วารสารวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมไทย ปีที่ 21 ฉบับที่ 2 : หน้า 93-105 (2550)
www.eeat.or.th

ประสิทธิภาพการบำบัดของระบบบำบัดน้ำเสียแบบจานหมุนชีวภาพระดับห้องปฏิบัติการในสภาวะที่มีไอโซไธเอโซโลนไบโอไซด์

Treatment Efficiency of Laboratory-Scale Rotating Biological Contactor (RBC) System under Isothiazolone Biocide Stress

Prapaphan Sirikhunsaeng*, Pattana Laopaiboon*, Niphapat Phuguetpim*,

Kanit Vichitphan* and Lakkana Laopaiboon*,**

ประภาพันธ์ ศิริขันธ์แสง* พัฒนา เหล่าไพบูลย์* นิภาพัศน์ ภูเกิดพิมพ์*

คณิต วิชิตพันธุ์* และ ลักขณา เหล่าไพบูลย์*,**

*ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

**ศูนย์วิจัยด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและสารอันตราย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

E-mail: lakcha@kku.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของสารประกอบไอโซไธเอโซโลนซึ่งเป็นไบโอไซด์ที่นิยมใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตเยื่อและกระดาษ ต่อการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียแบบจานหมุนชีวภาพหรืออาร์บีซีแบบขั้นตอนเดียว และศึกษาความสามารถของระบบในการย่อยสลายไบโอไซด์ โดยการป้อนน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีสารประกอบไอโซไธเอโซโลน 0 (ชุดควบคุม) 6 และ 12 พีพีเอ็ม เข้าสู่ระบบอาร์บีซีที่มีไบโอฟิล์มเจริญบนแผ่นจานหมุนด้วยอัตราการเจือจาง 1.6 ต่อชั่วโมง เป็นเวลา 14 วัน ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารประกอบไอโซไธเอโซโลนมีผลอย่างชัดเจนต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของระบบ โดยค่าการกำจัดซีโอดีของระบบลดลงจาก 68.4±4.4% เป็น 15.3±2.7% และ 0% เมื่อระบบได้รับน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีสารประกอบไอโซไธเอโซโลน 6 และ 12 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และพบว่าระบบไม่สามารถย่อยสลายสารประกอบไอโซไธเอโซโลนได้ที่ทุกความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ สารประกอบไอโซไธเอโซโลนที่ 6 และ 12 พีพีเอ็ม ทำให้จำนวนแบคทีเรียในไบโอฟิล์มลดลง 1,000 และ 10,000 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่การออกซิเดชั่นทางชีวภาพของแบคทีเรียที่แขวนลอยในระบบอาร์บีซีชุดควบคุมโดยการหาค่าบีโอดีนั้น ถูกยับยั้งเกือบสมบูรณ์ในสภาวะที่มีสารประกอบไอโซไธเอโซโลนเพียง 0.15 พีพีเอ็ม

คำสำคัญ: ไบโอไซด์ ไบโอฟิล์ม สารประกอบไอโซไธเอโซโลน อาร์บีซี การบำบัดน้ำเสีย

Abstract

In this study the effects of isothiazolone compound, a biocide used in paper and pulp industry, on the performance of a single stage laboratory scale rotating biological contactor (RBC) system and biodegradation of biocide by the system were examined. The synthetic wastewater containing isothiazolone at 0, 6 and 12 ppm was fed to the RBCs with mature biofilms on discs at a dilution rate of 1.6 h^{-1} for 14 days. The results showed that isothiazolone markedly affected COD removal of the units. COD removal at steady state decreased from 68.4 ± 4.4 % (no biocide) to 15.3 ± 2.7% and 0% when 6 and 12 ppm isothazolone was introduced to the RBC units respectively. Isothiazolone could not be removed at all concentrations tested. The biocide at 6 and 12 ppm caused 1,000-fold and 10,000-fold reductions in the numbers of colony-forming unit in the mature biofilms respectively. Bio-oxidation of the planktonic cells in the control RBC expressed as BOD value was almost totally inhibited in the presence of 0.15 ppm isothiazolone.

Keywords: biocide, biofilm, isothiazolone compound, RBC, wastewater treatment

บทนำ

สารประกอบไอโซไธเอโซโลน (isothiazolone compound) เป็นไบโอไซด์กลุ่มไธออล (thiol group) และเป็นไบโอไซด์ที่ไม่ออกซิไดซ์ (non-oxidizing biocide) นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อกำจัด ป้องกัน หรือควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งที่เป็นแบบแขวนลอย (planktonic microorganisms) และแบบที่เจริญเกาะยึดตัวกลาง (sessile microorganisms) หรือเรียกว่า ไบโอฟิล์ม (biofilms) โดยไบโอไซด์นี้นิยมใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น ใช้ในระบบน้ำหล่อเย็น อุตสาหกรรมกระดาษ และเครื่องสำอาง เป็นต้น สารประกอบไอโซไธเอโซโลนที่นิยมใช้ในทางการค้าเพื่อควบคุมการเจริญหรือกำจัดจุลินทรีย์มี 3 ชนิด คือ 5-chloro-2-methly-4-isothiazolin-3-one (CMIT), 2-methly-4-isothiazolin-3-one (MIT) และ 1,2-benzisothiazolin-3-one (BIT) [1] โดยหมู่ไธออลในสารประกอบไอโซไธเอโซโลนจะทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกับหมู่ไธออล หรือหมู่ซัลฟไฮดริล (sulfhydryl group) ซึ่งพบในเอนไซม์ และในโปรตีนโครงสร้าง ทำให้เกิดพันธะไดซัลไฟด์ (disulphides) เนื่องจากหมู่ไธออลมีความสำคัญโดยเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของการแพร่ผ่านของกระบวนการ active transport และกระบวนการ oxidative phosphorylation โดยเฉพาะหมู่ไธออลมาจากอนุพันธ์ของกรดอะมิโนซิสเตอีน (cysteine) มีความสำคัญอย่างมากต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในปฏิกิริยาต่างๆ ในสิ่งมีชีวิต [1, 2] การเกิดพันธะไดซัลไฟด์กับสารประกอบไอโซไธเอโซโลนจึงยับยั้งกิจกรรมที่สำคัญของจุลินทรีย์จนทำให้จุลินทรีย์ตาย

การใช้ไบโอไซด์เพื่อกำจัดการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในกระบวนการใดๆ ในอุตสาหกรรม อาจนำไปสู่ปัญหาทางสิ่งแวดล้อม และระบบนิเวศน์วิทยาได้ถ้าน้ำที่ปนเปื้อนด้วยไบโอไซด์

นั้นถูกปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติหรือระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนโดยตรง [3, 4]

ระบบบำบัดน้ำเสียแบบจานหมุนชีวภาพ (Rotating biological contactor) หรือเรียกสั้นๆ ว่า ระบบอาร์บีซี (RBC) เป็นระบบมาตรฐานระบบหนึ่งของการบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยาแบบระบบฟิล์มตรึง (fixed-film process หรือ supported growth system) การย่อยสลายทางชีวภาพส่วนใหญ่ของระบบเกิดขึ้นเนื่องจากการทำงานของไบโอฟิล์มที่เจริญบนจานหมุนเป็นหลัก [5, 6] งานวิจัยนี้เลือกใช้ระบบอาร์บีซี เนื่องจากเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าเซลล์ที่เจริญเป็นไบโอฟิล์มทนต่อสารพิษหรือไบโอไซด์ได้ดีกว่าเซลล์ชนิดเดียวกันที่เจริญแบบแขวนลอย [7, 8] นอกจากนี้ข้อได้เปรียบของระบบนี้คือ การติดตั้ง การทำงาน และการดูแลรักษาไม่ซับซ้อน ทำให้ต้นทุนการดำเนินการไม่สูง [9]

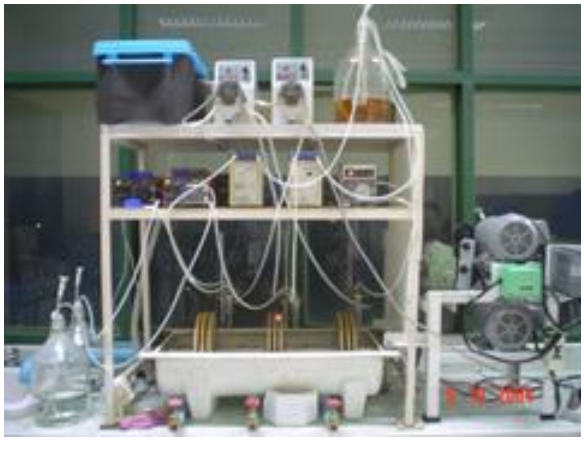
วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดของระบบอาร์บีซีในระดับห้องปฏิบัติการ หรือการกำจัดซีโอดี (COD removal) ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนด้วยไบโอไซด์คือสารประกอบไอโซไธเอโซโลนซึ่งใช้กันมากในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตเยื่อและกระดาษ และศึกษาความสามารถของระบบในการย่อยสลายไบโอไซด์ รวมถึงความสามารถของไบโอไซด์ในการต่อต้านกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระบบทั้งที่เจริญเป็นไบโอฟิล์มและเจริญแบบแขวนลอย

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

อาร์บีซีระดับห้องปฏิบัติการแบบขั้นตอนเดียว (Single-stage laboratory-scale rotating biological contactor units)

อาร์บีซีระดับห้องปฏิบัติการแบบขั้นตอนเดียวที่ใช้ศึกษาในงานวิจัยนี้ติดตั้ง 3 ยูนิตต่อกัน โดยใช้มอเตอร์และแกนเพลาเดียวกัน (รูปที่ 1) อาร์บีซีแต่ละยูนิต ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ช่องตัวอย่างน้ำเข้า (influent chamber) ช่องจานหมุน (disc chamber) ที่ประกอบด้วยจานหมุน 3 แผ่น และช่องหรือถังตกตะกอน (settling tank) [10] โดยสภาวะการทำงานของระบบอาร์บีซีแบบขั้นตอนเดียวที่ใช้ในการทดลองนี้แสดงในตารางที่ 1



รูปที่ 1 ระบบอาร์บีซีระดับห้องปฏิบัติการแบบขั้นตอนเดียว

ตารางที่ 1 สภาวะการทำงานของระบบอาร์บีซี แบบขั้นตอนเดียว

สภาวะที่ใช้ในการทดลอง	รายละเอียด
: ปริมาตรทำงาน (ลิตร)*	
1) ช่องตัวอย่างน้ำเข้า	0.65 ลิตร
2) ช่องจานหมุน	1.56 ลิตร
3) ถังตกตะกอน	1.55 ลิตร
: อัตราการไหลของน้ำเสียสังเคราะห์	2.5 ลิตรต่อชั่วโมง
: อัตราการเจือจางในช่องจานหมุน	1.6 ต่อชั่วโมง
: ระยะเวลาที่อยู่ในช่องจานหมุน	37 นาที

*ปริมาตรของเหลวในสภาวะที่มีจานหมุนแต่ไม่มีชีวมวล

น้ำเสียสังเคราะห์

น้ำเสียสังเคราะห์มาตรฐานที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย lab-lemco broth 90, NH_4Cl 54, K_2HPO_4 28, NaCl 7, $CaCl_2.2H_2O$ 4 และ $MgSO_4.7H_2O$ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร [8] โดยมีพีเอช 7.1 ถึง 7.2

หัวเชื้อ

หัวเชื้อที่ใช้ในการทดลองคือรีไซเคิลสลัทจ์ (recycled sludge) ของระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตเยื่อและกระดาษ ฟินิคส์ อำเภอน้ำพอง จังหวัดขอนแก่น

ไบโอไซด์

ไบโอไซด์ทางการค้าที่ป้อนสู่ระบบอาร์บีซี คือ สารประกอบไอโซไธเอโซโลน (2-methyl-4-isothiazolone-3-one, MIT และ 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one, CMIT) 0.35% (Nalco Industrial Services (Thailand) Co., Ltd.) โดยเติมลงในน้ำเสียสังเคราะห์ให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการ

การสร้างไบโอฟิล์ม และการติดตั้งระบบอาร์บีซี

เติมรีไซเคิลสลัทจ์ของระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตเยื่อและกระดาษดังกล่าวข้างต้นปริมาตร 350 มิลลิลิตร ลงในช่องจานหมุนของระบบอาร์บีซีแต่ละยูนิต จากนั้นเติมน้ำเสียสังเคราะห์จนเต็มปริมาตรทำงาน ดำเนินการทดลองแบบกะเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนเปลี่ยนการทดลองเป็นแบบต่อเนื่อง โดยป้อนน้ำเสียสังเคราะห์เข้าสู่ระบบด้วยอัตราการไหล 2.5 ลิตรต่อชั่วโมง เพื่อเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ และการสร้างไบโอฟิล์ม ดำเนินการทดลองจนกระทั่งระบบเข้าสู่สภาวะคงที่ คือมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียในรูปของการกำจัดซีโอดี และมีความหนาของไบโอฟิล์มบนจานหมุนคงที่ โดยในช่วงที่ทดลองอุณหภูมิของน้ำเสียสังเคราะห์ในระบบอาร์บีซีมีค่าอยู่ในช่วง 24.7 ถึง 27.5 องศาเซลเซียส

การทดลอง

การศึกษาการลดลงของไบโอไซด์ที่ไม่ได้เกิดเนื่องจากจุลินทรีย์ในระบบอาร์บีซี

เตรียมสารประกอบไอโซไธเอโซโลน 5 พีพีเอ็ม ในน้ำเสียสังเคราะห์ 4 ลิตร จากนั้นเติมลงไปในระบบอาร์บีซีระดับห้องปฏิบัติการ โดยจานหมุนหมุนที่ความเร็วรอบที่ใช้ตลอดการทดลองคือ 16 รอบต่อนาที และจานหมุนไม่มีไบโอฟิล์ม เก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ ภายในเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นวัดความเข้มข้นของไอโซไธเอโซโลน เพื่อหาการสูญเสียของไบโอไซด์ในระบบอาร์บีซีที่ไม่มีชีวมวล

การหาความเข้มข้นต่ำสุดของไอโซไธเอโซโลนที่ฆ่าจุลินทรีย์ (Minimum lethal concentration, MLC)

นำจุลินทรีย์ผสม (mixed bacterial population) หรือเซลล์แขวนลอย (planktonic cells) จากช่องจานหมุนของระบบอาร์บีซีมาเลี้ยงบน tryptone soya agar (TSA) slant ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวจุลินทรีย์ที่เจริญบน slant โดยทำให้แขวนลอยในสารละลาย quarter strength ringer เรียกหัวเชื้อที่ได้ว่า TSA grown cells จากนั้นเจือจางให้หัวเชื้อมีจำนวน 10^8 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร (cfu ml^{-1}) ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ในหัวเชื้อสามารถคำนวณได้โดยการวัดความขุ่นที่ 540 นาโนเมตร [11] MLC หาโดยเติม TSA grown cells ที่เจือจางแล้ว 100 ไมโครลิตร หรือเซลล์แขวนลอยในช่องจานหมุน 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองปลอดเชื้อที่มีน้ำเสียสังเคราะห์ 10 มิลลิลิตร และมีความเข้มข้นของไบโอไซด์ตามที่ต้องการ จากนั้นนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เติม 1 มิลลิลิตร ของตัวอย่างที่ผ่านการบ่มมาแล้ว 48 ชั่วโมง ลงในหลอดทดลองปลอดเชื้อที่มีอาหาร tryptone soya broth (TSB) ความเข้มข้นเป็น 2 เท่า (double strength) 5 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 4 มิลลิลิตร นำหลอดทดลองไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้อาหารไม่ขุ่น คือ ค่า MLC

การศึกษาผลของไบโอไซด์ต่อการกำจัดซีโอดีและการย่อยสลายไบโอไซด์ของระบบบำบัดน้ำเสียแบบอาร์บีซีระดับห้องปฏิบัติการ

เมื่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียในรูปของการกำจัดซีโอดีของระบบอาร์บีซีคงที่ ป้อนน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีสารประกอบไอโซไธเอโซโลนความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0 (ชุดควบคุม), 6 และ 12 พีพีเอ็ม เข้าสู่ระบบด้วยอัตรา 2.5 ลิตรต่อชั่วโมง

การออกซิเดชั่นทางชีวภาพของแบคทีเรียที่แขวนลอยในระบบอาร์บีซีโดยการหาค่าบีโอดี ในสภาวะที่มีไบโอไซด์

เก็บตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ที่มี lab-lemco broth 180 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนและหลังผ่านการบำบัดด้วยระบบอาร์บีซีชุดควบคุม (ไม่มีไบโอไซด์) และเตรียมตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ดังกล่าวที่มีสารประกอบไอโซไธเอโซโลนความเข้มข้น 1.5 และ 3 พีพีเอ็ม จากนั้นหาค่าบีโอดี 5 วัน ของตัวอย่างทั้งหมดโดยวิธีมาตรฐาน [12] โดยเจือจางตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ก่อนและหลังผ่านระบบอาร์บีซีที่ 20 เท่า และ 5 เท่า ตามลำดับ

การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์

การหาค่าซีโอดีและไอโซไธเอโซโลน

เก็บตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ก่อนและหลังผ่านการบำบัดอย่างน้อย 250 มิลลิลิตร นำไปกรองผ่านแผ่นกรองเซลลูโลสอะซิเตท (cellulose acetate membrane) ขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร เพื่อกำจัดเซลล์แขวนลอยในตัวอย่าง นำตัวอย่างที่ผ่านการกรองไปวิเคราะห์หาค่าซีโอดีโดยวิธี modified closed reflux titrimetric method [12] โดยใช้สารมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.025 โมลาร์ในการไทเทรท

ความเข้มข้นของสารประกอบไอโซไธเอโซโลน หาโดยใช้โครมาโตกราฟีแบบของเหลวแรงดันสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) (C-R 74; Shimadzu Corporation, Japan) ใช้คอลัมน์ Spherisorb ODS-2 column (Waters) โดยมี 0.4% กรดอะซิติกต่อเมทานอล เท่ากับ 65:35 เป็นเฟสเคลื่อนที่ ซึ่งป้อนเข้าสู่ระบบที่อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้ตัวตรวจวัดแบบยูวี (UV detector) ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร [13]

การนับจำนวนประชากรที่มีชีวิตของไบโอฟิล์มและจุลินทรีย์แขวนลอยในระบบอาร์บีซี

ตัดไบโอฟิล์มบนแผ่นจานหมุน 1 ตารางเซนติเมตร โดยใช้ที่เจาะรู (cork borer) ปลอดเชื้อเขี่ยเอาไบโอฟิล์มออกโดยใช้มีดปลอดเชื้อ และใส่ลงในสารละลาย quarter strength ringer 9 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปโซนิเคท (sonicate) นาน 5 นาที 3 ครั้ง และเขย่าแบบวอร์เท็กซ์ (vortex) 10 วินาที ระหว่างโซนิเคทในแต่ละครั้ง [7] นำเซลล์แขวนลอยที่ได้ 1 มิลลิลิตร เจือจางลำดับส่วนในสารละลาย quarter strength ringer จากนั้นนำตัวอย่างไปเกลี่ยบนจานอาหาร TSA นำจานอาหารไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี และหาค่า TVC สำหรับจำนวนประชากรที่มีชีวิตของจุลินทรีย์แขวนลอยในระบบ หาโดยเก็บตัวอย่างน้ำจากช่องจานหมุนของระบบอาร์บีซี 1 มิลลิลิตร เจือจางลำดับส่วนในสารละลาย quarter strength ringer 9 มิลลิลิตร จากนั้นเกลี่ยตัวอย่างบนจานอาหาร TSA โดยทำ 2 ซ้ำ นำจานอาหารดังกล่าวบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารและหา TVC

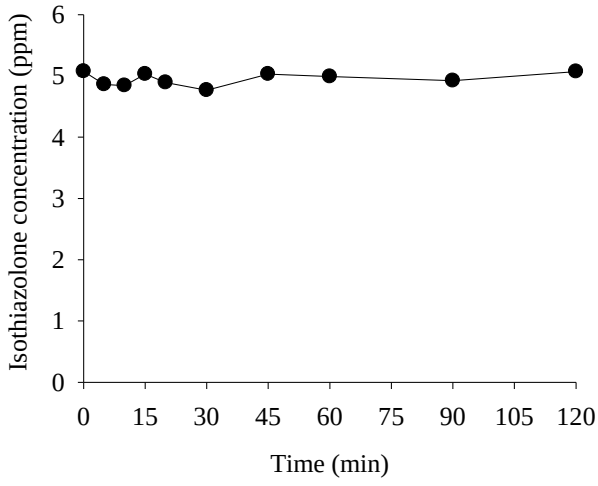
ผลการทดลองและอภิปราย

การลดลงของไบโอไซด์ในระบบอาร์บีซีที่ไม่ได้เกิดขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์ในระบบ

รูปที่ 2 แสดงความเข้มข้นของไอโซไธเอโซโลนที่เตรียมในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เวลาต่างๆ ในระบบอาร์บีซีที่ไม่มีไบโอฟิล์มและแผ่นจานหมุนหมุนด้วยความเร็ว 16 รอบต่อนาที จากผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของไอโซไธเอโซโลนในระบบค่อนข้างคงที่ภายใน 2 ชั่วโมง ที่ดำเนินการทดลอง แสดงให้เห็นว่า ไม่มีการสูญเสียไบโอไซด์นี้โดยระบบอาร์บีซีในแง่ของการระเหยหรือการดูดซับ (adsorption) บนวัสดุที่ใช้ทำแผ่นจานหมุน และถังอาร์บีซี ดังนั้น หากเกิดการลดลงของไอโซไธเอโซโลนในการทดลองต่อไป แสดงว่าเกิดเนื่องจากการทำงานของจุลินทรีย์เท่านั้น

ความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าจุลินทรีย์

จากผลการทดลอง MLC ของไอโซไธเอโซโลนต่อจุลินทรีย์แขวนลอยในระบบอาร์บีซีชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 10-12 พีพีเอ็ม



รูปที่ 2 การสูญเสียไอโซไธเอโซโลนไบโอไซด์ในน้ำเสียสังเคราะห์ในระบบอาร์บีซีที่ไม่มีชีวมวล

ผลของไบโอไซด์ต่อการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียแบบอาร์บีซีระดับห้องปฏิบัติการ

จากค่า MLC ของไอโซไธเอโซโลน ที่ได้จากการทดลอง และจากงานวิจัยต่างๆ ที่พบว่าไบโอฟิล์มมีความทนต่อไบโอไซด์ได้มากกว่าเซลล์ชนิดเดียวกันที่เจริญแบบแขวนลอย [7, 8, 9] ดังนั้นการทดลองนี้จึงเลือกศึกษาความเข้มข้นของไอโซไธเอโซโลนที่จะป้อนเข้าสู่ระบบอาร์บีซี 2 ความเข้มข้นคือ 6 พีพีเอ็ม (sub-lethal concentration) และ 12 พีพีเอ็ม (lethal concentration)

- การกำจัดซีโอดี และการย่อยสลายไบโอไซด์ของระบบอาร์บีซี

การติดตามประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของระบบอาร์บีซีที่ถูกป้อนด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ปกติโดยวัดในรูปของการกำจัดซีโอดีพบว่า ค่าการกำจัดซีโอดีเฉลี่ยที่สภาวะคงที่ของระบบอาร์บีซียูนิตที่ 1, 2 และ 3 โดยมีค่าใกล้เคียงกัน คือมีค่าเท่ากับ 66.7±6.9, 61.8±7.4 และ 65.1±4.9% ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

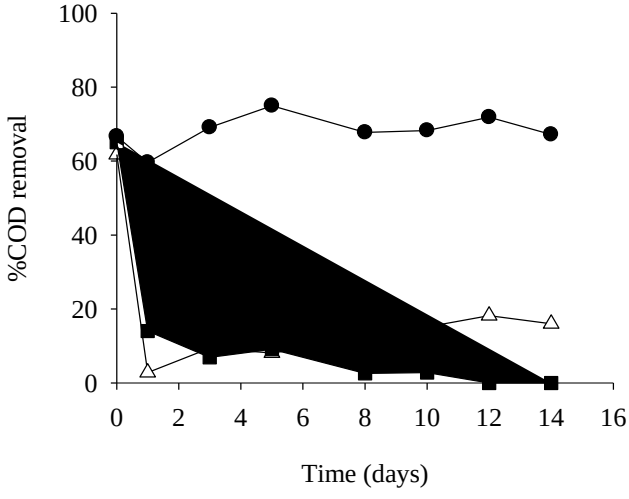
เมื่อน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีไอโซไธเอโซโลนความเข้มข้น 6 และ 12 พีพีเอ็ม ถูกป้อนเข้าสู่ระบบอาร์บีซียูนิต 2 และ 3 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 3 ซึ่งพบว่า เปอร์เซ็นต์การกำจัดซีโอดีลดลงในวันที่ 1 เมื่อระบบได้รับไอโซไธเอโซโลนที่ความเข้มข้น 6 พีพีเอ็ม จากนั้นการกำจัดซีโอดีจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นเล็กน้อย แสดงว่าระบบมีการปรับตัวให้คุ้นเคยกับสภาวะที่มีไบโอไซด์ จนเข้าสู่สภาวะคงที่ประมาณวันที่ 10 ของการทดลอง (รูปที่ 3) ในขณะที่อาร์บีซีที่ได้รับน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีไอโซไธเอโซโลน 12 พีพีเอ็ม เปอร์เซ็นต์การกำจัดซีโอดีลดลงตั้งแต่วันที่ 1 จนมีค่าเป็นศูนย์ในวันที่ 12 ของการทดลอง

เนื่องจากความเข้มข้นของไอโซไธเอโซโลนที่เข้าสู่ระบบมีค่าไม่เท่ากัน จึงทำให้ซีโอดีของน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีไอโซไธเอโซโลนที่ป้อนเข้าสู่ระบบมีค่าไม่คงที่ ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยของซีโอดีของน้ำเสียสังเคราะห์ที่เข้าและออกจากระบบอาร์บีซีและการกำจัดซีโอดีเมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงที่

ตารางที่ 2 ซีโอดีของน้ำเสียสังเคราะห์ปกติที่เข้าสู่ระบบอาร์บีซี และการกำจัดซีโอดีของระบบก่อนได้รับไอโซไธเอโซโลนไบโอไซด์

อาร์บีซียูนิตที่	ซีโอดีของน้ำเสียสังเคราะห์ที่เข้าสู่ระบบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ซีโอดีของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ออกจากระบบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การกำจัดซีโอดี (%)
1	106.0±9.5	35.0±6.2	66.7±6.9
2	108.7±6.1	41.3±7.0	61.8±7.4
3	112.7±3.1	39.5±9.6	65.1±4.9

*ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย 4 ค่า ของการหาค่าซีโอดีจากการทดลอง 10 วัน



รูปที่ 3 ผลของสารประกอบไอโซไธเอโซโลนไบโอไซด์ต่อการกำจัดซีโอดี ในระบบอาร์บีซี: ชุดควบคุม (●), 6 พีพีเอ็ม (△) และ 12 พีพีเอ็ม (■)

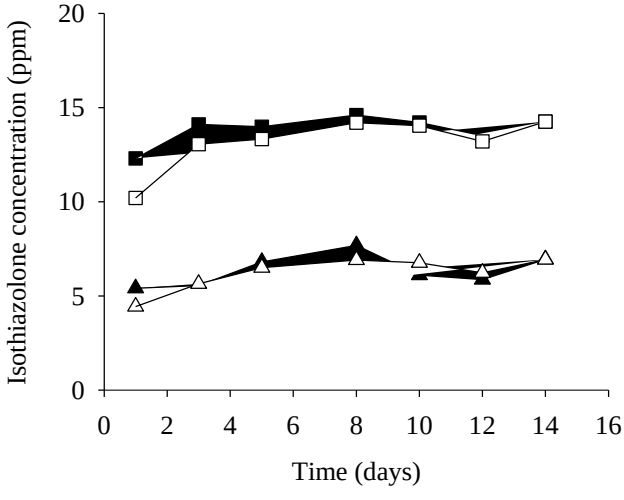
ตารางที่ 3 ผลของไอโซไธเอโซโลนไบโอไซด์ต่อการกำจัดซีโอดีในระบบอาร์บีซีที่สภาวะคงที่

ความเข้มข้นไอโซไธเอโซโลน (พีพีเอ็ม)	ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)		การกำจัดซีโอดี	
	น้ำเสียที่เข้าสู่ระบบ	น้ำเสียที่ผ่านระบบ	มิลลิกรัมต่อลิตร	%
0	117.5±11.3	37.0±4.7	80.5±10.8	68.4±4.4
6	134.0±2.3	117.0±8.9	17.0±6.8	15.3±2.7
12	160.0 ± 12.1	-	-	-

จากรูปที่ 3 และตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่า ประสิทธิภาพการบำบัดของระบบในรูปของเปอร์เซ็นต์การกำจัดซีโอดีขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไบโอไซด์และระยะเวลาที่ได้รับไบโอไซด์ โดยการกำจัดซีโอดีเหลือเพียง 15% เมื่อระบบได้รับไอโซไธเอโซโลน 6 พีพีเอ็ม ในขณะที่ที่ความเข้มข้นไอโซไธเอโซโลน 12 พีพีเอ็ม ระบบไม่สามารถกำจัดซีโอดีได้หรือกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระบบอาร์บีซีถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์

สำหรับการลดลงของไอโซไธเอโซโลน พบว่า เมื่อน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีไอโซไธเอโซโลน 6 และ 12 พีพีเอ็ม ถูกป้อนเข้าสู่ระบบอาร์บีซี ระบบไม่สามารถย่อยสลายหรือลดปริมาณไอโซไธเอโซโลนได้ภายใต้สภาวะที่ใช้ทดลอง ความเข้มข้นของไอโซไธเอโซโลนในน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบและที่ผ่านการบำบัด แสดงดังรูปที่ 4 โดยความเข้มข้นของไอโซไธเอโซโลนเฉลี่ยในน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดโดยระบบที่ได้รับไอโซไธเอโซโลน 6 และ 12 พีพีเอ็ม มีค่าเป็น 6.2±0.9 และ 13.2±1.4 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

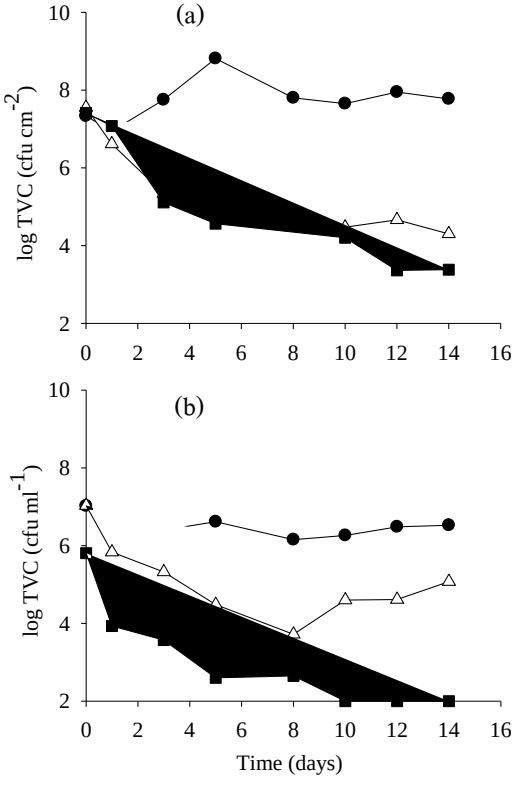
เมื่อพิจารณาการกำจัดซีโอดี และการลดลงของไอโซไธเอโซโลนที่ความเข้มข้น 6 พีพีเอ็ม โดยระบบอาร์บีซีพบว่า ระบบสามารถกำจัดซีโอดีได้ประมาณ 15% แต่ไม่สามารถลดไบโอไซด์นี้ได้ แสดงให้เห็นว่า ค่าซีโอดีที่ลดลงเกิดจากการย่อยสลาย lab-lemco broth (แหล่งคาร์บอนในน้ำเสียสังเคราะห์) เพียงอย่างเดียว ในขณะที่ไอโซไธเอโซโลนที่ความเข้มข้น 12 พีพีเอ็ม ยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในการย่อยสลาย lab-lemco broth ได้อย่างสมบูรณ์



รูปที่ 4 ความเข้มข้นของไอโซไธเอโซโลนไบโอไซด์ในระบบอาร์บีซี: น้ำเสียที่เข้าสู่ระบบที่ได้รับไบโอไซด์ 6 พีพีเอ็ม (▲) และ 12 พีพีเอ็ม (■), น้ำเสียที่ผ่านระบบที่ได้รับไบโอไซด์ 6 พีพีเอ็ม (△) และ 12 พีพีเอ็ม (□)

การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ในระบบอาร์บีซี

จากรูปที่ 5 พบว่า สารประกอบไอโซไธเอโซโลนมีผลต่อจำนวนจุลินทรีย์ในไบโอฟิล์มและจุลินทรีย์แขวนลอยในระบบอย่างชัดเจน โดยจำนวนจุลินทรีย์ในไบโอฟิล์มของอาร์บีซีชุดควบคุมมีค่าประมาณ 10^7 - 10^8 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อตารางเซนติเมตร ในขณะที่เมื่อระบบได้รับไอโซไธเอโซโลนที่ความเข้มข้น 6 และ 12 พีพีเอ็ม จำนวนประชากรที่มีชีวิตในไบโอฟิล์มเมื่อสิ้นสุดการทดลองลดลงเหลือประมาณ 10^4 และ 10^3 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 5-a) และจุลินทรีย์ที่แขวนลอยในระบบที่ได้รับไอโซไธเอโซโลน 6 พีพีเอ็ม เมื่อสิ้นสุดการทดลองลดลงประมาณ 100 เท่า คือเหลือเพียง 10^5 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 5-b) ในขณะที่เมื่อระบบอาร์บีซีได้รับไบโอไซด์นี้ที่ความเข้มข้น 12 พีพีเอ็ม พบว่า จุลินทรีย์ที่แขวนลอยในระบบมีปริมาณลดลงและตั้งแต่วันที่ 10 ของการทดลองไม่สามารถนับจำนวนจุลินทรีย์ที่แขวนลอยในระบบได้เนื่องจากมีจำนวนเซลล์ต่ำกว่าปริมาณที่สามารถตรวจวัดได้ (ต่ำกว่า 10^2 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิลิตร)



รูปที่ 5 ผลของไอโซไธเอโซโลนต่อประชากรที่มีชีวิตในไบโอฟิล์ม (a) และประชากรที่แขวนลอย (b) ในระบบอาร์บีซี: ชุดควบคุม (●), 6 พีพีเอ็ม (△) และ 12 พีพีเอ็ม (■)

ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า จำนวนประชากรที่มีชีวิตของไบโอฟิล์มลดลงอย่างชัดเจนเมื่อได้รับไอโซไธเอโซโลน อาจเนื่องมาจากอัตราการเจริญของเซลล์ในไบโอฟิล์มลดลงหรือเซลล์บางเซลล์ในไบโอฟิล์มตาย จำนวนเซลล์ในไบโอฟิล์มจึงลดลงสอดคล้องกับปริมาณจุลินทรีย์ที่แขวนลอยในระบบที่ตรวจพบ ซึ่งมีค่าลดลงและตรวจไม่พบเลยในสภาวะที่ได้รับไอโซไธเอโซโลน 12 พีพีเอ็ม

การศึกษาก่อนหน้านี้ของคณะผู้วิจัย [10, 14] พบว่าเซลล์แขวนลอยที่ตรวจพบในช่องจานหมุนภายใต้สภาวะที่ใช้ในการทดลองมาจากเซลล์ที่อยู่ในไบโอฟิล์มหลุดหรือชะออกจากจานหมุน ไม่ใช่เป็นเซลล์ที่เจริญได้เองในช่องจานหมุน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไบโอฟิล์มในระบบอาร์บีซีเป็นตัวหลักที่มีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดของระบบ และการที่จำนวนเซลล์แขวนลอยในระบบอาร์บีซีที่ได้รับไอโซไธเอโซโลน 6 พีพีเอ็ม มีค่าต่ำกว่าจำนวนเซลล์แขวนลอยของอาร์บีซีชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าไบโอฟิล์มในระบบที่ได้รับไบโอไซด์นี้มีอัตราการเจริญลดลง ทำให้มีเซลล์ชะลงในช่องจานหมุนน้อยลง และเมื่อระบบได้รับสารประกอบไอโซไธเอโซโลน 12 พีพีเอ็ม สามารถอธิบายได้ว่าจุลินทรีย์ในไบโอฟิล์มถูกทำลาย ทำให้จำนวนเซลล์ในไบโอฟิล์มลดลงเรื่อยๆ ส่งผลให้ไม่มีเซลล์ชะลงในช่องจานหมุน

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ภายใต้สภาวะที่ระบบบำบัดน้ำเสียได้รับไบโอไซด์ ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของระบบ (ในแง่ของการกำจัดซีโอดีและการย่อยสลายไบโอไซด์) และความสามารถของไบโอไซด์ในการต่อต้านกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระบบ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับไบโอไซด์ การใช้จุลินทรีย์ที่คุ้นเคยกับไบโอไซด์มาก่อน (acclimatized microorganisms) และ/หรือการให้น้ำเสียที่ปนเปื้อนไบโอไซด์อยู่ในระบบนานขึ้น โดยการลดอัตราการเจือจางของน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบ เป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของระบบดังกล่าว

บีโอดีของน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีไบโอไซด์

บีโอดีเป็นการหาปริมาณออกซิเจนที่ต้องการโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียใดๆ และไบโอไซด์เป็นสารที่ยับยั้งการทำงานหรือการเจริญของจุลินทรีย์ การทดลองนี้เป็นการหาค่าบีโอดีของน้ำเสียสังเคราะห์ (มีความเข้มข้นของ lab-lemco broth เป็น 2 เท่าของน้ำเสียสังเคราะห์ปกติ) ที่มีและไม่มีไอโซไธเอโซโลนปนเปื้อน เพื่อศึกษาความสามารถของไอโซไธเอโซโลนในการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่แขวนลอยในระบบอาร์บีซีในสภาวะที่ไม่เคยได้รับไอโซไธเอโซโลนมาก่อน ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4 และจากค่าบีโอดีที่ได้เมื่อคำนวณเป็นค่าเปอร์เซ็นต์บีโอดีที่ถูกยับยั้ง พบว่าเมื่อความเข้มข้นของไอโซไธเอโซโลนเพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์บีโอดีที่ถูกยับยั้งจะเพิ่มขึ้น โดยในสภาวะที่มีไอโซไธเอโซโลน 3 พีพีเอ็ม บีโอดีถูกยับยั้งเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีไอโซไธเอโซโลน 1.5 และ 3 พีพีเอ็ม ถูกเจือจาง 20 เท่า ดังนั้น ความเข้มข้นของไอโซไธเอโซโลนในขวดบีโอดีจึงมีค่าเพียง 0.08 พีพีเอ็ม และ 0.15 พีพีเอ็ม ตามลำดับ นั่นหมายความว่า ความเข้มข้นของไบโอไซด์นี้เพียง 0.15 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งการออกซิเดชั่นทางชีวภาพของแบคทีเรียที่แขวนลอยในระบบอาร์บีซีได้เกือบสมบูรณ์

ตารางที่ 4 บีโอดีของน้ำเสียสังเคราะห์ในสภาวะที่มีและไม่มีไอโซไธเอโซโลนไบโอไซด์ปนเปื้อน

ตัวอย่าง	บีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การยับยั้ง (%)
น้ำเสียสังเคราะห์ที่ไม่มีไอโซไธเอโซโลน	107.5	0
น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีไอโซไธเอโซโลน 1.5 พีพีเอ็ม	48.5	54.9
น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีไอโซไธเอโซโลน 3 พีพีเอ็ม	3.0	97.2

ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่า กิจกรรมของจุลินทรีย์ในขวดบีโอดีถูกยับยั้งอย่างชัดเจน เมื่อเทียบกับบีโอดี 5 วัน ของน้ำเสียสังเคราะห์ที่ไม่มีสารประกอบไอโซไธเอโซโลน ดังนั้นจึงไม่ควรใช้ค่าบีโอดีในการแสดงประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียเมื่อน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบมีไบโอไซด์หรือสารพิษอื่นปนเปื้อน หรือหากต้องการหาค่าบีโอดีของตัวอย่างที่ปนเปื้อนด้วยไบโอไซด์ ควรใช้หัวเชื้อ (seed) ที่คุ้นเคยกับไบโอไซด์นั้นมาก่อน

สรุปผลการทดลอง

สารประกอบไอโซไธเอโซโลนมีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของระบบอาร์บีซี โดยค่าการกำจัดซีโอดีของระบบลดลงจาก 68% เป็น 15% และ 0% ในสภาวะที่มีไอโซไธเอโซโลน 6 และ 12 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และระบบไม่สามารถย่อยสลายไบโอไซด์นี้ได้ภายใต้สภาวะที่ใช้ในการทดลอง ไอโซไธเอโซโลนที่ 6 และ 12 พีพีเอ็ม ทำให้จำนวนแบคทีเรียในไบโอฟิล์มลดลงจาก 10^8 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อตารางเซนติเมตร เหลือเพียง 10^4 และ 10^3 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่เมแทบอลิซึมของแบคทีเรียแขวนลอยในระบบอาร์บีซีถูกยับยั้งเกือบสมบูรณ์ภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของไบโอไซด์นี้ 0.15 พีพีเอ็ม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย ขอขอบคุณศูนย์วิจัยด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและสารอันตราย มหาวิทยาลัยขอนแก่น และศูนย์วิจัยแห่งชาติด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและของเสียอันตราย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนสารเคมีต่างๆ ในการทำวิจัย บริษัท ฟีนิคซ พัลพ แอนด์เพเพอร์ จำกัด (มหาชน) ที่เอื้อเฟื้อหัวเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการทดลอง ขอขอบพระคุณ Ms. Pawilai Phopunyasak และ Mr. Somkhit Sinsuppharoek บริษัท Nalco Industrial Services (Thailand) Co., Ltd. ที่เอื้อเฟื้อไบโอไซด์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สัณห์ พณิชยกุล และ ผศ.ดร.อรุณวดี ชนะวงศ์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือและวัสดุบางอย่างเพื่อใช้ในงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

[1] Collier, P.J., Ramsey, A.J., Austin, P. and Gilbert, P. 1990. Growth inhibitory and biocidal activity of some isothiazolone biocides. J. Appl. Bacteriol. 69: 569-577.

[2] Morris, S.L., Walsh, R.C. and Hansen, J.N. 1984. Identification and characterization of some bacterial membrane sulfhydryl groups which are targets of bacteriostatic and antibiotic action. J. Bio. Chem. 259, 13590-13594.

[3] Nishiyama N., Toshima Y. and Ikeda Y. 1995. Biodegradation of alkyltrimethyl ammonium salts in activated sludge. Chemosphere. 30(3): 593-603.

[4] Wyndham, R.C. and Kennedy, K.S. Microbial consortia in industrial wastewater treatment. In: Lappin-Scott, H.M. and Costerton, J.W. Microbial Biofilms, Cambridge University Press, 1995: 183-195.

[5] Banerjee G. 1997. Hydraulics of bench-scale rotating biological contactor. Wat. Res., 31: 2500-2510.

[6] Casey, T.J. Aerobic biofilters. In: Unit Treatment Processes in Water and Wastewater Engineering, John Wiley & Sons, 1997; 177-188.

[7] Stewart P.S., Grab L. and Diemer, J.A. 1998. Analysis of biocide transport limitation in an artificial biofilm system. J. Appl. Microbiol, 85: 495-500.

[8] Laopaiboon L., Smith R.N. and Hall S.J. 2001. A study of the effect of isothiazolones on the performance and characteristics of a laboratory-scale rotating biological contactor. J. Appl. Microbiol., 91: 93-103.

[9] Bitton, G. Process based on attached microbial growth. In: Wastewater Microbiology, Wiley-Liss. Inc., 1994; 189-198.

[10] Laopaiboon, L., Phukoetphim, N., Vichitphan, K. and Laopaiboon, P. 2 0 0 6. Efficacy of glutaraldehyde biocide on microbial activity in a laboratory-scale rotating biological contactor. Thai Environ. Eng. J. 20: 69-82.

[11] Brözel V.S. and Cloete T.E. 1994. Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to isothiazolone. J. Appl. Bacteriol., 76: 576-582.

[12] APHA AWWA and WPCE. In: Eaton, A.D., Clesceri, L.S. and Greenbery, A.E. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19 edu., American Public Heath Association, 1995; (5-12)-(5-26).

[13] Sible, V.S. 1996. Quantitative analysis of a biocide in silicone emulsions using high performance liquid chromatography. J. Liq. Chromatogr. Related Technol., 19: 1353-1367.

[14] Phukertphim, N., Laopaiboon, L., Laopaiboon, P. and Vichitphan, K. Effect of an aldehyde biocide used in paper and pulp industry on a laboratory-scale wastewater treatment plant. In : 16th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology at Phitsanulok, Thailand on December 12-15, 2004.