ชลบุรี: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- วิโรจน์ ประเทืองสวัสดิ์. 2541. ประชากรและประสิทธิภาพของ *Acinetobacter* sp. ในการกำจัดฟอสเฟตในระบบบำบัดน้ำเสียชนิดทนเค็ม. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 126น.
- Belkin, S., A. Brenner and A. Abeliovich. 1993. Biological Treatment of a High Salinity Chemical Industrial Wastewater. **Water Science and Technology**. 27: 105-112
- Dincer, A. R., and K. Kargi. 2001. Salt Inhibition Kinetics in Nitrification of Synthetic Saline Wastewater. **Water Science and Technology**. 28 : 661-665
- Glass, C., and J. Silvestion. 1998. Denitrification Kinetics of High Nitrate Concentration Water : pH Effect on Inhibition and Nitrite Accumulation. **Water Research**. 32(3): 831-839.
- Holt, J.G, N.R. Krieg, J.T. Staley and S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determination Bacteriology* 9th ed. Baltimor: **Williams & Wilkins**.

- Intrasungkha, N., J. Keller and L. L. Blackall. 1999. Biological Nutrient Removal Efficiency in Treatment of Saline Wastewater. **Water Science and Technology**. 39: 183-190.
- Kargi, F., and A. R. Dincer. 1996. Effect of Salt Concentration on Biological Treatment of Saline Wastewater by Fed - Batch Operation. **Enzyme and Microbial Technology**. 19: 529-537.
- Kargi, F., and A. R. Dincer. 1998. Saline Wastewater Treatment by Halophilic Supplemented Activated Sludge Culture in an Aerated Rotating Biodisc Contactor. **Enzyme and Microbial Technology**. 22: 427-433.
- Kargi, F., and A. Uygur. 1996. Biological Treatment of Saline Wastewater in an Aerated Parcolator Unit Utilizing Halophilic Bacteria. **Environmental Science and Technology**. 17 : 325-330.
- Kargi, F., and A. Uygur. 1997. Effect of Liquid Phase Aeration on Performance of Rotating Biodisc Contactor Treating Saline Wastewater. **Environmental Science and Technology**. 18: 623-630.
- Kincannon, D.K., and A. F. Gaudy. 1968. Response of Biological Waste Treatment Systems to Changes in Salt Concentration. **Biotechnology and Bioengineering**. 10: 483-496
- Kubo, M., J. Hiroe, M. Murokami, H. Fukami and T. Tachiki. 2001. Treatment of Hypersaline - Cotaining Wastewater with Salt - Tolerant Microorganisms. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 91: 222-224.
- Lawton, G. W., and C. V. Eggert. 1957. Effect of high Sodium Chloride Concentration on Trickling Filter Slimes. **Journal of Water Pollution Control**. 29: 1228-1236.

- Ludzank, F. J., and D. K. Noran. 1965. Tolerance of High Salinities by Conventional Wastewater Treatment Processes. **Journal of Water Pollution Control**. 37 : 1404-1416.
- Neji, G., K. Lamia, S. Nabil and N. Moncef. 2002. Biological Treatment of Saline Wastewaters from Marine - Products Processing Factories by a Fixed - bed Reactor. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. 77: 865 - 870.
- Stewart, M. J., H. F. Ludwig and H. H. Kearns. 1962. Effects of Varying Salinity on the Extended Aeration Process. **Journal of Water Pollution Control**. 34: 1161-1177.
- Stover, E. L., and A. W. Obayashi. 1991. High TDS Wastewater Treatability Study Design Consideration. Chelsea. In 45th **Purdue Industrial Waste Conference. Proc.**
- Woodlard, C.R. and R.L. Irvine. 1994. Biological Treatment of Hypersaline Wastewater by a Biofilm of Halophilic Bacteria. **Water Environment and Technology**. 66 :230-235
- Woodlard, C.R. and R.L. Irvine. 1995. Treatment of Hypersaline Wastewater in Sequencing Batch Reactor. **Water Research**. 29 (4) : 1159-1168

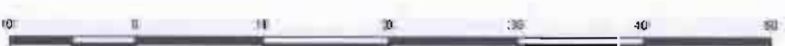
ภาคผนวก



รูปที่ ผ-1 จุดเก็บตัวอย่าง เขต อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

สันทราย

- บริษัทสันติภาพ
ต. แม่แฝกใหม่
 WB_1
- โรงงานดองผลไม้
ต. เมืองเก่า
 $SB_1, SB_2, SB_3, SB_4, WB_2$
- ตัวอย่างดิน ต. สันทรายน้อย
 $SB_{4.1}, SB_{4.2}, SB_{4.3}$

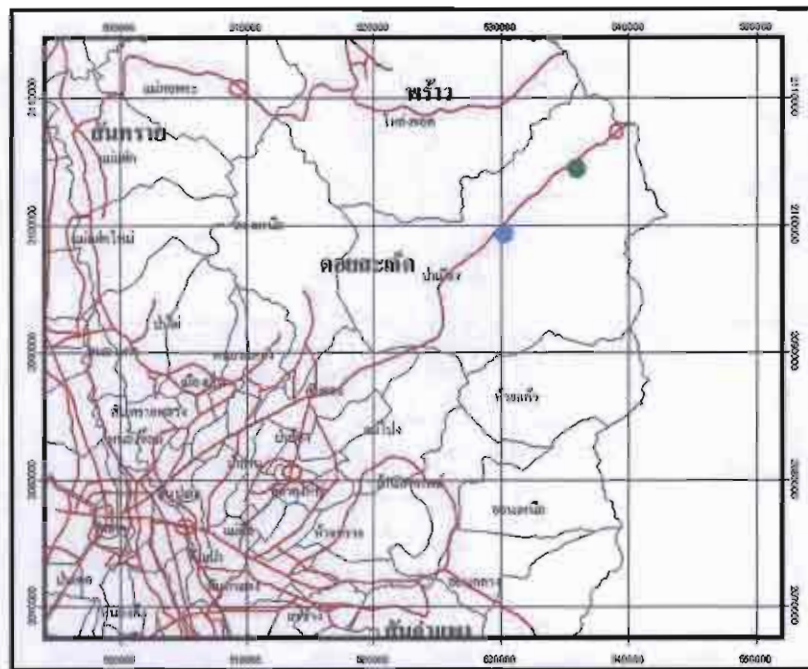


รูปที่ ผ-2 จุดเก็บตัวอย่าง เขต อ.สันกำแพง จ.เชียงใหม่

สันกำแพง

- ตัวอย่างดิน
น้ำพุร้อน อ. สันกำแพง
SB₁, SB₂

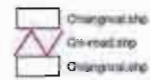




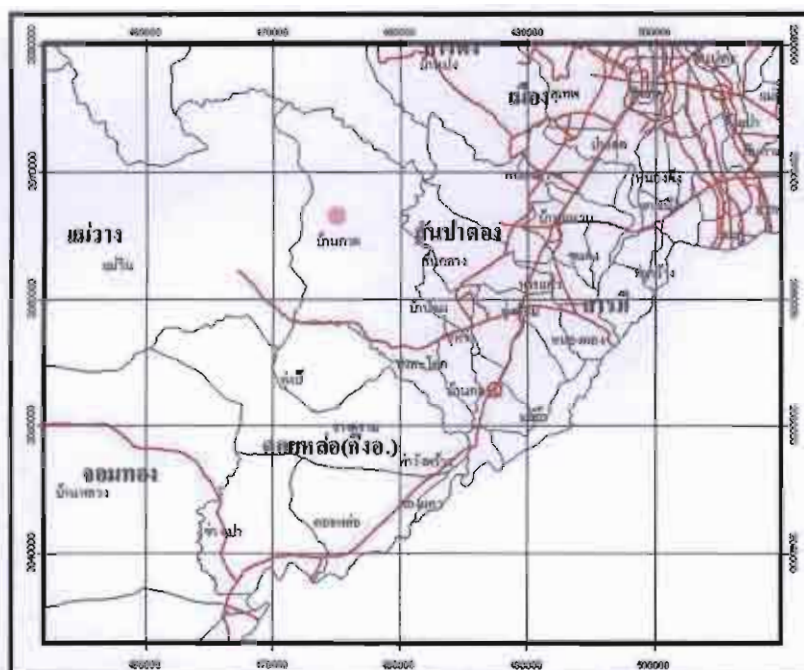
ดอยสะเก็ด

- ศูนย์การศึกษาพัฒนา
ห้วยฮ่องไคร้ อันเนื่อง
มาจากพระราชดำริ
 $SB_{31}, SB_{32}, SB_{33}, SB_{34}, SB_{35}$

- เขื่อนแม่กวง
 $SB_{21}, SB_{22}, SB_{23}$
 $SB_{24}, SB_{25}, SB_{26}$
 $SB_{27}, SB_{28}, SB_{29}$



รูปที่ ผ-3 จุดเก็บตัวอย่าง เขต อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่

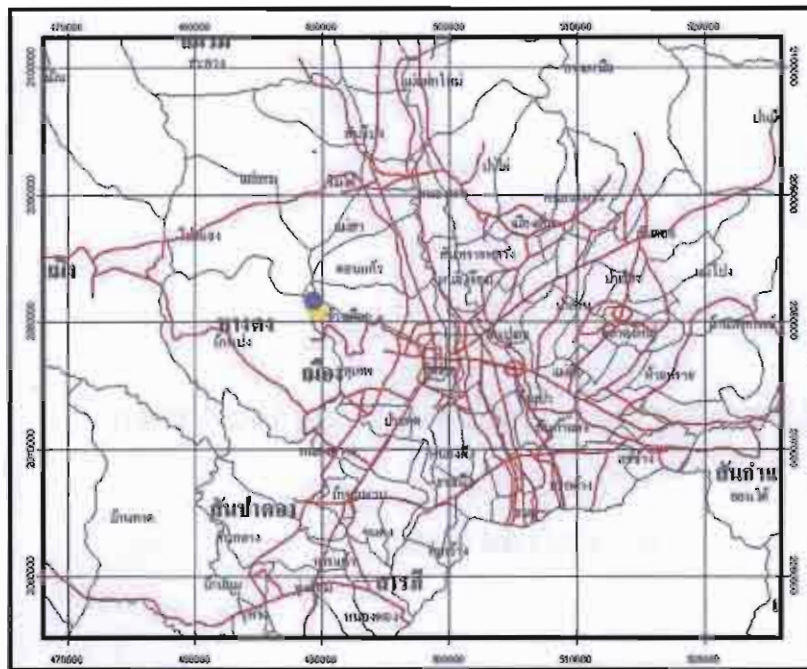


แม่กวง

- โรงงานดองผลไม้ อ.แม่กวง
 $SB_{81}, SB_{82}, SB_{83}, WB_{31}$



รูปที่ ผ-4 จุดเก็บตัวอย่าง เขต อ.แม่กวง จ.เชียงใหม่



เมือง

- โรงงานดองไข่เค็ม อ.เมือง
- โรงงานดองผักและผลไม้ อ.เมือง



รูปที่ ๗-5 จุดเก็บตัวอย่าง เขต อ. เมือง จ.เชียงใหม่

เอกสารประกอบการประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ครั้งที่ 3

28-30 มกราคม 2547

การคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มที่สามารถบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผักดอง

รูปน ชื่นบาล¹ และ เสนีย์ กาญจนวงศ์²

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกเชื้อแบคทีเรียทนเค็มเพื่อบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผักดอง โดยคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างดิน น้ำ และอาหาร สามารถแยกแบคทีเรียทนเค็มได้จำนวน 34 ไอโซเลต เมื่อนำเชื้อทั้งหมดมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อในอาหารที่มีความเค็มสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่ทนความเค็มได้ในช่วงกว้างจำนวน 10 ไอโซเลต หลังจากนั้นนำเชื้อที่คัดเลือกทั้ง 10 ไอโซเลต มาเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผักดอง 3 สัปดาห์ พบว่า S_7B_3 , W_3B_1 และ S_8B_1 มีประสิทธิภาพในการลดค่า FCOD ได้ดีที่สุด คือจาก 7,920 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 857 , 1,118 และ 1,324 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และลดค่า BOD จาก 6,300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 686 , 894 และ 1,059 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ การทดสอบการจำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่า เชื้อรหัส S_7B_3 , W_3B_1 และ S_8B_1 จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Pseudomonas fluorescens* , *Bacillus cereus* และ *Erwinia cupripedii* ตามลำดับ

Abstract

The objective of this research is to isolate halophilic bacteria for pickling wastewater treatment. Halophilic bacterias were isolated from wastewater , soil, and salted food in Chiangmai province. Thirty four bacteria isolates were achieved by growing in halophilic agar. Halotolerant ability of all isolates was tested. Ten strains with the broad range of halotolerant property were selected to culture in pickling wastewater for three weeks. The results showed that S_7B_3 , W_3B_1 and S_8B_1 had high efficiency in reducing FCOD from 7,920 mg/L to 857 , 1,118 and 1,324 mg/L, respectively and BOD from 6,300 mg/L to 686 , 894 and 1,324 mg/L, respectively. All of these potential strains were identification by biochemical characteristics. The results showed that S_7B_3 , W_3B_1 and S_8B_1 were *Pseudomonas fluorescens* , *Bacillus cereus* and *Erwinia cupripedii* , respectively.

บทนำ

โรงงานผักดองเป็นโรงงานแปรรูปผลผลิตทางการเกษตรที่มีกระจายทั่วไปในเขตภาคเหนือ และเนื่องจากโรงงานเหล่านี้ส่วนใหญ่มีขนาดเล็ก ทำให้น้ำเสียไม่ได้รับการบำบัดอย่างถูกต้องและเนื่องจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยาทั่วไปในการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มยังพบปัญหาอยู่มาก เช่น จุลินทรีย์

¹คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ²คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ทั่วไปไม่สามารถบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มมากกว่า 3-5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ จุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไปมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอิออน พบว่า การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเกลืออย่างรวดเร็วตั้งแต่ 0.5-2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ยับยั้งประสิทธิภาพของระบบบำบัดอย่างมีนัยสำคัญ การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของเกลือมีแนวโน้มที่จะยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึมและจลนศาสตร์การย่อยสลายภายในเซลล์ (1) และ น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มมักมีปริมาณสารแขวนลอยสูง โดยเกลือสามารถชักนำให้เกิดเซลล์แตก เป็นสาเหตุให้น้ำออกมีปริมาณสารแขวนลอยสูงขึ้น และประชากรโปรโตซัวและจุลินทรีย์ชนิดเส้นใย (Filamentous microorganism) มีจำนวนลดลง ทำให้เกิดฟล็อกได้ไม่ดีเท่าที่ควร (2), (3) และ (4) จากปัญหาข้างต้นทำให้การบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มมากด้วยกระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยานั้นมีประสิทธิภาพต่ำ ดังนั้นการพัฒนาระบบบำบัดน้ำเสียขนาดเล็กที่ควบคุมการทำงานได้ง่าย ซึ่งจำเป็นต้องใช้แบคทีเรียทนเค็มในการบำบัดน้ำเสียประเภทนี้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อหาเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่มีศักยภาพในการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการแก้ปัญหาดังกล่าวให้ดีขึ้น

วิธีการ

1. คัดแยกเชื้อแบคทีเรียทนเค็ม

คัดแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างดิน น้ำ และอาหาร โดยการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียทนเค็มจะเลี้ยงบนอาหาร Halophilic agar นำเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเจริญบนอาหาร Halophilic agar ไปทำให้เชื้อบริสุทธิ์ โดยนำไปทำ Cross streak plate technique 2 ถึง 3 ครั้ง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่บริสุทธิ์แล้วไปเก็บไว้บนอาหาร Halophilic agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

2. การทดสอบความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือต่าง ๆ

นำเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ ไปเลี้ยงในอาหาร Nutrient broth ที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือ 0 , 5 , 10 , 15 , 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาวัดค่าการเจริญโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

3. การทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้

3.1 เตรียมเชื้อเริ่มต้น (Inoculum) นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2 นำเชื้อเริ่มต้นมา 5 เปอร์เซ็นต์ ใส่ในพลาสติกปริมาตร 1 ลิตรซึ่งมีตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานผักและผลไม้คอง 500 มิลลิลิตร โดยมีการปรับ pH เขย่าด้วยความเร็ว 155 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน โดยวัดประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ โดยทำการวัดทุก ๆ 3 วัน โดยค่าที่วัด ได้แก่ ค่า FCOD และ BOD

4. การจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่คัดเลือก

ใช้หลักของ Bergey 's Manual of Determinative Bacteriology (5) และ API 50 CHB/E Media

ผลการวิจัย

1. แบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดิน น้ำ และอาหารแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แบคทีเรียทนเค็มที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำ และดิน

จุดเก็บตัวอย่าง	เชื้อที่แยกได้
- ตัวอย่างน้ำจากบริษัทสันติภาพ ต.แม่แฝกใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	W_1B_1
- ตัวอย่างดินจากน้ำพุร้อน อ.สันกำแพง จ.เชียงใหม่	S_1B_1 S_1B_2
- ตัวอย่างดินจากเขื่อนแม่กวง อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่	S_2B_1 S_2B_2 S_2B_3 S_2B_4 S_2B_5 S_2B_6 S_2B_7 S_2B_8 S_2B_9
- ตัวอย่างดินจากศูนย์ศึกษาการพัฒนาการห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ	S_3B_1 S_3B_2 S_3B_3 S_3B_4 S_3B_5
- ตัวอย่างดินจาก ต.สันทรายน้อย อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	S_4B_1 S_4B_2 S_4B_3
- ดินเค็มจากนาเกลือ จ.สมุทรสาคร	S_5B_1
- เกลือ จากเหมืองโปแตส จ.นครราชสีมา	S_6B_1
- อาหารเค็มต่างๆ	
- ปลาร้า	F_1B_1
- ปลานกสน	F_2B_1
- น้ำนุตุ	F_3B_1
- ตัวอย่างดินจากโรงงานคองผลไม้ 21/1 หมู่ 4 ต.เมืองเส้น อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	S_7B_1 S_7B_2 S_7B_3 S_7B_4
- ตัวอย่างน้ำจากโรงงานคองผลไม้ 21/1 หมู่ 4 ต.เมืองเส้น อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	W_2B_1
- ตัวอย่างดินโรงงานคองผลไม้ อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่	S_8B_1 S_8B_2 S_8B_3
- ตัวอย่างน้ำจากโรงงานคองผลไม้ อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่	W_3B_1

หมายเหตุ : S = ตัวอย่างดิน W = ตัวอย่างน้ำ F = ตัวอย่างอาหาร

2. การทดสอบความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือ 0 , 5 , 10 , 15 , 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ โดยนำแบคทีเรียที่ คัดแยกได้ไปเลี้ยงในอาหาร ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (รูปที่ 1) จากนั้นนำมาวัดค่าการเจริญ โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 2

จากผลการทดสอบความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มทั้งหมด 34 ไอโซเลตในตารางที่ 2 พบว่าแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตจะมีความสามารถในการดูดกลืนแสงได้แตกต่างกัน จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงในระดับความเข้มข้นของเกลือสูง พบว่ามีจำนวน

10 ไอโซเลต คือ S_2B_3 , W_2B_1 , W_3B_1 , S_7B_1 , S_7B_2 , S_7B_3 , S_7B_4 , S_8B_1 , S_8B_2 และ S_8B_3 ซึ่งการที่เชื้อแบคทีเรียให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียมีความสามารถในการเจริญในอาหารที่มีความเข้มข้นเกลือสูงๆ ได้ ดังนั้นจึงได้นำเชื้อแบคทีเรีย 10 ไอโซเลต มาทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียโดยการเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานฝักคอง

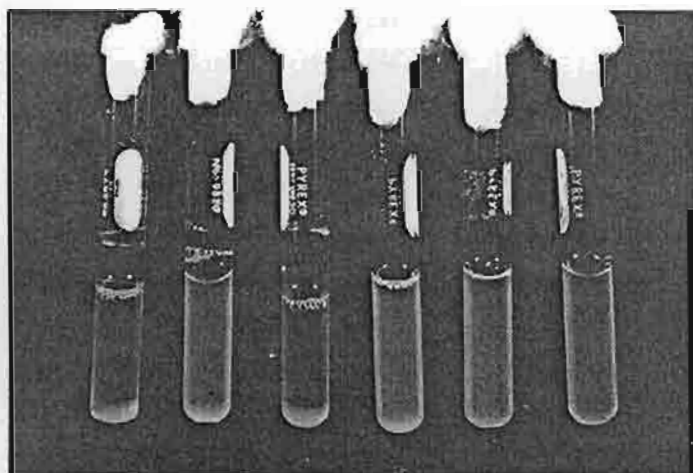
3. การทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ในหัวข้อ 3.2 มาเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลิตผักและผลไม้คอง และทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 วัน เพื่อวัดค่า FCOD และ BOD ผลที่ได้แสดงในรูปที่ 2 และ 3 จากผลการทดลองพบว่า S_7B_3 , W_3B_1 และ S_8B_1 มีประสิทธิภาพในการลดค่า FCOD และ BOD ดีที่สุด คือลดค่า FCOD จาก 7,920 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 857 , 1,118 และ 1,324 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และ BOD จาก 6,300 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 686 , 894 และ 1,059 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

4. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อและการจำแนกของเชื้อแบคทีเรีย พบว่า

แบคทีเรีย รหัส S_7B_3 = *Pseudomonas fluorescens* (รูปที่ 4)

แบคทีเรีย รหัส W_3B_1 = *Bacillus cereus* (รูปที่ 5)

แบคทีเรีย รหัส S_8B_1 = *Erwinia caropiedii* (รูปที่ 6)



รูปที่ 1 การทดสอบความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียที่แยกได้

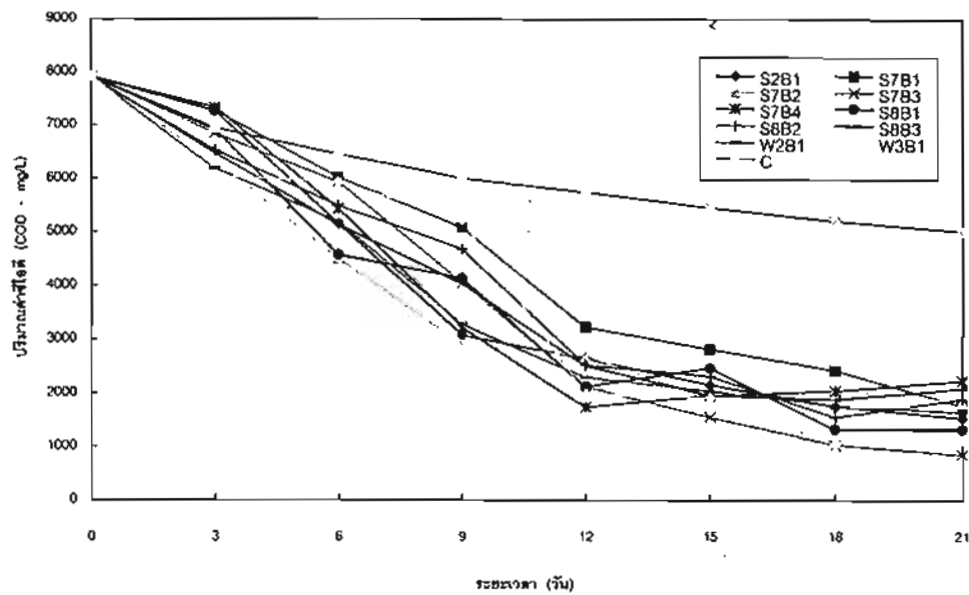
ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรของเชื้อที่ความเข้มข้นของเกล็ด
ระดับต่าง ๆ

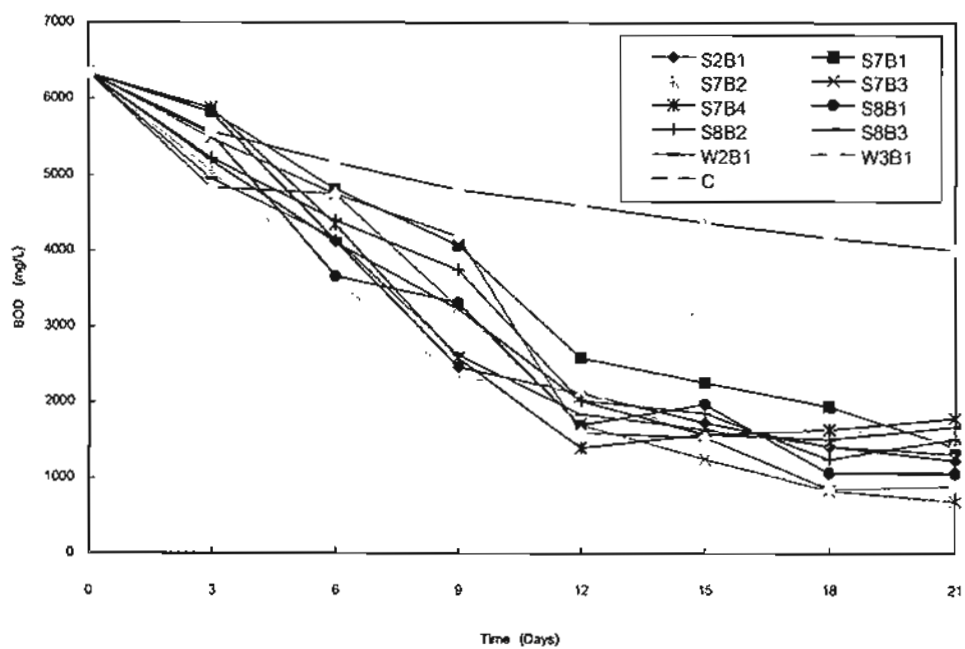
รหัสเชื้อ	ความเข้มข้นของเกล็ด (เปอร์เซ็นต์)					
	0	5	10	15	20	25
W,B ₁	0.820	1.098	0.339	0.185	0.127	0.057
W,B ₂	0.427	1.006	0.606	0.278	0.061	0.053
W,B ₃	0.222	0.788	0.884	0.408	0.233	0.315
S ₁ B ₁	0.283	0.690	0.718	0.104	0.108	0.025
S ₂ B ₂	1.065	0.577	0.412	0.083	0.018	0.002
S ₂ B ₃	0.163	0.629	0.378	0.017	0.096	0.045
S ₂ B ₄	0.113	1.129	0.182	0.069	0.070	0.106
S ₂ B ₅	0.906	0.821	0.666	0.020	0.083	0.021
S ₂ B ₆	0.709	0.880	0.308	0.142	0.079	0.149
S ₂ B ₇	0.865	0.471	0.367	0.623	0.219	0.129
S ₂ B ₈	0.618	0.800	0.275	0.259	0.152	0.085
S ₂ B ₉	0.422	0.68	0.427	0.253	0.121	0.084
S ₂ B ₁₀	0.594	0.426	0.200	0.338	0.132	0.045
S ₂ B ₁₁	0.928	1.110	0.631	0.413	0.138	0.044
S ₂ B ₁₂	0.570	0.354	0.180	0.094	0.154	0.040
S ₂ B ₁₃	0.745	1.197	1.179	1.029	0.228	0.111
S ₂ B ₁₄	0.476	0.807	0.941	0.185	0.158	0.132
S ₂ B ₁₅	0.425	0.461	0.482	0.302	0.122	0.018
S ₂ B ₁₆	0.231	0.461	0.420	0.411	0.058	0.052
S ₂ B ₁₇	0.918	0.863	0.174	0.249	0.154	0.168
S ₂ B ₁₈	0.234	0.295	0.295	0.087	0.03	0.087
S ₂ B ₁₉	0.206	1.334	1.164	0.234	0.091	0.072
S ₂ B ₂₀	0.202	0.864	0.507	0.361	0.150	0.09
S ₂ B ₂₁	0.519	0.511	0.152	0.091	0.142	0.028
S ₂ B ₂₂	0.632	0.754	0.860	0.202	0.162	0.256
S ₂ B ₂₃	0.629	0.299	0.203	0.231	0.202	0.098
S ₂ B ₂₄	0.792	0.629	0.548	0.243	0.135	0.087
S ₂ B ₂₅	0.934	0.819	0.717	0.302	0.364	0.096
S ₂ B ₂₆	0.996	1.235	1.309	0.657	0.342	0.278
S ₂ B ₂₇	0.414	1.453	0.761	0.569	0.285	0.274
S ₂ B ₂₈	0.797	0.335	1.197	0.596	0.319	0.241
F ₁ B ₁	0.947	0.741	0.12	0.325	0.229	0.100
F ₁ B ₂	0.955	0.557	0.271	0.092	0.227	0.142
F ₁ B ₃	0.346	0.584	0.325	0.187	0.197	0.08

หมายเหตุ

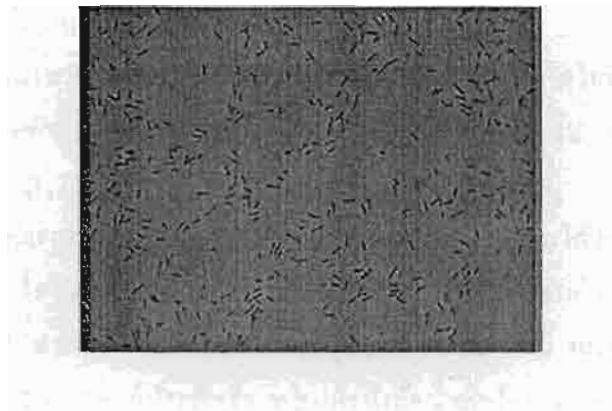
ตัวหนา คือ เชื้อที่ทำการคัดเลือก 10 ไอโซเลต



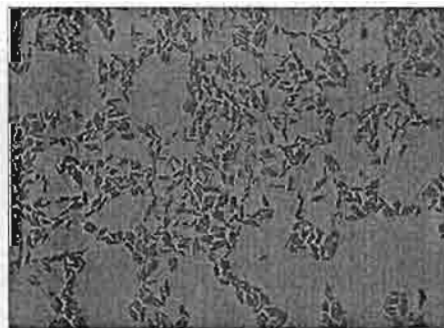
รูปที่ 2 การเปลี่ยนแปลงค่า FCOD



รูปที่ 3 การเปลี่ยนแปลงค่า BOD



รูปที่ 4 แบคทีเรีย รหัส S₃B₃ = *Pseudomonas fluorescens*



รูปที่ 5 แบคทีเรีย รหัส W₃B₃ = *Bacillus cereus*



รูปที่ 6 แบคทีเรีย รหัส S₃B₁ = *Erwinia carotovora*

สรุปผลการทดลอง

1.จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างดิน น้ำ และอาหาร พบว่า สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างได้ทั้งหมด 34 ไอโซเลต

2.การตรวจสอบความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ในอาหารที่มีเกลือระดับความเข้มข้นต่างๆสามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ทนเกลือได้ในระดับสูงจำนวน 10 ไอโซเลต คือแบคทีเรียรหัส S₂B₁, W₂B₁, W₃B₁, S₇B₁, S₇B₂, S₇B₃, S₇B₄, S₈B₁, S₈B₂, และ S₈B₃

3.การทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้โดยนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 10 ไอโซเลต ที่สามารถทนเกลือได้ในระดับสูงมาเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานฝักคองพบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 10 ไอโซเลต สามารถกำจัดสารอินทรีย์ในรูปของ FCOD และ BODได้และพบว่าเชื้อแบคทีเรียรหัส S₇B₁, W₃B₁ และ S₈B₁ มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียโดยลดค่า FCOD และ BOD ได้ถึง 89 , 86 และ 83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4.จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อและการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียรหัส S₇B₁ ดิคส์แกรมลบ มีลักษณะเป็นท่อนสั้น เมื่อทดสอบคุณสมบัติตามหลักของ Bergey 's Manual of Determinative Bacteriology (5) พบว่าจัดอยู่ในสายพันธุ์ *Pseudomonas fluorescens* ส่วนเชื้อแบคทีเรียพบว่า W₃B₁ มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนยาว สร้างเอนโดสปอร์ และดิกส์แกรมบวก และเมื่อทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีตามหลักของ API 50 CHB/E Media พบว่าเชื้อแบคทีเรีย W₃B₁ จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Bacillus cereus* และแบคทีเรียรหัส S₈B₁ ดิกส์แกรมบวกมีรูปร่างเป็นท่อน ทดสอบ คุณสมบัติตามหลักของ Bergey 's Manual of Determinative Bacteriology (5) พบว่าจัดอยู่ในสายพันธุ์ *Erwinia caropetio*

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สัญญาเลขที่ TRG4580034)

เอกสารอ้างอิง

- (1) Mahmoud, T.A. and Davis, W.B.. 1970. The Effect of Salinity on the Removal of some Aliphatic Ketones. Environmental Engineering Division, Texas Engineering Experiment Station. 37 : 1404 - 1416.
- (2) Ludzack , F.J. and Noran , D.K. 1965. Tolerance of High Salinities by Conventional Waste Water Treatment Processes . J. Water Pollut. Cont.
- (3) Burnett, W.E. The Effect of Salinity Variations on the Activated Sludge Process. Water Sew. Works 1974,121,37-38
- (4) Woolard, C.R. and Irvine, R.L.. 1994. Biological Treatment of Hypersaline Wastewater by a Biofilm of Halophilic Bacteria. Water Env. Res. 66:230-235.

(5) Holt , J.G. , Krieg , N.R. , Sneath , P.H.P. , Staley , J.T. , and Williams , S.T.

Bergey ' s Manual of Determinative Bacteriology , Vol 9 . Williams &

Wilkins Co . , Baltimore , USA.