บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ฟอร์มาลดีไฮด์ (Formaldehyde)

ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารประกอบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 1 อะตอม มีสูตรทางเคมีคือ CH_2O มีน้ำหนักโมเลกุล 30.03 พบได้ทั้งสถานะของเหลวและก๊าซที่ไม่มีสีหรือเกือบไม่มีสี มีสภาพเป็นกรดอ่อน มีกลิ่นฉุนแรงและระคายเคือง ในสถานะของเหลวจะมีฤทธิ์กัดกร่อนคาร์บอนสตีล ค่า log Kow = 0.35 เป็นสารระเหยที่มีค่าความดันไอ 10 mmHg ที่ $-80.0^{o}C$ (Osol, 1980; Budavari, 1989) ฟอร์มาลดีไฮด์มีประโยชน์หลายด้าน เช่น เป็นสารฆ่าเชื้อในที่พักอาศัย โกดัง ภาชนะอุปกรณ์ เสื้อผ้า เป็นสารฆ่าเชื้อโรคและเชื้อราสำหรับพืชและผัก เป็นสารที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตกาว สี เรซิน กระจก ผ้าไหมเทียม สารเคลือบและรักษาเนื้อไม้ เป็นต้น (Budavari, 1989) ฟอร์มาลดีไฮด์ใช้เป็นสารที่ใช้ในการรักษาสภาพตัวอย่างสัตว์และตัวอย่างทางชีวภาพ (Goodman and Gilman, 1975) นอกจากนี้ฟอร์มาลดีไฮด์ใช้สำหรับรักษาสภาพร่างของมนุษย์ (อาจารย์ใหญ่) สำหรับการเรียนการสอนทางด้านกายวิภาคศาสตร์ สำหรับนักเรียนแพทย์และสาขาวิชาทางวิทยาศาสตร์สุขภาพ

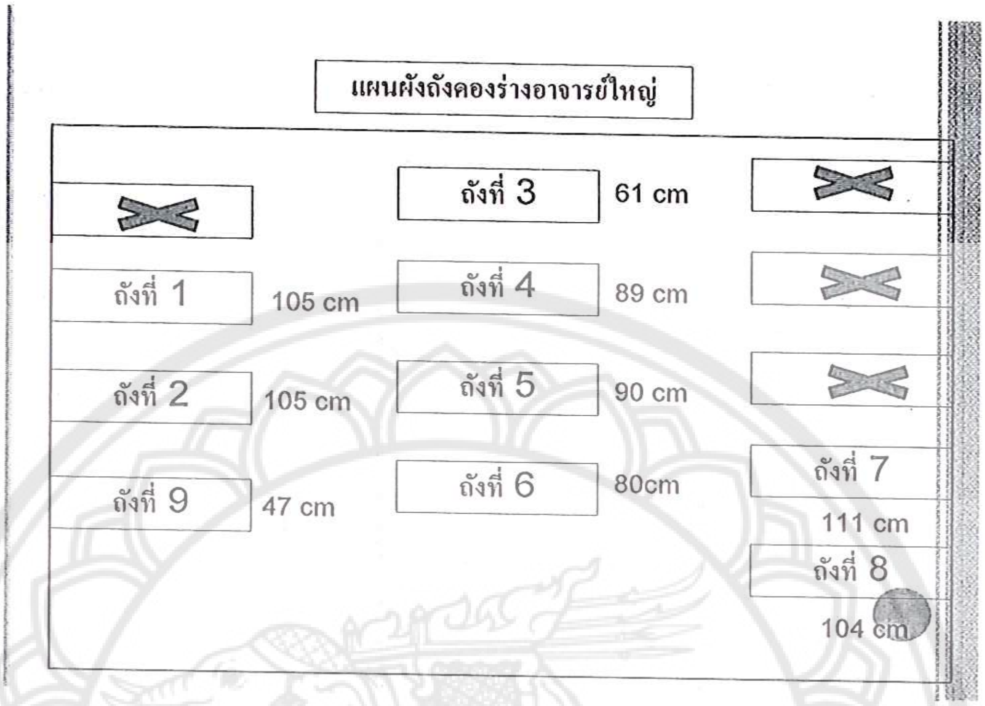
ฟอร์มาลดีไฮด์จัดเป็นสารที่มีความเป็นพิษ เป็นอันตราย และเป็นสารที่ต้องสงสัยว่าเป็นสารก่อมะเร็ง แต่ระดับความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งขึ้นอยู่กับระยะเวลาและการสัมผัส ไอระเหยของฟอร์มาลดีไฮด์เป็นอันตรายหากสูดดมหรือสัมผัสผิวหนัง เป็นสาเหตุให้เกิดการระคายเคืองผิวหนัง ตา และระบบทางเดินหายใจ ทำให้เกิดโรคภูมิแพ้ และอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตหรือทำให้ตาบอดได้ถ้ากลืนกิน หรือได้รับในปริมาณมาก โดยข้อมูลทางพิษวิทยาของฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีต่อสัตว์ทดลอง พบว่า การได้รับฟอร์มาลดีไฮด์ทางปากของหนูมีค่า LD50 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ทางผิวหนังของกระต่ายมีค่า LD50 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ส่วนการได้รับทางตาของกระต่ายในปริมาณ 750 ไมโครกรัม จะส่งผลต่อการเกิดการระคายเคืองอย่างรุนแรง และการได้รับโดยการสูดดมในหนู มีค่า LD50 203 มิลลิกรัม/ลูกบาศก์เมตร และจากการตรวจสอบผลการได้รับฟอร์มาลดีไฮด์ในสัตว์ทดลอง พบว่า เป็นสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ ก่อมะเร็ง และทำให้เกิดการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศได้ (Material Safety Data Sheet Number: F5522, 2009)

การได้รับสารฟอร์มาลดีไฮด์ทางปากจะมีผลทำให้เกิดปวดแสบปวดร้อนบริเวณที่สัมผัสตั้งแต่ ปาก คอหอยและกระเพาะอาหาร มีอาการวิงเวียน คลื่นไส้ อาเจียนเป็นเลือด ปวดท้องและท้องเดินซึ่งอาจจะมีเลือดปนออกมาด้วย หากได้รับในปริมาณที่มากอาจทำให้หมดสติและเสียชีวิตเนื่องจากระบบหายใจล้มเหลว (Gosselin, et al., 1984) IARC (International Agency for Research on Cancer) จัดสารฟอร์มาลดีไฮด์ให้อยู่ในกลุ่ม 2A คือเป็นสารที่ถูกสงสัยว่าจะเป็นสารที่ก่อมะเร็งในมนุษย์ (IARC, 1995) สถาบันมะเร็งแห่งสหรัฐอเมริกาได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับสารฟอร์มาลดีไฮด์กับอัตราการตายจากมะเร็งจมูกและคอ ถึงแม้ว่าจะมีหลักฐานไม่มากนักที่จะสรุปถึงการเกิดมะเร็งดังกล่าวว่ามีสาเหตุจากการได้รับสารฟอร์มาลดีไฮด์ แต่ก็พอที่จะสรุปได้ว่าผู้ที่ได้รับสารฟอร์มาลดีไฮด์จะมีอัตราเสี่ยงที่สูงขึ้นของการเกิดมะเร็งจมูกและคอ (Collins, et al., 1988)

จากข้อมูลใน Material Safety Data Sheet Number: F5522 (2009) ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารประกอบที่มีจุดหลอมเหลวอยู่ที่ -117°C (156 K) และมีจุดเดือด -19.3 °C (253.9 K) จึงเป็นสารที่สามารถระเหยสู่บรรยากาศได้ง่าย เป็นสารรีดิวซ์รุนแรง เมื่อสัมผัสกับอากาศจะถูกออกซิไดส์ช้าๆ ไปเป็นกรดฟอร์มิกซึ่งมีฤทธิ์กัดกร่อน มีค่าพีเอชประมาณ 2.8-4.0 สามารถรวมตัวได้กับน้ำแอลกอฮอล์ แต่ฟอร์มาลดีไฮด์ไม่สามารถใช้ร่วมกับสารดังต่อไปนี้ คือ ด่างทับทิม ไอโอดีน และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ถ้าฟอร์มาลดีไฮด์เก็บไว้นานหรือเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4.4 °C ฟอร์มาลดีไฮด์จะเปลี่ยนรูปไปเป็น พาราฟอร์มาลดีไฮด์ ซึ่งมีลักษณะเป็นตะกอนสีขาวที่มีความพิษมากยิ่งขึ้น

ความเข้มข้นและปริมาตรน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์ที่เกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่

จากการศึกษาและเก็บรวบรวมข้อมูลก่อนหน้านี้ในหัวข้อวิจัย เรื่อง การศึกษาลักษณะและปริมาณน้ำเสียจากการดองร่างอาจารย์ใหญ่เพื่อการศึกษาทางการแพทย์: กรณีศึกษา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยแห่งชาติประจำปีงบประมาณ 2553 เพื่อติดตามความเข้มข้นและปริมาตรน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นองค์ประกอบที่เกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่ พบว่า น้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่ประกอบด้วย ฟอร์มาลดีไฮด์ในรูปฟอร์มาลีน (ฟอร์มาลีน 40%) ปริมาตร 30 ลิตร กลีเซอรีน 3 ลิตร และ ฟีนอล 500 มิลลิลิตร ในน้ำ 1,500 ลิตร โดยใช้สารที่เป็น laboratory grade ปริมาณที่เตรียมในแต่ละครั้งขึ้นอยู่กับจำนวนร่างอาจารย์ใหญ่ที่จะนำมาดอง โดยวิธีการเตรียมจะเป็นในลักษณะเทส่วนประกอบทุกอย่างผสมรวมกันภายในถังดองที่ใช้สำหรับกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่



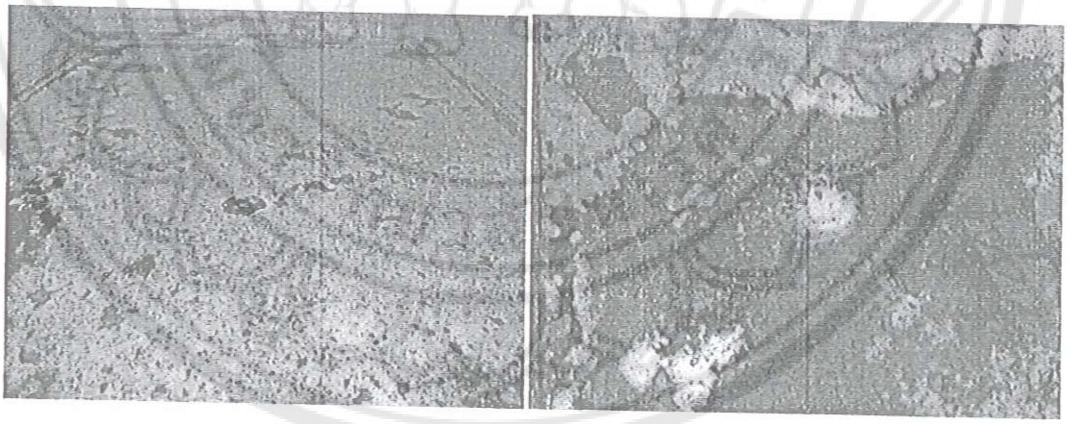
ภาพ 1 แผนผังถังดองร่างอาจารย์ใหญ่ในอาคารดองร่างอาจารย์ใหญ่
คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ปัจจุบัน อาคารดองร่างอาจารย์ใหญ่คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีถังดองอาจารย์ใหญ่ที่ใช้งานจริงทั้งหมด 9 ถัง และมีถังอยู่อีกจำนวนหนึ่งซึ่งไม่ได้ใช้งาน ดังภาพ 1 ซึ่งแสดงแผนผังถังดองร่างอาจารย์ใหญ่ นอกจากนี้ ในแต่ละถังที่มีการใช้งานยังมีปริมาตรน้ำยาดองที่บรรจุแตกต่างกันดังแสดงใน ตาราง 1 ดังนั้น ถ้ามีการเปลี่ยนถ่ายน้ำยาดอง 1 ครั้งต่อปี จะได้ปริมาตรน้ำยาดองทั้งหมดในถังดองที่ต้องบำบัดประมาณ 24,862 ลิตร แต่โดยทั่วไปจะเปลี่ยนถ่ายน้ำยาดอง 2 ครั้งต่อปี เพื่อรักษาสภาพของอาจารย์ใหญ่ให้ดีที่สุด ดังนั้นปริมาณน้ำยาดองต่อปีอย่างน้อยที่สุดจึงเท่ากับ 49,724 ลิตร ที่ต้องได้รับการบำบัดก่อนปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อม

และจากการเก็บข้อมูลน้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่ทั้งหมดที่มีการเปลี่ยนถ่ายในเดือนพฤษภาคม 2553 ทั้งหมด 5 ถัง เพื่อนำร่างอาจารย์ใหญ่บางส่วนไปใช้สำหรับการศึกษาในภาคเรียนที่ 1/2553 จะมีปริมาตรน้ำยาดองหลังจากการดองทั้งหมดประมาณ 14,485 ลิตร ถูกเก็บไว้ในถังเก็บ (ภาพ 2) และมีความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ เฉลี่ย 2,424.37 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวสูงเกินมาตรฐานที่กำหนด โดยมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง ที่ประกาศโดยกระทรวง วิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2539) กล่าวว่า ปริมาณความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำทิ้งจะต้องไม่เกิน 1 มิลลิกรัม/ลิตร

ตาราง 1 ปริมาตรของน้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่ในแต่ละถังดอง

ถังที่	ปริมาตรของถัง (cm^3)				ปริมาตรของน้ำดอง(cm^3)	
	ความสูง (cm)	ความกว้าง (cm)	ความยาว (cm)	ปริมาตรถัง (cm^3)	ระดับน้ำ (cm)	ปริมาตรน้ำ (1,000cm^3)(L)
1	116	149	217	3,750,628	105	3,395
2	116	149	217	3,750,628	105	3,395
3	91	150	200	2,730,000	61	1,830
4	91	150	200	2,730,000	89	2,670
5	91	150	200	2,730,000	90	2,700
6	94	150	200	2,820,000	80	2,400
7	116	149	217	3,750,628	111	3,589
8	116	149	217	3,750,628	104	3,363
9	116	149	217	3,750,628	47	1,520
ปริมาตรของน้ำดองทั้งหมด					24,862 L	



ภาพ 2 ลักษณะน้ำยาดองร่างอาจารย์ใหญ่ในถังเก็บก่อนนำเข้าสู่การบำบัด

การบำบัดน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นส่วนประกอบ

การบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียมีด้วยกันหลายวิธีทั้งทางกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ เช่น การใช้ถ่านกัมมันต์ ดูดซับฟอร์มาลดีไฮด์ที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย แต่พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดอยู่ในระดับต่ำ การออกซิเดชันฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้ โอโซน (O_3) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หรือคลอรีน (Cl_2) พบว่ามีประสิทธิภาพดี แต่มีข้อจำกัดหลายอย่าง เช่น ค่าติดตั้งสูง ค่าใช้จ่ายด้านสารเคมี และผลกระทบจากสารเคมีตกค้าง (Kao, et al., 2003) เป็นต้น และกระบวนการทางชีวภาพ เช่น การบำบัดโดยใช้จุลินทรีย์ เป็นต้น

การบำบัดน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นส่วนประกอบโดยใช้จุลินทรีย์

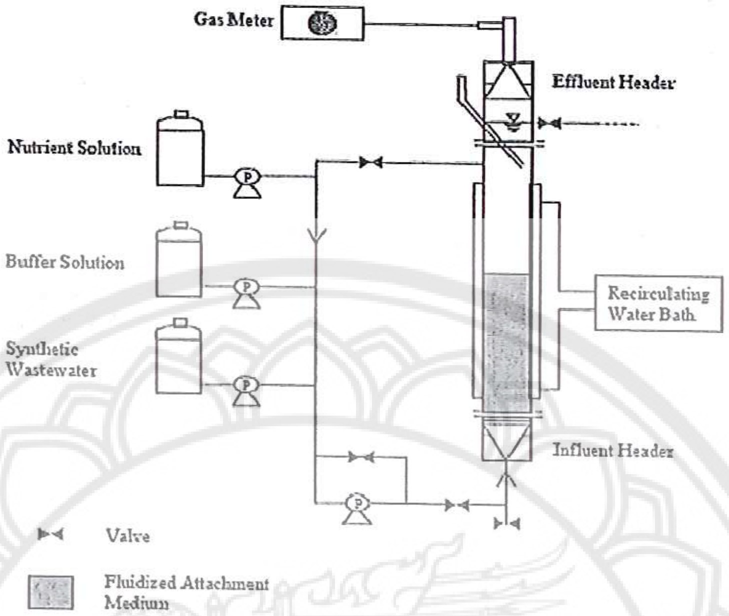
กระบวนการทางชีวภาพเป็นอีกทางเลือกที่เหมาะสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ เนื่องจากเป็นระบบที่มีประสิทธิภาพสูงและค่าใช้จ่ายต่ำ ระบบตะกอนเร่งเป็นเทคโนโลยีในการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป ระบบจะประกอบด้วยถังเติมอากาศซึ่งเป็นถังปฏิกิริยาสำหรับการบำบัดสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์และถังตกตะกอนสำหรับการแยกเชื้อตะกอนจุลินทรีย์ออกจากน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้ว แต่ข้อจำกัดของการบำบัดทางชีวภาพเกิดจากความเข้มข้นที่สูงของฟอร์มาลดีไฮด์ที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย อาจมีความเป็นพิษต่อเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของระบบลดลงจนนำไปสู่ความล้มเหลวของระบบได้

มีรายงานการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์แบบไม่ใช้อากาศพบว่า ที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์เท่ากับ 100 มิลลิกรัม/ลิตร เชื้อจุลินทรีย์ที่มีการผลิตมีเทนจำพวก Methanogenic จะมีปริมาณลดลง 50% เมื่อใช้กรดไขมันที่ระเหยได้ (Volatile fatty acid, VFA) เป็น co-substrate และที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์มากกว่า 200 มิลลิกรัม/ลิตร ขึ้นไป เชื้อจุลินทรีย์พวกนี้จะถูกยับยั้งจนหมด แต่พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 250 ชั่วโมง แบคทีเรียจะเจริญขึ้นมาใหม่เพื่อกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ถ้าใช้ซูโครส เป็น co-substrate ที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์เท่ากับ 238 มิลลิกรัม/ลิตร เชื้อจุลินทรีย์ที่มีการผลิตมีเทนจำพวก Methanogenic จะมีปริมาณลดลง 50\% (Vidal, et al., 1999)

Lotfy and Rashed (2002) ได้ศึกษาการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์แบบใช้อากาศพบว่า ที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์เท่ากับ 300 มิลลิกรัม/ลิตร ความสามารถในการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ของเชื้อจุลินทรีย์หรือปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะลดลง นอกจากนั้นมีรายงานว่าฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำหากมีความเข้มข้นเกินกว่า 500 มิลลิกรัม/ลิตร ขบวนการใช้ออกซิเจนทางชีวภาพจะถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ (กรมควบคุมมลพิษ, 2541) ฟอร์มาลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 5,400 มิลลิกรัม/ลิตร จะทำลายสิ่งมีชีวิตจำพวกจุลินทรีย์ทุกชนิดภายในเวลา 6-12 ชั่วโมง (Oliveira, 2004)

การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยระบบเอสบีอาร์ (sequencing batch reactors; SBR) เป็นระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพอีกวิธีหนึ่งซึ่งอาศัยหลักการของระบบตะกอนเร่ง (Activated sludge) ลักษณะสำคัญของระบบเอสบีอาร์ คือเป็นระบบตะกอนเร่งแบบเติมเข้า-ถ่ายออก (Fill-and-Draw activated sludge) โดยมีขั้นตอนในการบำบัดน้ำเสียต่างจากระบบตะกอนเร่งแบบอื่นๆ คือ การเติมอากาศ (Aeration) และการตกตะกอน (Sedimentation) จะดำเนินการเป็นไปตามลำดับภายในถังปฏิกิริยาเดียวกัน ซึ่งนับได้ว่าเป็นการลดการใช้พื้นที่และประหยัดค่าใช้จ่ายในการก่อสร้างและติดตั้ง ซึ่งจากการทดลองพบว่าระบบเอสบีอาร์สามารถบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 50-500 มิลลิกรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพการบำบัดมากกว่า 99% ซึ่งน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดมีค่าฟอร์มาลดีไฮด์ต่ำกว่า 1 มิลลิกรัม/ลิตร แต่เมื่อความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์สูงเกิน 500 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่า ประสิทธิภาพในการทำงานของระบบลดลง (กมลชนก แสงสว่าง และชลอ จารุสุทธิรักษ์, 2552)

มีรายงานการศึกษาการลดระดับของฟอร์มาลดีไฮด์โดยการใช้จุลินทรีย์ในอาหารที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนและมีการควบคุมอัตราการให้อาหารแบบ fed-batch และ continuous chemostat จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ที่ลดลง โดยใช้ Enzyme assay จากการศึกษาพบว่า เชื้อสามารถลดระดับฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 1,200 มิลลิกรัม/ลิตร ให้หมดไปภายใน 200 ชั่วโมง (Mitsui, et al., 2004) การบำบัดน้ำเสียที่มีฟอร์มาลดีไฮด์ โดยใช้ anaerobic fiuidzed bed granular activated carbon bio-reaction (AFBGAC) (ภาพ 3) หรือการใช้ถังหมักแบบ anaerobe ที่มีการใส่ activated carbon เข้าไปสำหรับให้จุลินทรีย์ได้ยึดเกาะ จากนั้นเติมอาหาร สารละลาย buffer และน้ำเสียเข้าไปในระบบ พบว่าวิธีการนี้มีประสิทธิภาพในการบำบัดได้สูงถึง 99.99% นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถทนต่อระดับของฟอร์มาลดีไฮด์ได้สูงถึง 1,100 มิลลิกรัม/ลิตร (Moteteb, et al., 2002) เป็นต้น



ภาพ 3 การบำบัดแบบ Anaerobic fluidized bed reactor

ที่มา: Moustafa, et al., 2002

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่นๆ เกี่ยวกับการศึกษาการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้จุลินทรีย์ดังนี้

Adroer, et al. (1990) ศึกษากระบวนการทางชีวภาพในการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้จุลินทรีย์ *Pseudomonas putida* โดยพบว่าการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์เริ่มต้นที่ปฏิกิริยา dismutation ทำให้เกิดกรดฟอร์มิกและเมทานอล จากนั้นการย่อยสลายกรดฟอร์มิกและเมทานอลเริ่มขึ้นเมื่อปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในระบบมีค่าลดลง โดยจุลินทรีย์เริ่มย่อยสลายกรดฟอร์มิกก่อนตามด้วยเมทานอล ผลการวิจัยระบุว่าการเพิ่มปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์ในระบบส่งผลต่อจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ทำให้เซลล์ที่มีชีวิตลดปริมาณลง

Omil, et al. (1999) การศึกษาการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศในสภาวะที่เติมและไม่เติม co-substrate ประเภทกรดไขมันระเหยง่าย (volatile fatty acids) จากการศึกษาพบว่าการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์เกิดขึ้นได้ดีในสภาวะที่มีการเติม co-substrate โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้ามีกรดอะซิติกในปริมาณที่สูง และระหว่างการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ พบว่ามี เมทานอลเกิดขึ้นเป็นสารตัวกลาง (intermediate) ไม่ว่าจะมีการเติม co-substrate หรือไม่ก็ตาม การศึกษาผลของฟอร์มาลดีไฮด์ต่อกระบวนการบำบัดทางชีวภาพ

พบว่า ฟอร์มาลดีไฮด์มีส่วนยับยั้งการย่อยสลายกรดไขมันระเหยง่าย ค่าความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ที่ 4.17 มิลลิโมลาร์ (125 มิลลิกรัม/ลิตร) ลดประสิทธิภาพการทำงานของตะกอนสลัดจ์ลงร้อยละ 50 และที่ความเข้มข้น 5.00–6.67 มิลลิโมลลาร์ (150–200 มิลลิกรัม/ลิตร) พบการสะสมของเมทานอลในระบบ

Vidal, et al. (1999) พบว่าความเป็นพิษของฟอร์มาลดีไฮด์ในการทดลองแบบครั้งคราว (Batch) ที่มีการใช้กรดไขมันระเหยง่ายเป็น co-substrate และภายใต้กระบวนการปรับสภาพน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์แบบต่อเนื่อง (continuous) ภายใต้สภาวะไร้อากาศในถังปฏิกรณ์ up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) มีผลให้จุลินทรีย์ที่ผลิตมีเทน (Methanogen) ลดลงร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้นฟอร์มาลดีไฮด์ประมาณ 100% และที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์มากกว่า 200 มิลลิกรัม/ลิตร ขึ้นไปเชื้อจุลินทรีย์พวกนี้จะถูกยับยั้งจนหมด แต่พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 250 ชั่วโมง แบคทีเรียจะเจริญขึ้นมาใหม่เมื่อกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีเท่ากับร้อยละ 90-95

Garrido, et al. (2000) พบว่าระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งใน Lab scale ปริมาตร 2 ลิตร สามารถกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ได้ร้อยละ 99 ในขณะเดียวกันสามารถกำจัดซีโอดีและสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน (TKN) ได้เท่ากับร้อยละ 70-85 และร้อยละ 30-50 ตามลำดับ ฟอร์มาลดีไฮด์ถูกใช้โดยจุลินทรีย์ในการเปลี่ยนไนเตรทให้เป็นแก๊สไนโตรเจน โดยระบบถูกควบคุมค่าอัตราการเติมสารอินทรีย์เท่ากับ 0.2-1.2 kg COD/m^3 และระยะเวลาการกักเก็บน้ำ (HRT) เท่ากับ 0.5-1.4 วัน

Glancer-soljan, et al. (2001) ศึกษาการผสมจุลินทรีย์ 3 ชนิด คือ *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas cepacia* และ *Trichosporon penicillatum* เพื่อใช้ย่อยฟอร์มาลดีไฮด์และกรดฟอร์มิกในน้ำเสียสังเคราะห์และน้ำเสียจริงประเภทเมลามีนเรซิน แบบใช้อากาศ จากการศึกษา พบว่า จุลินทรีย์ในระบบสามารถบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ ที่มีความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ได้ภายใน 18-24 ชั่วโมง และย่อยกรดฟอร์มิกที่มีความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/ลิตร ภายในเวลา 12-18 ชั่วโมง ระบบมีประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีได้ร้อยละ 90 ในขณะที่สามารถบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ เมทานอลและบิวทานอลได้อย่างสมบูรณ์ จากการศึกษาบทบาทของจุลินทรีย์ในการบำบัด พบว่า จุลินทรีย์ชนิด *Pseudomonas* spp. ย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้เอ็นไซม์ Formaldehyde dismutase ยีสต์กลุ่ม *Hansenula* spp. และ *Candida* spp. ใช้เอ็นไซม์ Formaldehyde dehydrogenase ในการย่อยสลาย ส่วนจุลินทรีย์ชนิด *Trichosporon penicillatum* มีส่วนช่วยในการสร้างฟล็อคที่ทำให้เกิดการตกตะกอน

Lotfy และ Rashed (2002) พบว่าในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์แบบใช้อากาศที่ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์เท่ากับ 31.5 ถึง 125 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 16 วัน ฟอร์มาลดีไฮด์จะมีความเข้มข้นคงเหลือเท่ากับร้อยละ 40 ถึง 85 และเมื่อความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์เป็น 300 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าความสามารถในการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์จะลดลงเหลือประมาณร้อยละ 50-70 ส่วนฟีนอลที่เป็นพิษต่อกระบวนการทางเคมีจะถูกเปลี่ยนรูปให้ไม่มีพิษโดยใช้โซเดียมซัลไฟต์ ซึ่งโซเดียมซัลไฟต์จะรวมตัวกับฟอร์มาลดีไฮด์เกิดเป็นโซเดียมฟอร์มาลดีไฮด์ไบซัลไฟต์เป็นผลให้กิจกรรมการย่อยสลายทางชีวภาพสูงขึ้น

Oliveira, et al. (2004) พบว่าการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในถังปฏิกรณ์แบบ Horizontal-Flow Anaerobic Immobilized Sludge Reactor (HAIB) ที่ความเข้มข้น 26.2-1,158.6 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถลดปริมาณฟอร์มาลดีไฮด์และซีโอดีลงได้ร้อยละ 99.7 และ 92 ตามลำดับ กรดไขมันที่ระเหยง่าย (Volatile fatty acid, VFA) เกิดขึ้นระหว่างย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้สารตัวกลางจำพวก เมทานอลและกรดฟอร์มิก

Eiroa, et al. (2006) ศึกษาการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตพลาสติกด้วยระบบบำบัดทางชีวภาพ น้ำเสียมีฟอร์มาลดีไฮด์และกรดฟอร์มิก ปนเปื้อน โดยค่าความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์อยู่ในช่วง 2,087-2,200 มิลลิกรัม/ลิตร และกรดฟอร์มิกอยู่ระหว่าง 1,385-1,514 มิลลิกรัม/ลิตร ผลการวิจัยพบว่า ระบบบำบัดทางชีวภาพสามารถกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์และกรดฟอร์มิกได้สูงถึงร้อยละ 99.9 และ 99.7 ตามลำดับ ปริมาณสารคาร์บอนอินทรีย์ทั้งหมดในน้ำเสียมีค่าระหว่าง 1,423-1,600 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นอัตราภาระสารอินทรีย์เท่ากับ 0.20 kg TOC/m^3 ระบบสามารถบำบัดสารคาร์บอนอินทรีย์ได้ร้อยละ 92 นอกจากนี้การศึกษายังพิจารณาถึงการกำจัดสารไนโตรเจน โดยค่าทีเคเอ็นในน้ำเสียมีค่าเท่ากับ 468–492 มิลลิกรัม/ลิตร ถูกบำบัดได้ร้อยละ 76.6

กมลชนก แสงสว่าง และชลอ จารุสุทธิรักษ์ (2552) ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยระบบเอสบีอาร์ โดยทำการทดลองแบบ ครั้งคราว ซึ่งปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นเริ่มต้นของฟอร์มาลดีไฮด์ ปริมาณตะกอนสลัดจ์ ระยะเวลาสัมผัส และค่าพีเอชของระบบ จากการศึกษาพบว่าระบบบำบัดทางชีวภาพแบบเติมอากาศสามารถบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นสูงถึง 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ได้ ซึ่งร้อยละของการบำบัดมีค่า 99.6 ที่เวลา 24 ชั่วโมง และปริมาณของตะกอนสลัดจ์ เท่ากับ 500 มิลลิกรัม/ลิตร การเพิ่มปริมาณตะกอนสลัดจ์ส่งผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์สูงขึ้น ในขณะที่ระยะเวลาการบำบัดสั้นลง ปริมาณตะกอนสลัดจ์ในช่วง 1,000–2,000 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถ

บำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ได้ถึงร้อยละ 99.9 ที่ระยะเวลาสัมผัสตั้งแต่ 6 ชั่วโมงขึ้นไป โดยน้ำที่ผ่านการบำบัดมีค่าฟอร์มาลดีไฮด์ต่ำกว่ามาตรฐานน้ำทิ้งอุตสาหกรรม (1 มิลลิกรัม/ลิตร) การศึกษาผลของพีเอชพบว่า ค่าพีเอชที่เหมาะสม อยู่ระหว่างพีเอช 5.0-7.0 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของระบบเอสบีอาร์ได้ทำการศึกษาค่าอายุตะกอนสลัดจ์ต่างๆ ได้แก่ 10 30 และ60 วัน พบว่า การเพิ่มอายุสลัดจ์ส่งผลให้ปริมาณตะกอนสลัดจ์ในระบบมีค่ามากขึ้น จึงทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ของระบบเอสบีอาร์มีค่าสูงขึ้นด้วย

Moussavi, et al. (2009) ได้นำกระบวนการทางเคมี ที่เรียกว่า CAOP ของ $O_3/MgO/H_2O_2$ มาใช้ในการกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียสังเคราะห์ร่วมกับระบบบำบัดแบบ เอสบีอาร์ โดยมี CAOP เป็นระบบแรก ซึ่งในเวลา 120 นาที สามารถกำจัดในส่วนของฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 7,000 มิลลิกรัม/ลิตรและซีโอดีในน้ำเสียลงได้ 79% และ 65.6% ตามลำดับ จนทำให้เหลือความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์และซีโอดีในน้ำเสียเป็น 1,500 มิลลิกรัม/ลิตร และ 3,200 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ และเมื่อปล่อยน้ำเสียเข้าสู่ระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์ ทำให้สามารถกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียลงได้อย่างสมบูรณ์ขณะที่เหลือค่าซีโอดีในน้ำเพียง 60 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง

จุลินทรีย์ที่สามารถใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้

จุลินทรีย์หลายชนิดมีความสามารถในการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์โดยจัดอยู่ในกลุ่ม Methylotroph ซึ่งหมายถึง จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการใช้สารประกอบที่มีคาร์บอน 1 อะตอม เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานได้ ยกตัวอย่างสารประกอบที่มีคาร์บอน 1 อะตอม เช่น methane methanol methylamine formate และ formaldehyde

จุลินทรีย์ที่สามารถใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้มีอยู่ 4 กลุ่มใหญ่ คือ Methanotrophic bacteria Methylotrophic bacteria Methylotrophic yeast และ Methylotrophic mold และจากการศึกษาพบว่ามีงานวิจัยหลายงานที่มีการศึกษาและสามารถคัดแยกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ดังเช่น การศึกษาการลดระดับความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ ในเชื้อ *Methylobacterium* sp.MF1 ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ใหม่ที่คัดเลือกได้ในกลุ่มของ Methylotrophic bacteria (Mitsui, et al., 2004) การศึกษา C_1 metabolism ของเชื้อ *Paracoccus denitrificans* ซึ่งเป็นเชื้อในกลุ่ม Methylotrophic bacteria พบว่ามีการสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ C_1 metabolism หลายชนิด คือ Methylamine dehydrogenase (MDH), NAD-GSH-dependent formaldehyde dehydrogenates (GD-FALDH), Formate dehydrogenaes (FDH) และ *S*-formylglutathione hydrolase (FGH) (Van Spanning, et al., 2000)

ตัวอย่างของแบคทีเรียในกลุ่ม Methylotroph ที่สามารถย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้ เช่น *Paracoccus denitrificans Methylomonas rubra Methylococcus thermophilus Pseudomonas* sp. และ *Streptomyces* sp. เป็นต้น สำหรับยีสต์ที่ย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้ เช่น *Pichia pastoris Candida bidinii* และ *Hansenula polymorpha* ในส่วนของเชื้อรานั้น มีรายงานเชื้อราที่อยู่ในกลุ่ม formaldehyde resistant fungus เช่น *Paecilomyces variotii* เป็นต้น (Kondo, et al., 2008)

จากการค้นคว้างานวิจัยอื่นๆ มีงานวิจัยหลายฉบับที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้ ดังนี้

Pseudomonas putida และ *Pseudomonas cepacia* สามารถย่อยสลายน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ภายในเวลา 30 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ (Glancer-Soljan, 2001) ส่วน *Pseudomonas putida* A2 สามารถย่อยสลายน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัม/ลิตร (Adroer, et al., 1990 อ้างอิงใน Eiroa, 2005)

Trichosporon penicillatum สามารถย่อยสลายน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ภายในเวลา 36 ชั่วโมง (Glancer-soljan, et al., 2001)

Halomonas sp. MA-C สามารถย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ในน้ำเกลือ (Adroer, et al., 1990 อ้างอิงใน Eiroa, 2005)

Hansenula spp. ที่สามารถย่อยสลายเมทานอลได้ ทำให้เกิดฟอร์มาลดีไฮด์ขึ้นใน cytoplasm และสามารถสลายฟอร์มาลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นได้โดยอาศัย NAD-dependant formaldehyde และ Formaldehyde dehydrogenase (Van Dijken, et al., 1976)

Candida boidinii ที่ถูกนำมาเลี้ยงบนอาหารที่มีเมทานอลเป็นแหล่งคาร์บอน สามารถเจริญและตรวจพบเอนไซม์ Formaldehyde hydrogenase และ Formate dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญที่ใช้ในกระบวนการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ (Schutte, et al., 1976)

Burkholderia fungorum LB400 มีวิถีเมทาบอลิซึมที่ใช้ในการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้ 3 วิถีทาง คือ NAD-linked, glutathione (GSH)-independent formaldehyde dehydrogenase; NAD-linked, GSH-dependent formaldehyde oxidation system และ tetrahydromethanopterin-methanofuran-dependent formaldehyde oxidation system (Marx, et al., 2004)

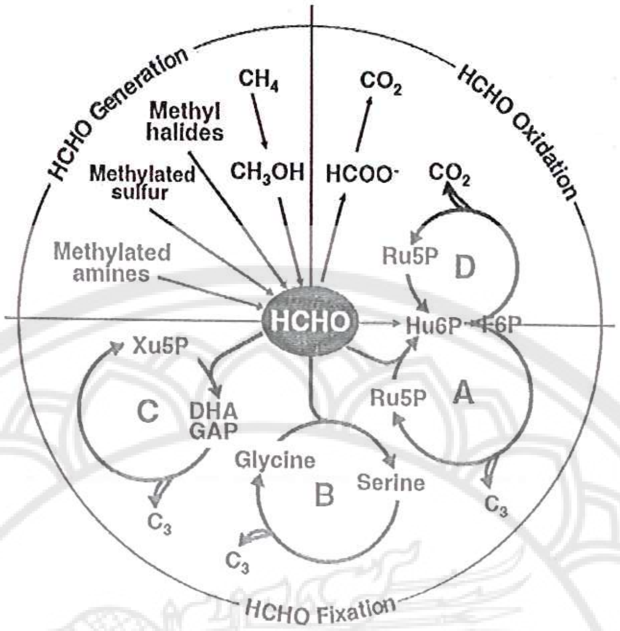
Rhodococcus erythropolis UPV-1 สามารถเจริญได้บนฟีนอลและย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ได้อย่างสมบูรณ์ทั้งในน้ำเสียสังเคราะห์และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม โดยอัตราการกำจัดฟอร์มาลดีไฮด์ขึ้นอยู่กับจำนวนเซลล์เริ่มต้นและความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำ (Hidalgo, et al., 2002)

Nannochloropsis oculata ST-3 ซึ่งเป็นสาหร่ายทะเลที่นำมาทำให้มีความคุ้นเคยต่อฟอร์มาลดีไฮด์ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อเพิ่มความสามารถในการทนต่อฟอร์มาลดีไฮด์และประสิทธิภาพในการย่อยสลาย จนสามารถย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ที่ปนเปื้อนในทะเลได้ 19.9 มิลลิกรัม/ลิตร ในเวลา 22 วัน (Yoshida, et al., 2009)

นอกจากนั้นมีรายงานการคัดแยกเชื้อ *Pseudomonas cepacia* และ *Bacillus brevis* สายพันธุ์ใหม่ ได้จากน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมยาง ซึ่งมี phenol และ formaldehyde เป็นส่วนประกอบ ซึ่งเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ เป็นเชื้อที่มีความสามารถในการทนต่อ phenol ที่มีความเข้มข้นสูงได้ (Aruthchelvan, et al., 2005) การศึกษาเชื้อรา *Aspergillus nomius* IRI013 ที่แยกได้จากดิน ซึ่งเป็นเชื้อในกลุ่ม formaldehyde-resistant fungus พบว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ Formate oxidase ได้ โดยเอนไซม์ที่เชื้อสร้างขึ้นนั้นเป็นเอนไซม์ที่มีความเกี่ยวข้องในกระบวนการ C_1 metabolism นอกจากนี้ ยังพบอีกว่าเชื้อยีสต์ *Candida bidinii Hansenula polymorpha* และ *Pichia pastoris* ก็สามารถสร้างเอนไซม์ชนิดนี้ได้เช่นกัน (Kondo, et al., 2002)

กระบวนการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ในเชื้อจุลินทรีย์

กระบวนการย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์ของจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนได้ สามารถเกิดขึ้นได้ 2 รูปแบบที่สำคัญ คือ กระบวนการ oxidation และกระบวนการ fixation หรือ assimilation ดังภาพ 4 โดยกระบวนการ oxidation จะถูกแบ่งออกเป็น Linear cofactor-linked pathways และ Cyclic oxidation pathway ส่วนในกระบวนการ fixation หรือ assimilation จะประกอบด้วย 3 วิถีหลักในการสังเคราะห์ให้กลายเป็นสาร C2 และ C3 compounds คือ วิถี serine pathway ribulose monophosphate (RuMP) pathway ที่พบใน โปรคาริโอต และ xylulose monophosphate (XuMP) pathway ที่พบในยูคาริโอต อาทิ เช่น yeast (Yurimoto, et al., 2005)



ภาพ 4 ภาพรวมของวิธีเมทาบอลิซึมสาร C1 compounds ใน methylotrophic bacteria

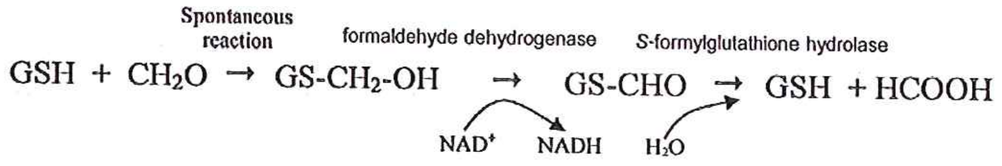
ที่มา: Yurimoto, et al., 2005

1. กระบวนการ oxidation

กระบวนการ oxidation ของฟอร์มาลดีไฮด์ในน้ำเสียที่เกิดโดยเชื้อจุลินทรีย์นั้น สามารถเกิดขึ้นได้ 2 รูปแบบ ดังนี้

1.1 Linear cofactor-linked pathways

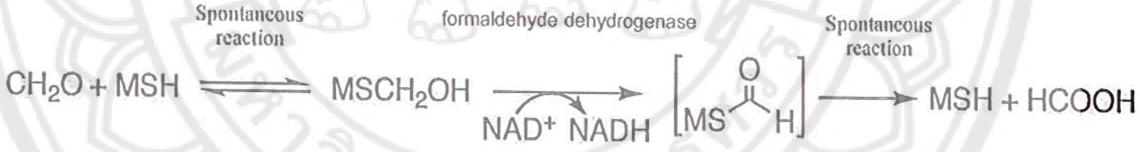
1.1.1 Glutathione (GSH)-dependent NAD^+-linked formaldehyde dehydrogenase (GSH-FDH): ใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารตั้งต้นจับกับ Glutathione ซึ่งทำหน้าที่เป็น cofactor มี NAD^+ เป็นตัวรับอิเล็กตรอน และเอนไซม์ฟอร์มาลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนส (Formaldehyde dehydrogenase, FDH) และเอนไซม์ฟอร์มิลกลูตาไทโอนไฮโดรเลส (*S*-formylglutathione hydrolase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้ผลผลิตสุดท้ายออกมาเป็นกรดฟอร์มิก ดังแสดงในภาพ 5 ปฏิกิริยานี้สามารถพบได้ทั่วไปทั้งในโปรคารีโอต และยูคารีโอต เช่น nonmethylotrophic organisms รวมทั้งในพืชและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม methylotrophic bacteria และ methylotrophic yeasts (Gonzalez, et al., 2006)



ภาพ 5 วิถีเมตาบอลิซึมแบบ Glutathione (GSH)-dependent NAD-linked formaldehyde dehydrogenase (GSH-FDH)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Gonzalez, et al., 2006

1.1.2 Mycothiol-dependent NAD^+-linked formaldehyde dehydrogenase (MSH-FDH): ใช้ฟอร์มาลดีไฮด์เป็นสารตั้งต้นจับกับ Mycothiol ซึ่งทำหน้าที่เป็น cofactor มี NAD^+ เป็นตัวรับอิเล็กตรอน และเอนไซม์ฟอร์มาลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนส (Formaldehyde dehydrogenase, FDH) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาได้ผลผลิตสุดท้ายออกมาเป็นกรดฟอร์มิก ดังแสดงในภาพ 6 ปฏิกิริยานี้สามารถพบได้ใน Gram-positive bacteria ในกลุ่ม *Actinobacteria* รวมทั้ง *Mycobacterium* sp. (Newton, et al., 2008)

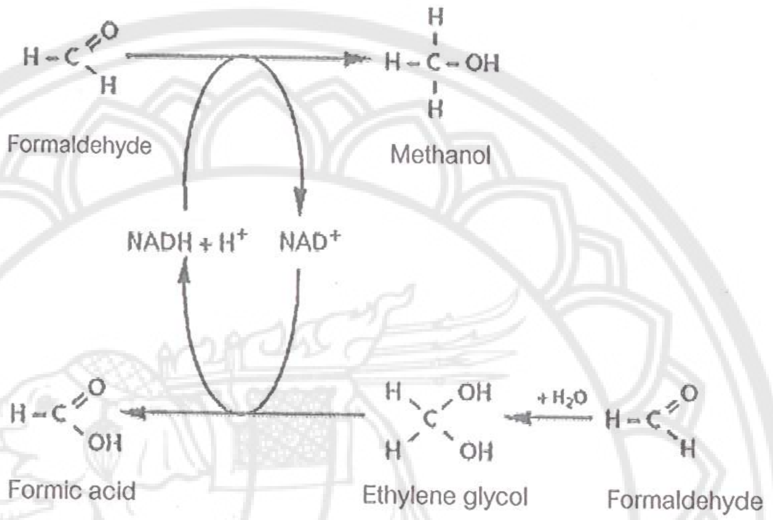


ภาพ 6 วิถีเมตาบอลิซึมแบบ Mycothiol (MSH)-dependent NAD-linked formaldehyde dehydrogenase (GSH-FDH)

ที่มา: Newton, et al., 2008

1.1.3 Thiol-independent formaldehyde dehydrogenase หรือ *Pseudomonas putida* formaldehyde dehydrogenase (PFDH): เป็นปฏิกิริยาปกติที่มีการใช้ NAD^+ ทำงานร่วมกับเอนไซม์ formaldehyde dehydrogenase ที่พบในเชื้อ *Pseudomonas putida* ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มของ zinc-containing medium-chain alcohol dehydrogenase (ADH) family ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้โดยไม่ต้องใช้ cofactor เช่น Glutathione ในการเกิดปฏิกิริยา ปฏิกิริยาจะเกิดร่วมกับปฏิกิริยา dismutation ที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ Formaldehyde dismutase ซึ่งเป็น

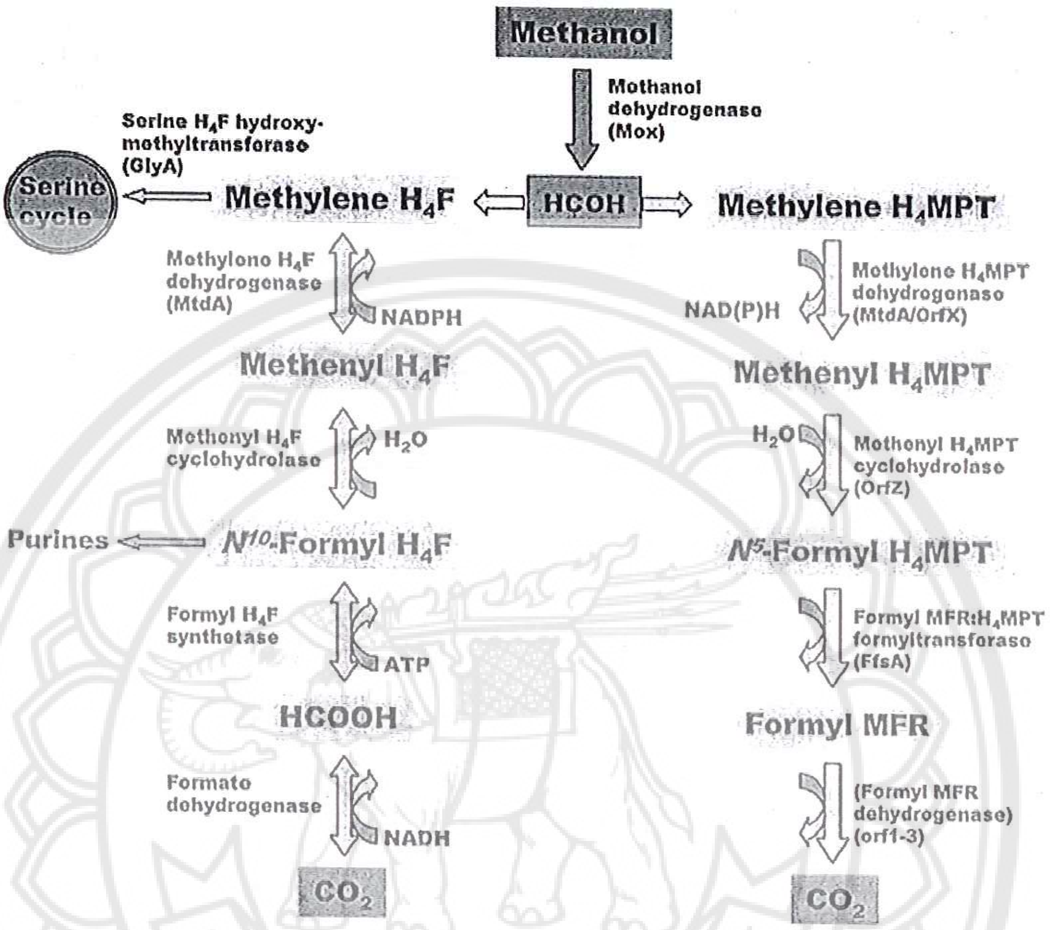
ปฏิกิริยาอีกหนึ่งรูปแบบที่เชื้อ *Pseudomonas putida* ใช้ในการลดความเป็นพิษของฟอร์มาลดีไฮด์ โดยการเปลี่ยนฟอร์มาลดีไฮด์ 2 โมเลกุล ให้กลายเป็น เมทานอล 1 โมเลกุล และกรดฟอร์มิก 1 โมเลกุล (Roca, et al., 2009) ดังแสดงในภาพ 7



ภาพ 7 วิถีเมตาบอลิซึมแบบ Glutathione (GSH)-independent NAD-linked formaldehyde dehydrogenase (PFDH)

ที่มา: Roca, et al., 2009

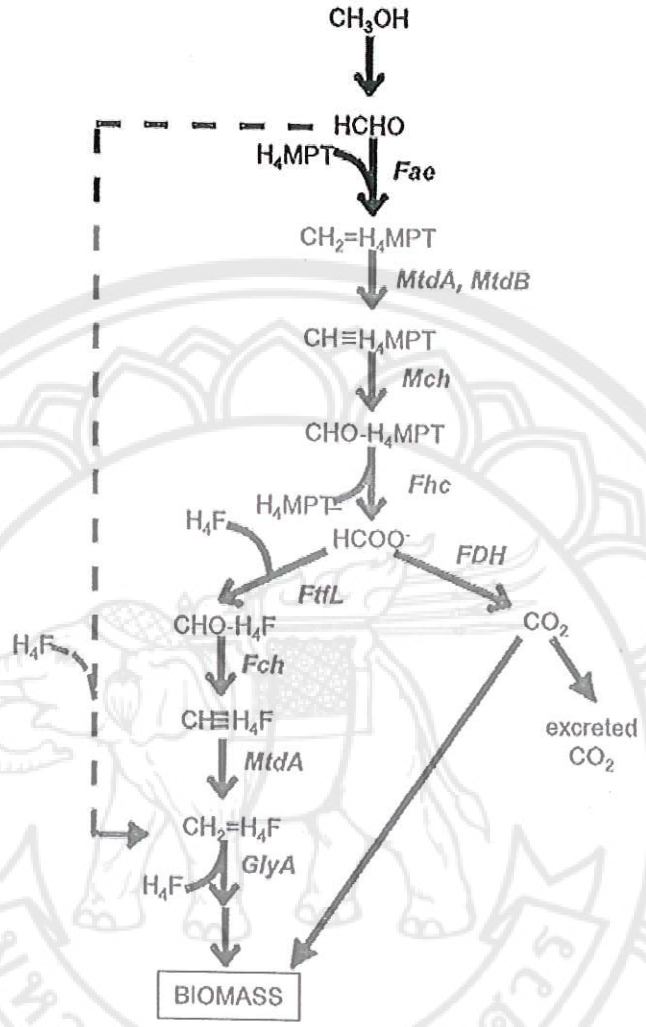
1.1.4 Tetrahydromethanopterin (H_4MPT)-dependent pathway และ Methanofuran (MFR)-dependent pathway: เป็นปฏิกิริยา oxidation อีกรูปแบบหนึ่ง ซึ่งจะต้องอาศัย cofactor คือ tetrahydromethanopterin (H_4MPT) และ methanofuran (MFR) ในการเกิดปฏิกิริยา ดังแสดงในภาพ 8 การย่อยสลายฟอร์มาลดีไฮด์โดยใช้วิธีนี้พบได้เพียงในแบคทีเรียจำพวก methylotrophic bacteria ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ Archaea เช่น *Methylobacterium extorquens* AM1 *Burkholderia fungorum* LB400 (Vorholt, et al., 1988)



ภาพ 8 วิถีเมตาบอลิซึมแบบ Tetrahydromethanopterin (H_4MPT)-dependent pathway และ Methanofuran (MFR)-dependent pathway ในเชื้อ *Methylobacterium extorquens* AM1 ที่เจริญบนเมทานอล

ที่มา: Vorholt, et al., 1988

นอกจากนี้ จากการศึกษาของ Crowther, et al. (2008) พบว่าวิถีเมตาบอลิซึมที่อาศัยการทำงานร่วมกันระหว่าง tetrahydromethanopterin (H_4MPT) และ methanofuran (MFR) ยังเป็นวิถีเมตาบอลิซึมหลักที่เชื้อ *Methylobacterium extorquens* AM1 ใช้ในการสังเคราะห์สารตัวกลางเพื่อเข้าสู่กระบวนการ assimilation ต่อไปดังแสดงในภาพ 9



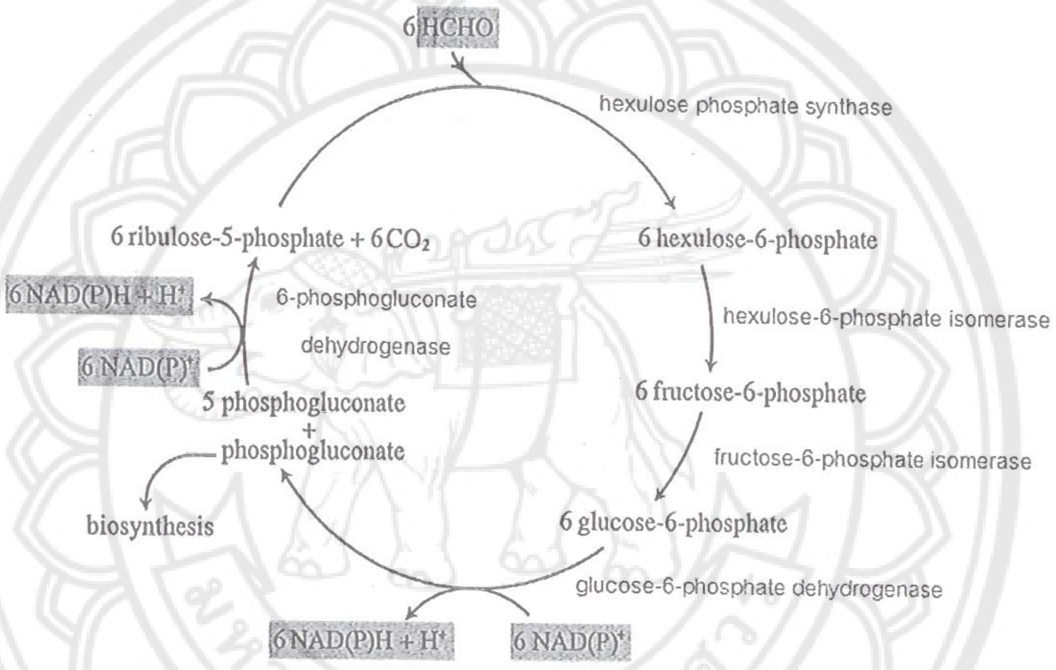
ภาพ 9 Methylotrophic metabolism ที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา oxidation และ assimilation ของเชื้อ *M. extorquens* AM1

ที่มา: Crowther, et al., 2008

1.2 Cyclic oxidation pathway

ribulose monophosphate (RuMP) pathway: มีเอนไซม์ Hexulose phosphate synthase (HPS) และ Hexulose phosphate isomerase (HPI) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนฟอร์มาลดีไฮด์เข้าสู่วิถีเมทาบอลิซึม โดยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างฟอร์มาลดีไฮด์กับ ribulose-5-phosphate เปลี่ยนเป็น hexulose-6-phosphate ซึ่งเป็น isomer ของ fructose-6-phosphate และถูกเปลี่ยนเป็น glucose-6-phosphate ตามลำดับ หลังจากนั้น glucose-6-phosphate จะถูก

oxidize เป็น 6-phosphogluconate และถูก oxidized ด้วยเอนไซม์ 6-phosphogluconate dehydrogenase (GND) เพื่อเปลี่ยนเป็น CO_2 และ ribulose-5-phosphate จึงทำให้ วิถีนี้สมบูรณ์ โดยเอนไซม์หลัก (key enzyme) ที่สำคัญของวิถีเมตาบอลิซึม นี้คือ 6-phosphogluconate dehydrogenase ดังแสดงในภาพ 10 วิถี RuMP นี้สามารถพบได้ในเชื้อจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ ทั้งโปรคารีโอต และยูคารีโอต ในกลุ่มของ methylotrophs และ heterotrophs



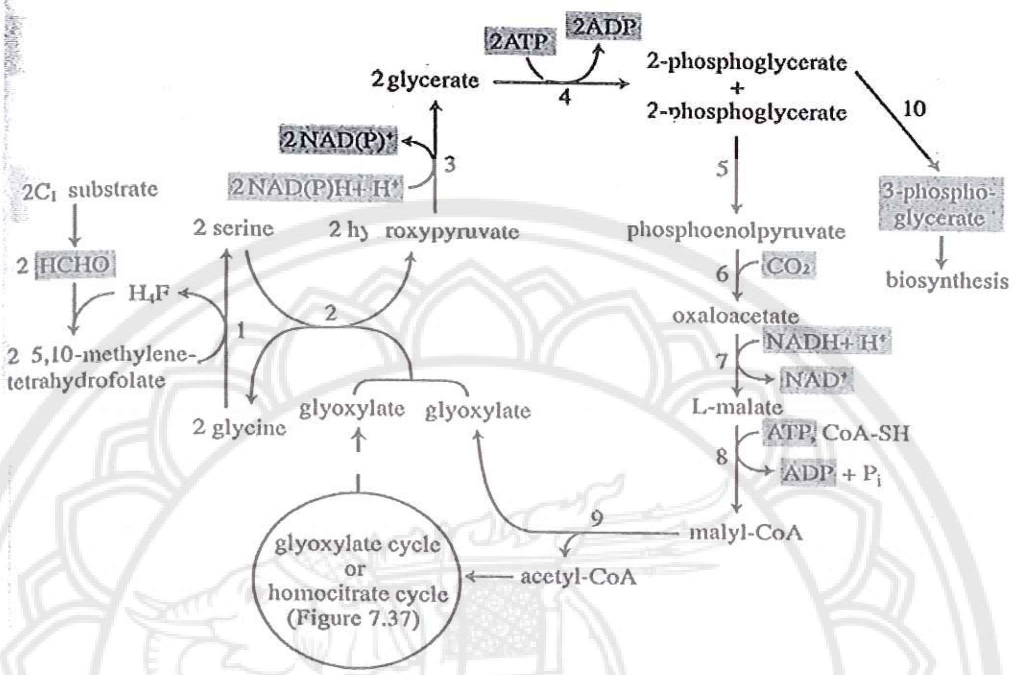
ภาพ 10 กระบวนการ oxidation ของฟอร์มาลดีไฮด์ ผ่านวิถีเมตาบอลิซึมแบบ Ribulose-monophosphate cycle ในเชื้อ *Methylophilus methylotrophus*

ที่มา: Kim and Gadd, 2008

2. กระบวนการเกิด assimilation

กระบวนการเกิด assimilation ของฟอร์มาลดีไฮด์ในจุลินทรีย์ เกิดขึ้นโดยการเปลี่ยนเป็นสารตัวกลางและนำไปใช้สร้างเซลล์ โดยใช้วิถีเมตาบอลิซึมที่สำคัญ คือ

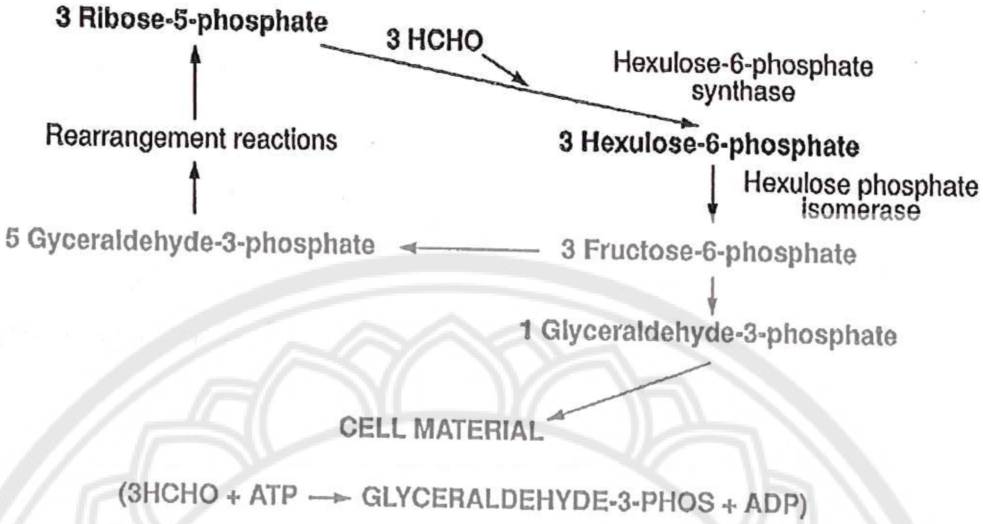
2.1 Serine pathway เกิดจากฟอร์มาลดีไฮด์ 2 โมเลกุล ถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ Serine hydroxymethyltransferase ในการเติมหมู่ methyl ให้กับ glycine 2 โมเลกุล เพื่อสร้างเป็น serine และถูกเปลี่ยนแปลงต่อไปจนได้เป็น 3-phosphoglycerate ที่จะถูกนำไปใช้ในกระบวนการสร้างเซลล์ ดังแสดงในภาพ 11



ภาพ 11 กระบวนการ assimilation ของฟอร์มาลดีไฮด์ ผ่านวิถีเมตาบอลิซึม serine pathway

ที่มา: Kim and Gadd, 2008

2.2 ribulose monophosphate (RuMP) pathway เกิดโดยการรวม 3 โมเลกุลของฟอร์มาลดีไฮด์กับ 3 โมเลกุลของ ribulose-5-phosphate เข้าสู่เมตาบอลิซึม โดยการทำงานของ 2 เอนไซม์ คือ เอนไซม์ Hexulose phosphate synthase (HPS) และ Hexulose phosphate isomerase (HPI) สร้างเป็น dihydroxyacetone phosphate และ glyceraldehyde-3-phosphate ที่จะถูกนำไปใช้ในกระบวนการสร้างเซลล์ ดังแสดงในภาพ 12



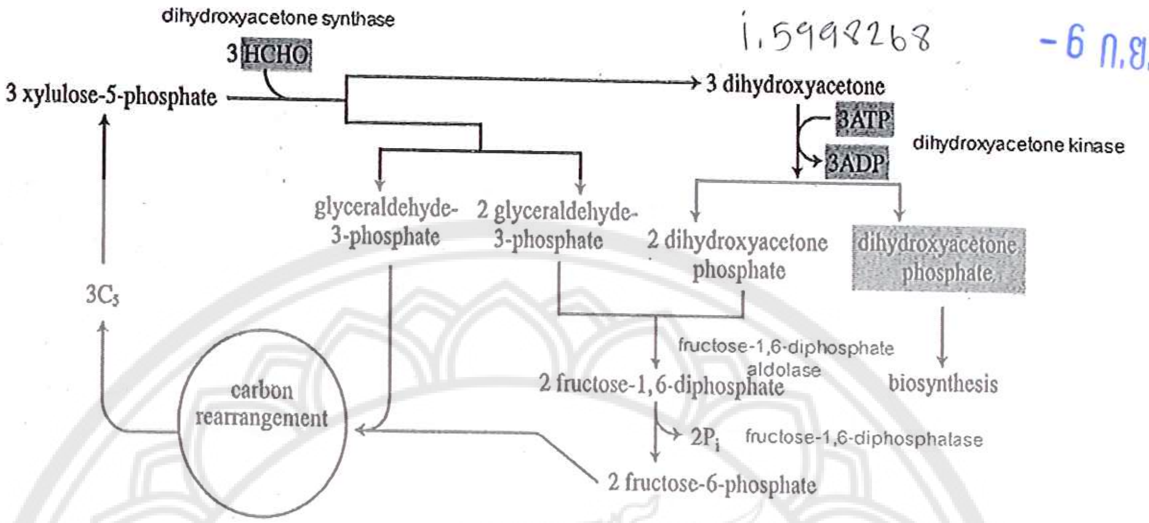
ภาพ 12 กระบวนการ assimilation ของฟอร์มาลดีไฮด์ ผ่านวิถีเมตาบอลิซึม ribulose monophosphate (RuMP) pathway

ที่มา: Hanson and Hanson, 1996

2.3 Xylulose monophosphate (XuMP) pathway เป็นวิถีเมทาบอลิซึมที่ใช้ในการ assimilation ฟอร์มาลดีไฮด์ซึ่งพบเฉพาะในกลุ่มของ Methylotrophic yeast และ Methylotrophic mold โดยการนำฟอร์มาลดีไฮด์ 3 โมเลกุลเข้าสู่วิถีเมทาบอลิซึมและรวมตัวกับ xylulose-5-phosphate 3 โมเลกุลในระบบ ด้วยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ Dihydroxyacetone synthase ได้เป็น dihydroxyacetone 3 โมเลกุล และจะถูกเติมหมู่ฟอสเฟตให้กลายเป็น dihydroxyacetone phosphate ที่ใช้ในกระบวนสร้างเซลล์ต่อไป ดังแสดงในภาพ 13

ป TP 248 .F6 ภ322ก 2555

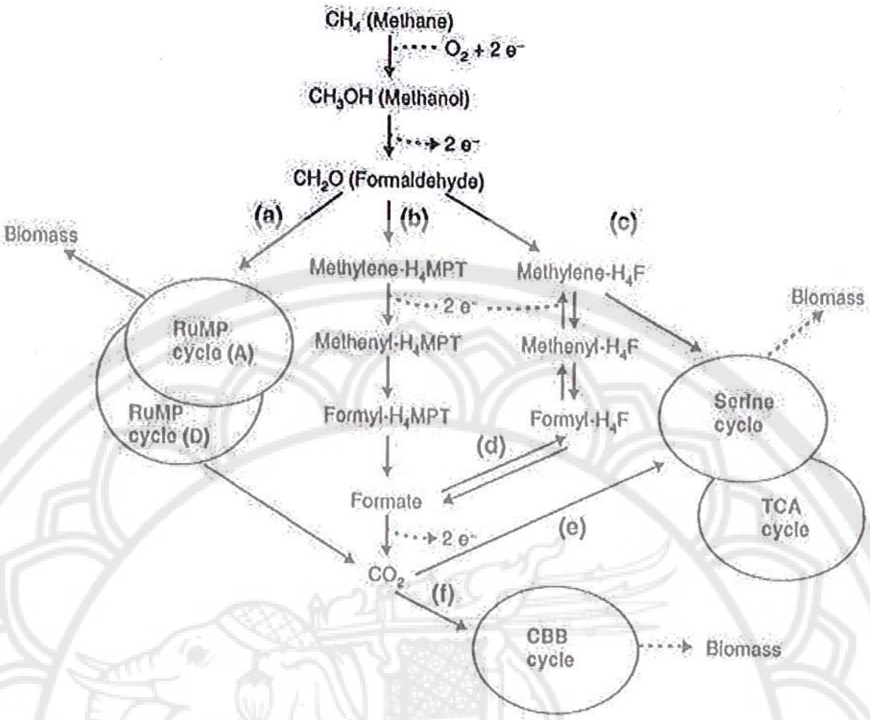
สำนักหอสมุด
-6 ก.ย. 2555
1.5992268



ภาพ 13 กระบวนการ assimilation ของฟอร์มาลดีไฮด์ ผ่านวิถีเมตาบอลิซึม xylulose monophosphate (XuMP) pathway

ที่มา: Kim and Gadd, 2008

ภาพ 14 แสดงภาพรวมของวิถีเมตาบอลิซึมใน Aerobic methanotrophic bacterium สายพันธุ์ *Methylococcus capsulatus* บนอาหารที่มี C1 เป็นแหล่งคาร์บอน โดยฟอร์มาลดีไฮด์ที่เกิดจากมีเทนสามารถถูก metabolized ต่อโดยใช้ alternative pathways ต่างๆ ดังนี้ (a) ผ่านทาง ribulose monophosphate (RuMP) cycle ที่สามารถเกิดกระบวนการ assimilation ของฟอร์มาลดีไฮด์ (A) และ dissimilation (D), (b) เปลี่ยนไปเป็นฟอร์เมท โดยรวมตัวกับ tetrahydromethanopterin(H_4MPT), (c) เปลี่ยนเป็น methylene-tetrahydrofolate (methylene-H_4F) เพื่อเข้าสู่ serine cycle และใช้สร้างเซลล์ ภายใต้เงื่อนไขบางประการ อาจมีส่วนเกินของฟอร์มาลดีไฮด์และฟอร์เมทเกิดขึ้น ดังนั้นฟอร์เมทจะสามารถย้อนกลับขึ้นไปในเส้นทาง (d) เพื่อให้ได้ methylene-H_4F และเข้าสู่ serine cycle ส่วน CO_2 ที่ถูกเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเหล่านี้สามารถถูกเปลี่ยนแปลงให้เป็นพลังงานชีวมวลภายใน serine cycle (e) หรือ Calvin-Benson-Bassham cycle (CBB) (f) (Chistoserdova, et al., 2005)



ภาพ 14 วิถีเมตาบอลิซึมใน Aerobic methanotrophic bacterium สายพันธุ์ *Methylococcus capsulatus* บนอาหารที่มี C1 เป็นแหล่งคาร์บอน

ที่มา: Chistoserdova, et al., 2005

สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์

การเจริญของจุลินทรีย์ที่มีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานเพียงอย่างเดียวนั้น ส่วนใหญ่พบว่าเกิดจากวิถีเมตาบอลิซึม Ribulose-monophosphate cycle (RuMP cycle) ในการเจริญเพิ่มจำนวนของเซลล์ในวิถีนี้เกิดจาก fructose-6-phosphate ซึ่งเป็นสารตัวกลางในวิถีเมทาบอลิซึม ถูกเปลี่ยนเป็น dihydroxyacetone phosphate และ glyceraldehyde-3-phosphate เข้าสู่เมตาบอลิซึม ในการสร้างเซลล์ต่อไป ดังนั้นจึงทำให้เกิดการบำบัดฟอร์มาลดีไฮด์ได้อย่างสมบูรณ์ และได้เซลล์เป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein (SCP)) ได้

ในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เมื่อมีฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานเพียงอย่างเดียวนั้นต้องเติม N-source ที่อาจจะอยู่ในรูป ammonium solution เช่น $(NH_4)_2SO_4$ หรือ $(NH_4)Cl$ หรืออาจอยู่ในรูป organic nitrogen เช่น peptone นอกจากนั้นเพื่อให้เชื้อมีการเจริญ

ที่ดีควรต้องเติม Nutrient solution เช่น K^+, Na^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Cu^{2+}, Mn^{2+}, Zn^{2+}, Fe^{3+} ตลอดจน vitamins ต่างๆ และบัฟเฟอร์เพื่อรักษาสภาพพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

สำหรับการแยกเชื้อในครั้งนี้ ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 2 สูตร คือ Formaldehyde enrichment medium ที่ประกอบด้วยฟอร์มาลดีไฮด์เป็น C-source และ energy-source มี $(NH_4)_2SO_4$ เป็น N-source นอกจากนั้นมีการเติม Nutrient solution ที่เป็นเกลือของสารต่างๆ คือ $MgSO_4.7H_2O$ มี K_2HPO_4 และ KH_2PO_4 เป็นบัฟเฟอร์ สำหรับวิตามินและเกลือแร่ต่างๆได้จากการเติม 0.02% yeast extract อาหารสูตรที่ 2 ที่ใช้ในการแยกเชื้อคือ YM medium ที่ประกอบด้วยฟอร์มาลดีไฮด์เป็น C-source และ energy-source และมี peptone เป็น N-source สำหรับ yeast extract และ malt extract นั้นเป็นแหล่งวิตามินและเกลือแร่ ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 2 แสดงส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Formaldehyde enrichment medium I และ YM medium ที่เติมฟอร์มาลดีไฮด์เป็นแหล่งคาร์บอน

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (ต่อ 1 ลิตร)
Formaldehyde enrichment medium I	
Formaldehyde solution (HCHO) 38% w/v	0.79 mL.
$(NH_4)_2SO_4$	2 g.
K_2HPO_4	2 g.
KH_2PO_4	1 g.
$MgSO_4.7H_2O$	0.2 g.
Yeast extract	0.2 g.
YM medium	
Formaldehyde solution (HCHO) 38% w/v	0.79 mL.
Peptone	5.0 g.
Yeast extract	3.0 g.
Malt extract	3.0 g.

ที่มา: Mitsui, et al., 2004

ระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์ (Sequencing Batch Reactor; SBR)

ระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์เป็นระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพอีกรูปแบบหนึ่งที่ถูกปรับเปลี่ยนรูปแบบมาจากระบบบำบัดแบบตะกอนเร่ง (Activated sludge) โดยเป็นระบบที่เกิดจากการรวมกันของขั้นตอนและกระบวนการบำบัดทั้งหมดที่เกิดขึ้นในระบบบำบัดแบบตะกอนเร่งให้รวมอยู่ภายในบ่อหรือในถังปฏิกรณ์เดียวกัน ซึ่งต่างจากระบบบำบัดแบบตะกอนเร่ง ที่ต้องมีจำนวนบ่อหรือถังปฏิกิริยาหลายถังเพื่อใช้ในกระบวนการบำบัดแต่ละกระบวนการ

ลักษณะสำคัญของระบบเอสบีอาร์ อยู่บนพื้นฐานของการเติมเข้า-ถ่ายออก (Fill-and-Draw) ซึ่งใน 1 รอบการทำงานจะประกอบด้วย 5 ขั้นตอนตามลำดับ คือ เติมน้ำเสีย (Fill), ทำปฏิกิริยา (React), ตกตะกอน (Settle), ระบายน้ำทิ้ง (Decant) และพักระบบ (Idle) ตามลำดับ โดยขั้นตอนเหล่านี้สามารถปรับเปลี่ยนได้ตามลักษณะการนำไปประยุกต์ใช้งานที่แตกต่างกัน

1. เติมน้ำเสีย คือ ขั้นตอนของการเติมน้ำเสียซึ่งจะถูกใช้เป็นสารอาหารของตะกอนจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบการสร้างสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาชีวเคมีที่จะเกิดขึ้น การกวนและการให้อากาศสามารถถูกปรับเปลี่ยนได้ระหว่างขั้นตอนการเติมน้ำเสียเพื่อให้เข้ากับการใช้งานใน 3 สภาวะที่แตกต่างกันดังนี้

Static Fill เป็นการเติมภายใต้สภาวะการเติมที่คงที่ ไม่มีการกวนหรือให้อากาศในขณะที่ปล่อยน้ำเสียเข้าสู่ถังบำบัด การเติมแบบนี้จะใช้ในการเริ่มต้นเดินระบบ ในโรงบำบัดที่ไม่ต้องมีขั้นตอน nitrify หรือ denitrify และในระบบที่มีช่วงของการไหลต่ำ

Mixed Fill เครื่องกวนจะทำงานแต่เครื่องเติมอากาศไม่ทำงาน เนื่องจากไม่มีการเติมอากาศจึงทำให้เกิดสภาวะ anoxic condition ที่ทำให้เกิด denitrification ขึ้นได้ในระหว่างการเติม

Aerated Fill ภายใต้การเติมลักษณะนี้ ทั้งเครื่องกวนและเครื่องให้อากาศจะทำงานทำให้เปลี่ยนบริเวณที่เป็น anaerobic zone ไปเป็น aerobic zone ซึ่งเป็นสิ่งที่จำเป็นในการลดสารอินทรีย์และการเกิด nitrification อย่างไรก็ตามเพื่อให้กระบวนการ denitrification เกิดขึ้นได้ด้วย จึงจำเป็นที่จะต้องมีการปิดเครื่องให้อากาศในระหว่างการเติมเพื่อให้เกิดสภาวะ anoxic ขึ้น นอกจากนี้ ค่าดีโอ (Dissolved Oxygen; DO) ที่ตรวจสอบได้จากขั้นตอนนี้ ควรมีค่าไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อให้แน่ใจว่าสามารถเกิดสภาวะ anoxic condition ได้ในระหว่างช่วงพักระบบ

2. ทำปฏิกิริยา คือ ช่วงที่ระบบจะเกิดปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดการลดพารามิเตอร์ต่างๆ ในน้ำเสียขั้นตอนนี้จะไม่มีการเพิ่มปริมาตรของน้ำเสียเข้าระบบ ขณะที่เครื่องกวนและเครื่องให้อากาศในระบบทำงาน ทำให้มีอัตราการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียเพิ่มขึ้นอย่างมาก ค่าบีโอดีในน้ำจะถูกกำจัดมากที่สุดในขั้นตอนนี้ ปฏิกิริยา nitrification จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ฟอสฟอรัสที่ถูกปล่อยออกมาจากปฏิกิริยา denitrification ในระหว่าง Mixed Fill จะถูกนำไปใช้ในขั้นตอนนี้

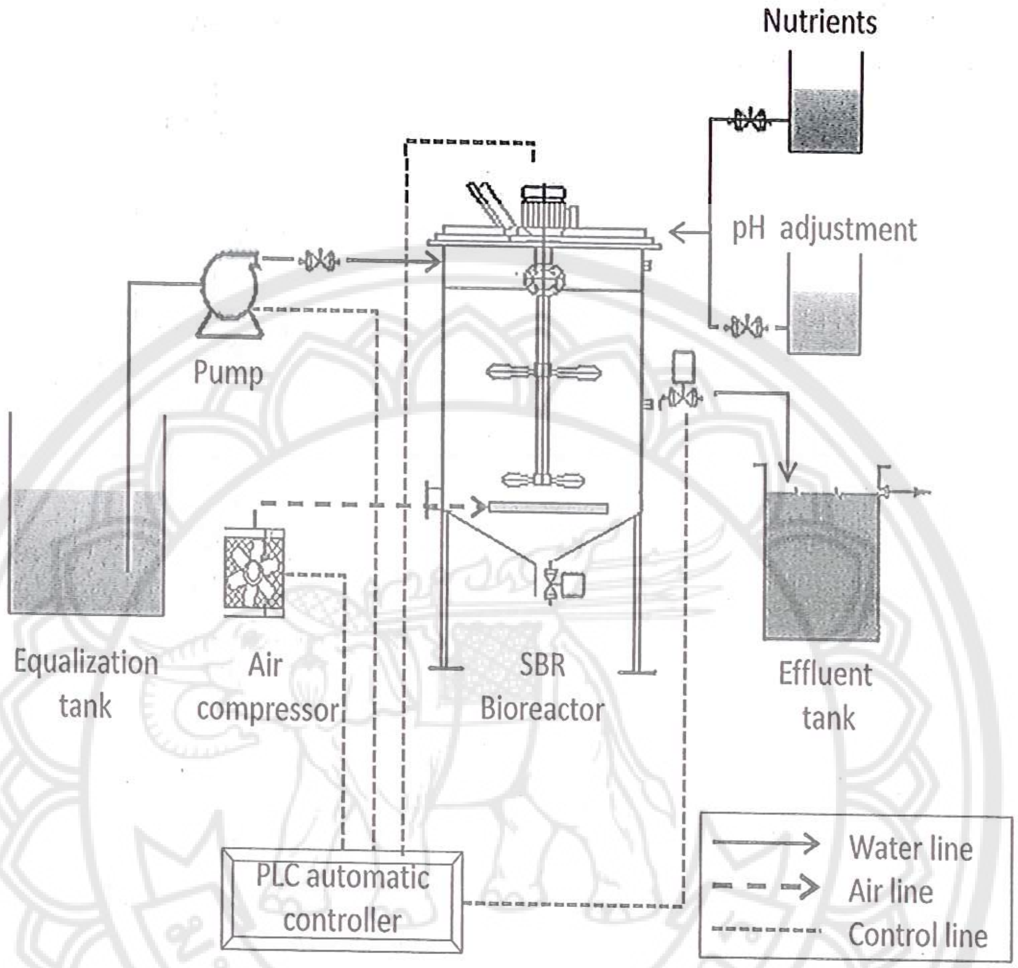
3. ตกตะกอน เป็นช่วงที่นอกจากจะไม่มีการเติมน้ำเข้าไปในระบบแล้วยัง ไม่มีการกวนและการให้อากาศกับระบบ จึงทำให้ระบบอยู่ในสภาวะที่สงบนิ่ง และเกิดการแยกชั้นของจุลินทรีย์ในระบบกับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัด ช่วงนี้ถือเป็นช่วงที่สำคัญของรอบการทำงานทั้งระบบ เนื่องจากถ้าของแข็งแขวนลอยในระบบไม่สามารถตกตะกอนได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ตะกอนจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถถูกปล่อยออกมาพร้อมน้ำเหล่านั้นทำให้น้ำมีคุณภาพลดลง

4. ระบายน้ำทิ้ง ระหว่างขั้นตอนนี้ ตัวควบคุมการระบายน้ำจะทำการปล่อยน้ำส่วนที่ใสออก โดยหลังจากกระบวนตกตะกอนเสร็จสมบูรณ์ สัญญาณจะถูกส่งไปยังตัวควบคุมให้ทำการปล่อยน้ำออกในปริมาตรเดียวกันกับที่เติมลงไปในช่วงเติมน้ำเสีย

5. พักระบบ ขั้นตอนนี้จะเกิดขึ้นระหว่างช่วงของ การระบายน้ำทิ้งและการเติมน้ำเสีย เวลาที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับอัตราการไหลเข้าของน้ำเสียและแผนการปฏิบัติงาน ในระยะนี้ปริมาณตะกอนจุลินทรีย์ในถังเอสบีอาร์จะถูกสูบออกไปบางส่วน (NEIWPCC, 2005)

การทำงานของระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์ที่ใช้ในการศึกษา

ส่วนประกอบที่สำคัญของระบบเอสบีอาร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย ถัง Equalization Tank ถังปฏิกิริยา และถัง Effluent Tank ดังแสดงในภาพ 15 โดยการทำงานของระบบจะเริ่มจากการเติมเซลล์จุลินทรีย์แขวนลอยพร้อมสารอาหาร ลงในถังปฏิกิริยาเป็นปริมาตร 6 ลิตร จากนั้นปั๊มจะทำงานด้วยระบบควบคุมอัตโนมัติ เพื่อสูบน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่ภายในถัง Equalization Tank เข้าไปในถังปฏิกิริยาจนระดับน้ำในถังปฏิกิริยาถึงระดับปริมาตร 60 ลิตร ถังปฏิกิริยาจะเริ่มทำงานอัตโนมัติ โดยเริ่มจากการปล่อยอากาศเข้าสู่ถังปฏิกิริยาผ่านหัวกระจายก๊าซ (Gas diffuser) ที่อยู่บริเวณด้านล่างถัง เกิดฟองอากาศที่มีลักษณะไหลขึ้นไปสู่ด้านบน และมีการหมุนของใบพัดกวนทำให้เกิดการกวนผสมกันภายในถังปฏิกิริยา ระบบจะดำเนินไปจนกว่าจะครบกำหนดระยะเวลาการกักเก็บ (Hydraulic retention time) ที่กำหนดไว้ และจะหยุดทำงานเพื่อตกตะกอนเซลล์จุลินทรีย์เป็นเวลา 45 นาทีจากนั้น น้ำในถังปฏิกิริยาจะถูกปล่อยออกสู่ถัง Effluent Tank จนเหลือปริมาตรน้ำในถัง 20 ลิตร ปั้มจะทำงานอีกครั้งเพื่อสูบน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการดองร่างอาจารย์ใหญ่ภายในถัง Equalization Tank เข้าไปในถังปฏิกิริยาจนระดับน้ำในถังปฏิกิริยาถึงระดับปริมาตร 60 ลิตร และจะทำงานต่อเนื่องในลักษณะเดิม



ภาพ 15 แผนภาพแสดงส่วนประกอบของระบบบำบัดแบบเอสบีอาร์