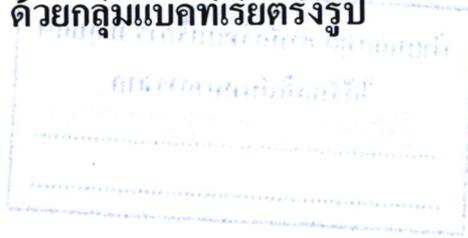




การกำจัดสีย้อมอะโซที่ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ

ด้วยกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป



ดาริกา รูปงาม

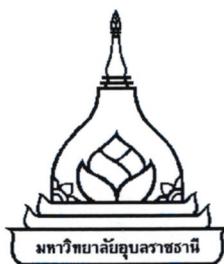
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

พ.ศ. 2556

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี



**DECOLORIZATION OF AZO DYES USED IN TEXTILE INDUSTRIES
BY IMMOBILIZED BACTERIAL CONSORTIUM**

DARIKA ROOPNGAM

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
MAJOR IN ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
UBON RATCHATHANI UNIVERSITY
YEAR 2013
COPY RIGHT OF UBON RATCHATHANI UNIVERSITY**



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา คณะวิทยาศาสตร์

เรื่อง การกำจัดสีย้อมอะโซที่ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอด้วยกลุ่มแบคทีเรียครึ่งรูป

ผู้วิจัย นางคาริกา รุปราม

คณะกรรมการสอบ

ดร.พลสัมพันธ์ มหาจันทร์	ประธานกรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราณี พัฒนพิพิชไพศาล	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นาริรัตน์ ไชยคง	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์รสสุคนธ์ เหล่าไพบูลย์	กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราณี พัฒนพิพิชไพศาล)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.อุทิศ อินทร์ประสิทธิ์)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

.....
(ดร.จุฑามาศ หงษ์ทอง)

รักษาราชการแทนรองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปีการศึกษา 2556

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจากคณาจารย์ และผู้มีพระคุณหลายท่าน ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นด้วยความเอาใจใส่ และให้กำลังใจผู้วิจัยมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ให้ความรู้ตลอดระยะเวลาที่ศึกษาอยู่ในมหาวิทยาลัย อุบลราชธานีแห่งนี้ตลอดมา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และวิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ เครื่องมือ และสารเคมีต่างๆ ที่จำเป็น ในการทดลอง

ขอขอบคุณนักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย อุบลราชธานีทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาที่ศึกษาและทำวิจัย ในมหาวิทยาลัย อุบลราชธานีแห่งนี้ตลอดมา บุคคลที่กล่าวนามมาทั้งหมดนี้และที่ไม่ได้กล่าวนาม ล้วนเป็นผู้มีส่วน สำคัญในการส่งเสริมความสำเร็จในการศึกษา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในน้ำใจของทุกท่าน และ ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ดาวิกา

(นางคาริกา รูปงาม)

ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การกำจัดสีย้อมอะโซ่ที่ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอด้วยกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป

โดย : คาริกา รูปงาม

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา : เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม

ประธานกรรมการที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปราณี พัฒนพิพิชไพศาล

ศัพท์สำคัญ : สีย้อมอะโซ่ การกำจัดสี กลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป

ปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะมลพิษทางน้ำที่เกิดจากการเจริญเติบโตทางอุตสาหกรรม ทวีความรุนแรงมากขึ้น อุตสาหกรรมฟอกย้อมเป็นอุตสาหกรรมประเภทหนึ่งที่มีการใช้น้ำและสารเคมีจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสีอะโซ่ซึ่งถูกใช้มากถึงร้อยละ 70 ของสีทั้งหมดที่ใช้ในอุตสาหกรรมนี้ เทคโนโลยีในการบำบัดสีย้อมอะโซ่กระทำได้ทั้งวิธีทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ แต่การบำบัดทางกายภาพและเคมีมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง ตะกอนจากการบำบัดมีปริมาณมาก และทำให้เกิดผลิตภัณฑ์พลอยได้ที่มีความเป็นพิษ วิธีการบำบัดทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้รับคามสนใจเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีต้นทุนการกำจัดต่ำ เกิดตะกอนน้อย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาประสิทธิภาพของกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป (immobilized bacterial consortium) กลุ่มเซลล์ไม่มีชีวิตตรึงรูป (immobilized dead cells) และเจลอัลจินเนตตรึงรูป (alginate gel bead) ในการบำบัดสีอะโซ่ คือ Blue BCC, Congo red, และ Golden yellow RNL ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสีผสม ที่ระดับความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลา 144 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า immobilized bacterial consortium PD-I มีประสิทธิภาพในการบำบัดสี Blue BCC, สีผสม, Congo red และ Golden yellow RNL ได้เท่ากับ ร้อยละ 100.0, 97.6, 90.5 และ 69.0 ตามลำดับ ส่วน immobilized bacterial consortium PD-II มีประสิทธิภาพในการบำบัดได้เท่ากับ ร้อยละ 99.2, 96.9, 92.0 และ 76.4 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มเซลล์ไม่มีชีวิตตรึงรูป และเจลอัลจินเนตตรึงรูปมีประสิทธิภาพในการบำบัดเช่นเดียวกัน โดย immobilized dead cells PD-I มีประสิทธิภาพในการบำบัดเท่ากับร้อยละ 92.3, 94.1, 78.3 และ 54.8 ตามลำดับ ส่วน immobilized dead cells PD-II มีประสิทธิภาพในการบำบัดได้เท่ากับร้อยละ 96.3, 94.4, 82.0 และ 60.1 ตามลำดับ และ alginate gel bead สามารถบำบัดสีได้เท่ากับร้อยละ 92.3, 79.6, 70.0 และ 43.0 ตามลำดับ และจากการศึกษาลักษณะกลุ่มแบคทีเรียจากกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา พบว่า กลุ่มแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด

มีแบคทีเรียอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ มีรูปร่างกลมและรูปร่างแท่ง ย้อมสีแกรมติดทั้งแกรมบวก และแกรมลบ นอกจากนี้การศึกษาลักษณะโครงสร้างของเมดบีทด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด พบว่า มีแบคทีเรียรูปร่างกลมและรูปร่างแท่งถูกตรึงอยู่ภายในเมดบีท ผลการศึกษาประสิทธิภาพของกลุ่มเซลล์ตรึงรูป ในการบำบัดสีย้อมอะโซ่ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ สี Congo red, Golden yellow RNL และ Blue BCC ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสีผสม ได้แก่ ร้อยละ 1 Congo red, ร้อยละ 1 Blue BCC และร้อยละ 1 Golden yellow RNL ที่ระดับความเข้มข้นรวมเท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่า การบำบัดเกิดขึ้นทั้งกลุ่มเซลล์ ตรึงรูป กลุ่มเซลล์ไม่มีชีวิตตรึงรูป และเจลอัลจินต โดยกลุ่มเซลล์ตรึงรูปมีประสิทธิภาพในการบำบัดสีอะโซ่ได้สูงกว่า กลุ่มเซลล์ไม่มีชีวิตตรึงรูป และเจลอัลจินต ตามลำดับ และสี Blue BCC สามารถบำบัดได้ดีที่สุด รองลงมาคือสีผสม Congo red และ Golden yellow RNL ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการบำบัดสีด้วยวิธีดังกล่าวเกิดขึ้นจากกิจกรรมทางชีวภาพและการดูดซับ จึงชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของเซลล์ตรึงรูป ในการนำมาบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมฟอกย้อมต่อไป

ABSTRACT

TITLE : DECOLORIZATION OF AZO DYES USED IN TEXTILE INDUSTRIES
BY IMMOBILIZED BACTERIAL CONSORTIUM
BY : DARIKA ROOPNGAM
DEGREE : MASTER OF SCIENCE
MAJOR : ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY
CHAIR : ASST. PROF. PRANEE PATTANAPIITPAISAL, Ph.D.

KEYWORDS : AZO DYE / DECOLORIZATION / IMMOBILIZED BACTERIAL
CONSORTIUM.

Environmental problem, especially water pollution, causing from the growth of industries has become increasingly alarming. The textile industry used a lot of water and chemical agents especially azo dye which make up to 70% by weight of all known dyestuffs in the world. Azo dye could be treated by physical, chemical and biological method. However, the physical and chemical treatment give high cost, high volume of sludge and lead to the formation of toxic by-products. Biodegradation using microorganisms is gaining importance as it is cost effective, produces less sludge and environmentally friendly. The objective of this study was to investigate the dye decolorizing potential of immobilized bacterial consortium, immobilized dead cells and alginate gel bead to decolorize various azo dyes via blue BCC, Congo red, and Golden yellow RNL at each concentration of 50 mg/L. and mix color at concentration of 60 mg/L. Results revealed that immobilized bacterial consortium PD-I decolorized blue BCC, mix color, Congo red and Golden yellow RNL within 144 h. up to 100.0%, 97.6%, 90.5% and 69.0%, respectively while the immobilized bacterial consortium PD-II decolorized up to 99.2%, 96.9%, 92.0% and 76.4%, respectively. In addition, immobilized dead cells and alginate gel bead also showed percentage of decolorization. Immobilized dead cells PD-I decolorized up to 92.3%, 94.1%, 78.3% and 54.8%, respectively. Immobilized dead cells PD-II showed decolorization of 96.3%, 94.4%, 82.0% and 60.1%, respectively. While alginate gel bead showed 92.3%, 79.6%, 70.0% and 43.0%, respectively. Microscopic observation revealed that the bacterial consortiums have at least two types

of bacteria, rod and spherical shape, showing Gram positive and Gram negative. The study of scanning electron microscopy also revealed that the bacteria were immobilized in alginate beads. The results of efficiency in the decolorized with all three azo dyes of cells immobilized. Congo red, Golden yellow RNL and Blue BCC at each concentration of 50 mg/L. And mixture of dyes (1% Congo red, 1% Golden yellow RNL and 1% Blue BCC) at concentration 60 mg/L. within 144 h. Results that occurred in all cases. Cells immobilized, immobilized dead cells and alginate gel bead. Which cells immobilized with life was the most efficient in decolorizing, dead cells immobilized and immobilized without cells, respectively. And the color Blue BCC was the most efficient in decolorizing, mixture color, Congo red and Golden yellow RNL, respectively. The result indicated that decolorization of these dyes was due to biological activity and adsorption. This suggests the potential of using immobilized cells to treat an industrial dye wastewater.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่	
1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 สมมติฐานของการวิจัย	2
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.5 สถานที่ทำการวิจัย	2
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 สีย้อม	4
2.2 การจำแนกประเภทของสีย้อม	4
2.3 การจำแนกประเภทสีย้อมสังเคราะห์	5
2.4 ความเป็นพิษของสีย้อม	7
2.5 ความเป็นพิษของสีย้อมอะโซ	7
2.6 กลไกที่มีผลต่อการเปลี่ยนรูปของสีย้อมอะโซ	8
2.7 การบำบัดสีย้อมในน้ำทิ้ง	9
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี	19
3.2 การพัฒนากลุ่มแบคทีเรียบำบัดสี	20
3.3 การตรึงกลุ่มเซลล์แบคทีเรีย	20

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4 การหาความยาวคลื่นสูงสุดของสีเขียวอมอะโซ	21
3.5 การบำบัดสี Congo red ด้วยระบบแบคที	21
3.6 การบำบัดสี Golden yellow RNL ด้วยระบบแบคที	21
3.7 การบำบัดสี Blue BCC ด้วยระบบแบคที	22
3.8 การบำบัดสีผสมด้วยระบบแบคที	22
3.9 การศึกษาลักษณะกลุ่มแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยการย้อม Gram stain	23
3.10 การศึกษาลักษณะ โครงสร้างกลุ่มแบคทีเรียตริงรูปด้วยกล้อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	23
4 ผลการทดลอง	
4.1 การพัฒนาและการตรึงกลุ่มแบคทีเรียบำบัดสี	24
4.2 การหาความยาวคลื่นสูงสุดของสีเขียวอมอะโซ	26
4.3 การบำบัดสี Congo red ด้วยระบบแบคที	27
4.4 การบำบัดสี Golden yellow RNL ด้วยระบบแบคที	28
4.5 การบำบัดสี Blue BCC ด้วยระบบแบคที	29
4.6 การบำบัดสีผสมด้วยระบบแบคที	30
4.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	31
4.8 การศึกษาลักษณะกลุ่มแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยการย้อม Gram stain	32
4.9 การศึกษาลักษณะ โครงสร้างกลุ่มแบคทีเรียตริงรูปด้วยกล้อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	32
5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	
5.1 การพัฒนาและการตรึงกลุ่มแบคทีเรียบำบัดสี	38
5.2 การบำบัดสี Congo red ด้วยระบบแบคที	38
5.3 การบำบัดสี Golden yellow RNL ด้วยระบบแบคที	39
5.4 การบำบัดสี Blue BCC ด้วยระบบแบคที	40

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.5 การบำบัดสีผสมด้วยระบบแบดซ์	40
5.6 การศึกษาลักษณะกลุ่มแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และ การศึกษาลักษณะ โครงสร้างกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูปด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	41
5.7 ข้อเสนอแนะ	42
เอกสารอ้างอิง	43
ภาคผนวก	52
ประวัติผู้วิจัย	58

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะของเม็ดบีทก่อนการบำบัดด้วยสีย้อมอะโซ	25
2	ลักษณะของเม็ดบีทหลังการบำบัดด้วยสีย้อมอะโซ	26
3	ลักษณะกลุ่มแบคทีเรียจากกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยการย้อม Gram staining	32
4	ร้อยละของการบำบัดสี Congo red	53
5	ร้อยละของการบำบัดสี Golden yellow RNL	53
6	ร้อยละของการบำบัดสี Blue BCC	54
7	ร้อยละของการบำบัดสีผสม	54
8	สรุปร้อยละของการบำบัดสีย้อมอะโซทั้ง 3 ชนิด	55

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ตัวอย่างโครงสร้างสีอะโซ	6
2	ลักษณะอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY + 1% Blue BCC, 1% Golden yellow RNL และ 1% Congo red	25
3	ลักษณะเม็คบีทก่อนการบำบัดด้วยสีอะโซ (alginate gel bead)	25
4	ลักษณะเม็คบีทหลังการบำบัดด้วยสีอะโซ	26
5	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสีย้อมอะโซ ได้แก่ Golden yellow RNL, Congo red, Blue BCC และสีผสม ที่ความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร	27
6	การเพาะเลี้ยง Immobilized bacterial consortium PD-I ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY ที่มีสี Congo red ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร	28
7	ร้อยละการบำบัดสี Congo red ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร	28
8	การเพาะเลี้ยง Immobilized bacterial consortium PD-I ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY ที่มีสี Golden yellow RNL ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร	29
9	ร้อยละของการบำบัดสี Golden yellow RNL ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร	29
10	การเพาะเลี้ยง Immobilized bacterial consortium PD-I ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY ที่มีสี Blue BCC ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร	30
11	ร้อยละการบำบัดสี Blue BCC ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร	30
12	การเพาะเลี้ยง Immobilized bacterial consortium PD-I ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY ที่มีสีผสม	31
13	ร้อยละการบำบัดสีผสม	31
14	ลักษณะกลุ่มแบคทีเรีย (a) กลุ่มแบคทีเรีย PD-I (b) กลุ่มแบคทีเรีย PD-II ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยการย้อม Gram stain	32

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
15	ลักษณะ โครงสร้างผิวภายนอก alginate gel bead (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า	34
16	ลักษณะ โครงสร้างผิวภายใน alginate gel bead (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า	34
17	ลักษณะ โครงสร้างผิวภายนอก immobilized bacterial consortium PD-I (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า	34
18	ลักษณะ โครงสร้างผิวภายใน immobilized bacterial consortium PD-I (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า	35
19	ลักษณะ โครงสร้างผิวภายนอก immobilized bacterial consortium PD-II (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า	35
20	ลักษณะ โครงสร้างผิวภายใน immobilized bacterial consortium PD-II (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า	35
21	ลักษณะ โครงสร้างผิวภายนอก immobilized dead cell PD-I (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า	36
22	ลักษณะ โครงสร้างผิวภายใน immobilized dead cell PD-I (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า	36

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	ลักษณะ โครงสร้างผิวภายนอก immobilized dead cell PD-II (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า	36
24	ลักษณะ โครงสร้างผิวภายใน immobilized dead cell PD-II (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า	37

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

ปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะมลพิษทางน้ำที่เกิดจากการเจริญเติบโตทางอุตสาหกรรม ทวีความรุนแรงมากขึ้น อุตสาหกรรมฟอกย้อมเป็นอุตสาหกรรมประเภทหนึ่งที่มีการใช้น้ำและสารเคมีจำนวนมาก อุตสาหกรรมหลักที่ปล่อยสีย้อมออกสู่สิ่งแวดล้อม คือ อุตสาหกรรมสิ่งทอ และอุตสาหกรรมสีย้อม สีย้อมประมาณ 280,000 ตัน ถูกปล่อยออกมากับน้ำทิ้งทุกปี (Jin and et al., 2007) ในผลิตภัณฑ์สิ่งทอ สีอะโซอิกใช้มากถึงร้อยละ 70 (Bella and et al., 2009) สีอะโซอิกย่อยสลายได้ยาก และมีความเป็นพิษต่อคนและสัตว์ (Yoo and et al., 2000)

ปัจจุบันมีการคิดค้นเทคโนโลยีและวิธีที่ใช้ในการย่อยสลายสีย้อมอะโซอิก ซึ่งมีทั้งการบำบัดสีย้อมด้วยวิธีทางกายภาพและวิธีการบำบัดทางเคมี เช่น การตกตะกอนด้วยสารเคมี การแลกเปลี่ยนไอออนและการใช้โอโซน (Selvam and et al., 2003) แต่วิธีบำบัดดังกล่าวมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูง ตะกอนที่ได้จากการบำบัดมีปริมาณมาก และทำให้เกิดผลิตภัณฑ์พลอยได้ที่มีความเป็นพิษ ต้องทำการบำบัดต่อไปอีก วิธีย่อยสลายทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์ จึงมีความสำคัญมากขึ้น เนื่องจากมีต้นทุนต่ำ เกิดตะกอนน้อย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Yang and et al., 2003)

การใช้จุลินทรีย์ในการบำบัดสีย้อมอะโซอิก เป็นวิธีที่อาศัยความสามารถของจุลินทรีย์ประเภทต่างๆ มีการใช้เชื้อบริสุทธิ์ในการกำจัดสีย้อม (Chang and et al., 2001; Zissi and et al., 1996; Hu and et al., 2001) แต่ยังไม่มีการนำไปใช้ในระบบบำบัดสำหรับน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรม เพราะความแตกต่างของสารประกอบในน้ำทิ้ง ซึ่งขึ้นกับกระบวนการผลิต (Wuhrmann and et al., 1980; Coughlin and et al., 2002; Sharma and et al., 2004) การใช้จุลินทรีย์ผสมจึงได้รับความสนใจมากขึ้น ระบบบำบัดที่มีจุลินทรีย์ผสมจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีอะโซอิกได้สูงกว่าเชื้อบริสุทธิ์ (Khehra and et al., 2005) นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เซลล์จุลินทรีย์ตรึงรูปในการบำบัดของเสียมีประสิทธิภาพมากกว่าเมื่อเทียบกับเซลล์อิสระ (Wang, 2002) เซลล์ตรึงรูปมีข้อดีหลายประการ คือ (1) สามารถเพิ่มอัตราการย่อยสลายในสถานะที่มีสารอินทรีย์สูง (2) สามารถควบคุมได้ง่าย (3) สามารถทำกิจกรรมได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่ต้องมีอัตราการเจือจางสูง (4) ปฏิกริยามีความคงที่ ตลอดจนมีความคงทนต่อสารประกอบที่เป็นพิษ นอกจากนี้การตรึงเซลล์ จะช่วยให้เซลล์มีกิจกรรมและความคงตัวสูง สามารถแยกเซลล์ตรึงรูปออกจากน้ำเสียได้ง่าย และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้

งานวิจัยนี้ จึงทำการศึกษาประสิทธิภาพกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูปในการบำบัดสีย้อมอะโซ่ที่ใช้ในการฟอกย้อม ผลงานวิจัยที่ได้จะเป็นแนวทางในการพัฒนาการกำจัดหรือลดปริมาณสีย้อมในน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมฟอกย้อมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูปในการกำจัดสีย้อมอะโซ่
- 1.2.2 เพื่อศึกษาระยะเวลาในการกำจัดสีอะโซ่ด้วยกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1.3.1 ตัวแปรต้น

- 1.3.1.1 เม็ดบีกกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป
- 1.3.1.2 ระยะเวลา

1.3.2 ตัวแปรตาม

- 1.3.2.1 เปอร์เซ็นต์การกำจัดสี

1.3.3 ตัวแปรควบคุม

- 1.3.3.1 ปริมาณเม็ดบีกกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป
- 1.3.3.2 ความเข้มข้นของสีย้อม

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ (Laboratory scale) ด้วยระบบแบบตซ์ ทำการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสีอะโซ่จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ Congo red, Blue BCC, Golden yellow RNL และสีผสม กลุ่มแบคทีเรียตรึงรูปพัฒนาจากตัวอย่างน้ำเสียจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานคำปูน อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี และระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาลอุทุมพรพิสัย อำเภออุทุมพรพิสัย จังหวัดศรีสะเกษ

1.5 สถานที่ทำการวิจัย

อาคารวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.6.1 การนำกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูปมาประยุกต์ใช้ในการกำจัดสีอะโซ
- 1.6.2 ทำให้ทราบระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดสีอะโซด้วยกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป
- 1.6.3 เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการกำจัดสีย้อมผ้าในน้ำทิ้ง โรงงานอุตสาหกรรม

ฟอกย้อม

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สีย้อม (Dyestuff)

สีย้อม คือ สารสีที่มีลักษณะเป็นผลึกหรือผงละเอียด มีทั้งที่เป็นสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อดูดซึม หรือดูดซับแสงโดยการทำให้อยู่บนหรือในผิวหน้าของวัตถุ แล้วเกิดการแพร่แทรกซึมเข้าสู่ภายในโครงสร้างของวัตถุ เพื่อที่จะทำให้วัตถุนั้นมีสีขึ้นมา สีย้อมบางชนิดละลายน้ำได้ บางชนิดจะไม่สามารถละลายน้ำแต่จะละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ได้ สีที่เห็นจากสีย้อมนั้นเกิดจากอิเล็กตรอนในพันธะคู่ซึ่งอยู่ในโมเลกุลของสี มีความสามารถดูดกลืนพลังงานในช่วงสเปกตรัมต่างกันตั้งแต่ 400–700 นาโนเมตร สีย้อมที่มีโครงสร้างทางโมเลกุลแตกต่างกันจะมีโทนสีและความสามารถในการดูดกลืนพลังงานแสงในช่วงความยาวคลื่นต่างกันด้วย (กาวิ ศรีกุลกิจ, 2545)

2.2 การจำแนกประเภทของสีย้อม

การจำแนกประเภทของสีย้อมจะจำแนกตามแหล่งที่มาของสีย้อมแต่ละชนิด แบ่งได้เป็น 2 ประเภท ดังนี้

2.2.1 สีย้อมธรรมชาติ (Natural dyestuff) เป็นสีย้อมที่มาจากแหล่งธรรมชาติจากพืชและสัตว์ สีย้อมที่มาจากส่วนประกอบของพืช เช่น ส่วนลำต้น ดอก เปลือก ใบ ตัวอย่างเช่น สีดำจากลูกมะเกลือ สีน้ำเงินจากต้นคราม สีเหลืองจากเนื้อไม้ไผ่ สีส้มจากดอกกระดังงา สีแดงจากรากต้นเข็ม ส่วนสีย้อมที่มาจากสัตว์ เช่น สีม่วงแดงของครั่ง สีม่วงจากหอยสังข์หนาม สมัยโบราณ สีย้อมธรรมชาติ นิยมนำสีย้อมตากแห้งเพิ่มความสวยงามให้กับเสื้อผ้าเครื่องนุ่งห่ม โดยสีย้อมที่ใช้ในระบุนั้น จะเป็นสีย้อมที่สกัดจากธรรมชาติ และมีการใช้สารช่วยย้อม (mordant) เพื่อช่วยให้สีย้อมติดคงทน การใช้สีย้อมที่สกัดมาจากธรรมชาติเป็นที่นิยมต่อเนื่องมา จนกระทั่งปลายศตวรรษที่ 19 ความนิยมสีย้อมธรรมชาติลดลง เนื่องจากกรรมวิธีการสกัดที่ค่อนข้างยุ่งยาก ความไม่แน่นอนของเจดสี สีย้อม และมีปัญหาเรื่องความคงทน (กาวิ ศรีกุลกิจ, 2545)

2.2.2 สีย้อมสังเคราะห์ (Synthetic dyestuff) สีย้อมประเภทนี้เป็นผลิตภัณฑ์จากน้ำมันปิโตรเลียม เมื่อน้ำมันปิโตรเลียมผ่านการสกัดแล้วจะได้สารไฮโดรคาร์บอน ได้แก่ เบนซีน และไซลีน ซึ่งเป็นสารไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว สารเหล่านี้จะถูกนำไปทำปฏิกิริยาด้วยกระบวนการ ไนเตรชัน

แอมมิเนชัน (nitrationamination) เพื่อเปลี่ยนสภาพให้เป็นสารตัวกลาง ซึ่งจะถูกละลายเป็นสีข้อมด้วยเทคนิคต่างๆ สีของสีข้อมสังเคราะห์ที่สะท้อนออกมาทำให้ตาของมนุษย์มองเห็นได้เกิดจากองค์ประกอบ 2 ส่วน คือ โครโมฟอร์ (chromophores) เนื่องจากความแตกต่างของกลุ่มโครโมฟอร์นี้ทำให้สีข้อมสังเคราะห์ถูกแบ่งตามกลุ่มโครโมฟอร์ ได้แก่ กลุ่มอะโซ (azo group) กลุ่มแอนทราควิโนน (anthraquinone group) ซึ่งเป็นสารกลุ่มที่นิยมใช้มากที่สุด และกลุ่มอื่นๆ เช่น กลุ่มอินดิโก (indigo group) กลุ่มเบนโซดิฟูแรน-โนน (benzodifuranone group) กลุ่มไนโตรโซ (nitroso group) กลุ่มไนโตร (nitro group) กลุ่มเอทิลีน (ethylene group) กลุ่มคาร์บอนิล (carbonyl group) กลุ่มคาร์บอนิล-ไนโตรเจน (carbonylnitrogen group) กลุ่มซัลเฟอร์ (sulphur group) และกลุ่มฟอร์มาซาน (formazan group) แต่หากสีข้อมประกอบด้วยโครโมฟอร์เพียงอย่างเดียวจะทำให้ได้เพียงสีอ่อนๆ เท่านั้น หากต้องการสีเข้มขึ้นจะต้องมีการเพิ่มเติมโครงสร้างทางเคมีของสารเคมีกลุ่มอื่นด้วย เรียกสารกลุ่มนี้ว่า ออกโซโครม (auxochromes) เป็นกลุ่มที่สร้างความเข้ม และความสว่างของสี มีคุณสมบัติการละลายน้ำ และปรับปรุงคุณสมบัติในการดูดซับกับเส้นใยให้กับสีข้อม หมู่ที่ละลายน้ำ เช่น $-SO_3Na$, $-COONa$, $-OH$ (กาวิ ศรีภูถกิจ, 2545)

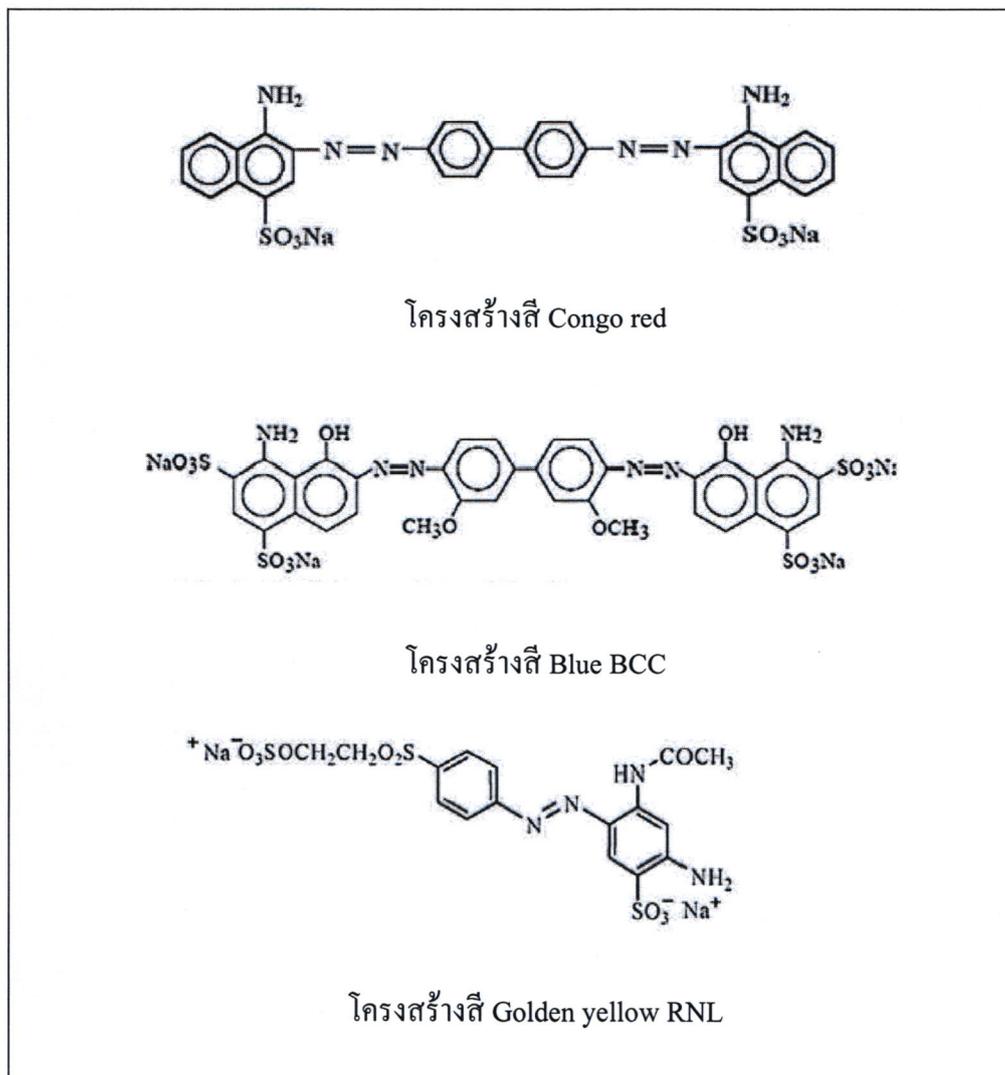
2.3 การจำแนกประเภทสีข้อมสังเคราะห์

2.3.1 จำแนกตามความสามารถในการละลายน้ำ โดยสีข้อมที่สามารถละลายน้ำ เช่น สีไดเรกต์ (Direct dye) สีเบสิก (Basic dye) สีรีแอคทีฟ (Reactive dye) และสีข้อมที่ไม่ละลายน้ำ เช่น สีแวต (Vat dye) สีดีสเพอร์ส (Disperse dye) (Joseph, 1992)

2.3.2 จำแนกตามโครงสร้างทางเคมี สีข้อมในปัจจุบันมีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นโครงสร้างหลักๆ อยู่มากกว่า 30 ชนิด แต่ที่ใช้งานกันมากจริงๆ มีอยู่ไม่ถึง 10 ชนิด อาทิเช่น สีข้อมอะโซ สีข้อมแอนทราควิโนน สีข้อมซัลเฟอร์ สีข้อมอินดิโกยด์ สีข้อมไนโตรโซ สีข้อมไนโตร สีข้อมฟอร์มาซาน (กาวิ ศรีภูถกิจ, 2543)

2.3.2.1 สีข้อมอะโซ (Azo dye) เป็นสีข้อมสังเคราะห์ที่มีกลุ่มอะโซ ($-N=N-$) หนึ่งกลุ่มหรือมากกว่าอยู่ในโครงสร้างของสี ทำหน้าที่เป็นโครโมฟอร์ และมีออกโซโครมได้หลายกลุ่มจัดเป็นกลุ่มสีที่มีการนำมาใช้มากที่สุดในอุตสาหกรรม โดยเฉพาะในการฟอกย้อม สีข้อมอะโซมิให้เลือกในทุกชนิดเนื่องจากกลุ่มอะโซ ($N=N$) จะต่ออยู่กับโครงสร้างของเบนซีน เนพทาลีน โครงสร้าง aromatic heterocyclic หรือโครงสร้าง aliphatic และยังประกอบด้วยหมู่ที่ต่อกับโครงสร้างเหล่านี้ เช่น หมู่ของเมทอกซี (methoxy) ไฮดรอกซี (hydroxy) คาร์บอกซิล (carboxyl) ไนโตร (nitro) คลอโร (chloro) ซัลโฟเนต (sulphonate) ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้เป็นตัวกำหนดให้เกิดโครงสร้างสีแบบต่างๆ (Razo-Flores and et al., 1997) แต่จะนิยมใช้ในช่วงสีเหลือง แสด แดงน้ำตาลและดำ สีข้อมอะโซเป็น

สีที่สังเคราะห์ได้ง่าย ละลายน้ำได้ดี มีความสว่างสดใสและความคงทนต่อแสงอยู่ในเกณฑ์ ปานกลาง ถึงดี และราคาไม่แพง (กาวิ ศรีกุลกิจ, 2543)



ภาพที่ 1 ตัวอย่างโครงสร้างสีอะโซ

2.3.2.2 สีย้อมแอนทราควิโนน (Anthraquinone dyes) เป็นสีย้อมที่มีแอนทราควิโนน เป็นโครงสร้างหลักอยู่ในโมเลกุล และส่วนใหญ่จะสังเคราะห์โดยอาศัยแอนทราควิโนนเป็นสารเริ่มต้น สีย้อมกลุ่มนี้มีความสำคัญเป็นอันดับสองรองจากสีย้อมอะโซ โดยมีการใช้งานประมาณร้อยละ 25 ของ สีย้อมทั้งหมด เจดสีที่สำคัญ คือ ม่วง ฟ้ำ เขียวและแดงสด เป็นสีที่มีความสว่างสดใส และมีความ คงทนต่อแสงอยู่ในเกณฑ์ดี แต่ความเข้มข้นน้อยกว่าสีย้อมอะโซ และยังมีราคาแพงอีกด้วย (กาวิ ศรีกุลกิจ, 2543)

2.3.2.3 สีย้อมซัลเฟอร์ (Sulphur dyes) เป็นสีย้อมที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบอยู่ในโครงสร้างของโมเลกุล นิยมใช้ย้อมสีที่เปียก ที่ต้องการความเข้มสูง เช่น สีดำ สีน้ำตาล และสีน้ำเงิน สีย้อมซัลเฟอร์ มีราคาถูก แต่มีเฉดสีให้เลือกไม่มากนัก ส่วนมากมักให้สีที่บวมสลด (กาวิ ศรีกุลกิจ, 2543)

2.3.2.4 สีย้อมอินดิโกออยด์ (Indigoid dyes) เป็นสีที่มีอินดิโกติน (indigotin) เป็นโครงสร้างหลัก สีย้อม อินดิโกออยด์เป็นสีที่มีความสว่าง สดใส ราคาถูก มีความคงทนต่อการซักและการฟอกขาวดี จึงเป็นที่ต้องการของอุตสาหกรรมฟอกย้อม (กาวิ ศรีกุลกิจ, 2543)

2.3.2.5 สีย้อมไนโตรโซ (Nitroso dyes) มีโครงสร้างทางเคมีเป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีหมู่ไนโตรโซ (-NO) และหมู่ไฮดรอกไซด์ในตำแหน่งที่ติดกันบนวงแหวนเบนซีน ในการย้อมจะทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะต่างๆ เช่น เหล็ก โครเมียม โคบอลต์ และนิกเกิล (กาวิ ศรีกุลกิจ, 2543)

2.3.2.6 สีย้อมไนโตร (Nitro dyes) มีโครงสร้างทางเคมีเป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีหมู่ไนโตร (-NO₂) และหมู่ไฮดรอกไซด์ (-OH) หรือหมู่อะมิโน (-NH₂) ในตำแหน่งที่ติดกันหรือตรงข้ามบนวงแหวนเบนซีน (กาวิ ศรีกุลกิจ, 2543)

2.3.7 สีย้อมฟอร์มazan (Formazan dyes) เป็นสีที่มีโครงสร้างของกลุ่มไตรไซคลิกคลิเลต อยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนกับทองแดง ส่วนใหญ่พบในสีย้อมเอสิค และสีย้อมรีแอคทีฟ โดยที่เฉดสีส่วนใหญ่เป็นสีน้ำเงิน (กาวิ ศรีกุลกิจ, 2543)

2.4 ความเป็นพิษของสีย้อม

ปัจจุบันโรงงานอุตสาหกรรมและกรมควบคุมมลพิษ ยังไม่ได้กำหนดมาตรฐานสีย้อมในน้ำทิ้ง โดยระบุเพียงว่าน้ำทิ้งต้องไม่มีสีย้อมเป็นที่พึงรังเกียจ เมื่อเปรียบเทียบกับต่างประเทศที่มีความเข้มงวดเรื่องการรักษาสีสิ่งแวดล้อม เช่น เยอรมัน ญี่ปุ่น และสิงคโปร์ พบว่า ยังไม่มีมาตรฐานสีย้อมในน้ำทิ้งเช่นเดียวกัน สาเหตุที่สีย้อมในน้ำทิ้งไม่เป็นที่เข้มงวดในต่างประเทศนั้น เนื่องมาจากสีย้อมมีความเป็นพิษต่ำ แต่สีย้อมบางชนิดอาจเปลี่ยนแปลงกลายเป็นสารมีพิษได้ เช่น สีย้อมที่มีโครงสร้างแบบอะโซ (อังคณา ตูลย์ไทรรัตน์, 2540)

2.5 ความเป็นพิษของสีย้อมอะโซ

สำหรับสีย้อมอะโซมีจำหน่ายอยู่ในรูปของเหลว เป็นผง และเป็นเม็ดละเอียด สีย้อมสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ 3 ทาง คือ ทางจมูกด้วยการสูดดมสีที่ฟุ้งกระจายในอากาศ ก่อให้เกิดการ

ระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจ ทางผิวหนังโดยการสัมผัสทำให้ระคายเคืองต่อเยื่อปอด และทางปากโดยปะปนไปกับอาหารที่รับประทานเข้าไป เนื่องจากสีชนิดนี้จะรวมตัวกับโปรตีนในร่างกายมนุษย์ที่อุณหภูมิปกติของร่างกาย ซึ่งไปกระตุ้นความสามารถในการรับรู้ของระบบทางเดินหายใจ จนทำให้เกิดการระคายเคือง ในปี 1991 องค์กร ETAD (Ecological and Toxicology Association of Dyes and Organic Pigment Manufacturers) ได้ออกประกาศเกี่ยวกับความเป็นพิษของสีย้อมอะโซ เมื่อสัมผัสโดยผิวหนังหรือสูดดมเข้าไป ตลอดจนแนวทางปฏิบัติในการใช้สีย้อมอะโซอย่างถูกวิธี เพื่อสุขภาพที่ดีของผู้ปฏิบัติงาน (อังคณา ตูย์ไตรรัตน์, 2540) นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Gottlieb และคณะ (2003) ที่ศึกษาความเป็นพิษของสีย้อมอะโซหลังจากการย่อยสลาย พบว่าการย่อยสลายสีย้อมอะโซ จะได้สารประกอบอะโรมาติก เอมีน ซึ่งเป็นสารมัลติเจน และมีความเป็นพิษโดยก่อให้เกิดอาการวิงเวียน หากได้รับสารนี้เป็นเวลานานจะเป็นอันตรายต่อระบบประสาทได้ อีกทั้งยังเป็นสารก่อมะเร็งอีกด้วย อย่างไรก็ตาม เอมีนที่เกิดขึ้นไม่ได้เป็นพิษทั้งหมด เช่น กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน และพอลิเอไมด์ ซึ่งไม่เป็นอันตราย (Diaz, 2004)

2.6 กลไกที่มีผลต่อการเปลี่ยนรูปของสีย้อมอะโซ

กลไกที่มีผลต่อการเปลี่ยนรูปของสีย้อมอะโซเป็นกลไกการเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ ของสีย้อมอะโซซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างหลัก โครงสร้างรอง เช่น การเปลี่ยนแปลงหรือการคัดออกของหมู่โซ่ รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ทำให้สีย้อมอะโซมีความซับซ้อนของโครงสร้างน้อยลง เช่น การย่อยสลายซึ่งมักจะทำให้ความเป็นพิษของสารลดลง กลไกการเปลี่ยนรูปของสีย้อมอะโซประกอบด้วย การเปลี่ยนรูปทางเคมี (chemical transformation) ทางกายภาพ (physical transformation) และทางชีวภาพ (biotransformation) (อลิสตา วังใน, 2550) บทบาทของกลไกที่มีผลต่อการเปลี่ยนรูปของสีย้อมอะโซต่อการบำบัดสีย้อมอะโซที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม การเปลี่ยนรูปทางเคมีและกายภาพนั้น ส่วนใหญ่จะเกิดจากการเกิดปฏิกิริยาหรือการสร้างพันธะของสีย้อมอะโซ สำหรับการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพมักจะเกิดขึ้นจากการทำงานของแบคทีเรียและสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในธรรมชาติ การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพเป็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารด้วยวิถี เมแทบอลิซึมต่างๆ ของแบคทีเรีย ซึ่งให้สีย้อมอะโซมีโครงสร้างที่มีความเป็นพิษน้อยลง และผลพลอยได้จากปฏิกิริยาทางชีวภาพเหล่านี้คือแบคทีเรีย ได้รับสารอาหารและพลังงานจากปฏิกิริยาดังกล่าว หากแบคทีเรียสามารถย่อยสลายสีย้อมอะโซเหล่านี้ได้อย่างสมบูรณ์ จะได้คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ เช่นเดียวกันกับการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆ ในธรรมชาติ แบคทีเรียจะได้รับประโยชน์สูงสุดจากปฏิกิริยานี้โดยการใช้สีย้อมอะโซเหล่านี้เป็นสารอาหารในการสร้าง ชีวมวลเซลล์ต่างๆ และใช้พลังงานจากปฏิกิริยาเหล่านี้ในวิถีเมแทบอลิซึม รวมทั้งการซ่อมแซมเซลล์ต่างๆ (อลิสตา วังใน, 2550)

2.7 การบำบัดสีในน้ำทิ้ง

สิ่งเจือปนในน้ำทิ้งจากการย้อมผ้าในโรงงานฟอกย้อมนั้น ส่วนใหญ่จะเป็นสีย้อมและ สารเคมีซึ่งเป็นส่วนที่เหลือตกค้างอยู่ในน้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต และจะถูกปล่อยลงแหล่งน้ำทิ้ง แม้จะมีการโต้เถียงกันว่าสีย้อมไม่ควรถูกจัดให้เป็นสารก่อมลภาวะในน้ำ แต่เนื่องจากทำให้เกิด ความรู้สึกน่ารังเกียจต่อคนทั่วไป ตามความในประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมมาตรฐานน้ำทิ้งจาก โรงงานอุตสาหกรรม กำหนดให้สีในน้ำทิ้งไม่เป็นที่น่ารังเกียจ ดังนั้น น้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมก่อน ปล่อยออกจากโรงงาน ต้องผ่านระบบบำบัดน้ำเสีย เพื่อทำการกำจัดสารต่างๆ รวมทั้งสีที่ตกค้าง ก่อนวิธีการบำบัดสีมีหลายวิธีดังนี้

2.7.1 การตกตะกอนด้วยสารเคมี (Chemical coagulation) เป็นกระบวนการบำบัดสีที่ใช้ กันอย่างกว้างขวาง โดยมักใช้ร่วมกับการปรับค่าพีเอช และสามารถใช้เป็นกระบวนการบำบัดขั้นต้น ก่อนกระบวนการบำบัดทางชีววิทยา สารตกตะกอนที่นิยมใช้คือ ปูนขาว สารส้ม เพอร์รัสคลอไรด์ หรือเพอร์รัสซัลเฟต การบำบัดสีโดยกระบวนการตกตะกอนด้วยสารส้ม เป็นผลจากการทำให้โมเลกุล ของสีถูกดูดซับบนอนุภาคของสารส้ม ทำให้เกิดตะกอนของสีจมตัวลง จากนั้นจึงปรับน้ำทิ้งให้มีพีเอช เป็นกลางก่อนปล่อยลงท่อน้ำทิ้ง เทคนิคนี้สามารถบำบัดสีได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่เนื่องจากน้ำทิ้ง จะมีลักษณะแตกต่างกันไปตามชนิดของโมเลกุลสีย้อม ถ้าสีย้อมมีโมเลกุลเล็ก เช่น สีแอซิด สีรีแอคทีฟ การเกิดตะกอนของสีโดยใช้สารส้มจะไม่สามารถทำได้ ดังนั้นต้องปรับปรุงประสิทธิภาพของ ปฏิกริยาการตกตะกอนให้เป็นไปได้ไปอย่างสมบูรณ์ โดยใช้สารช่วยให้เกิดการรวมตัวของตะกอน เช่น โพลี ลีเอคโตรไลท์ ซึ่งต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสม เนื่องจากความเข้มข้นของโพลีลีโอคโตรไลท์ที่ เหลืออยู่ในน้ำทิ้ง จะส่งผลเสียต่อกระบวนการไนตริฟิเคชัน (รัชนิย์ รุกขชาติ, 2555)

2.7.2 การดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ (Activated carbon) เป็นกระบวนการดูดซับที่นิยมใช้ อย่างแพร่หลาย สามารถใช้บำบัดสีได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่มีข้อจำกัดที่น้ำหนักโมเลกุลของของเสีย ที่จะถูกดูดซับ ต้องมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 400 ซึ่งโดยทั่วไปน้ำหนักโมเลกุลของของเสียใน อุตสาหกรรมสีจะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 400 และสูงกว่า 1200 ดังนั้นก่อนการบำบัดสีด้วย กระบวนการดูดซับบนถ่านกัมมันต์ จะต้องมีการปรับขนาดโมเลกุลของของเสียให้เหมาะสมก่อน โดย การไฮโดรไลซิสด้วยปูนขาว ซึ่งต้องใช้ปูนขาวปริมาณมากในการปรับพีเอชของสารละลายให้อยู่ ในช่วง 10-11 ซึ่งส่งผลให้พีเอชของน้ำทิ้งสูง ดังนั้น ต้องมีการปรับพีเอชให้เป็นกลางก่อนปล่อยทิ้ง การบำบัดสีด้วยกระบวนการดูดซับบนถ่านกัมมันต์ เป็นกระบวนการที่ทำให้โมเลกุลของสีดูดซับ บนผิวของถ่านกัมมันต์ ดังนั้น ประสิทธิภาพการดูดซับสีจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณรูพรุนของ ถ่าน กัมมันต์ เพราะพื้นที่ผิวจำเพาะมากขึ้นนั่นเอง แต่การทำให้โมเลกุลของสีหลุดออกจากผิวของถ่านนั้น ทำได้ยาก ต้นทุนการนำถ่านกัมมันต์กลับมาใช้ใหม่จึงสูงมาก เพราะต้องผ่านการเผา และการบำบัด

ากซึ่งมีค่าใช้จ่ายสูง รวมถึงค่าใช้จ่ายในส่วนที่มีการปรับ พีเอช ก่อนปล่อยออกจากโรงงานด้วย ทำให้เทคนิคนี้ไม่เป็นที่นิยมแม้จะมีประสิทธิภาพการบำบัดสูงก็ตาม (รัชนิย์ รุกขชาติ, 2555)

2.7.3 การออกซิไดซ์ด้วยโอโซน (Ozone treatment) โดยทั่วไปโมเลกุลสีย้อมจะมีหมู่โครโม-ฟอร์ที่เป็นสารประกอบอินทรีย์เป็นพวกวงแหวน กับพันธะคู่หรือพันธะเดี่ยว ดังนั้นการที่จะทำลายโมเลกุลของสีนั้น ต้องทำลายหมู่โครโมฟอร์ที่เป็นพันธะคู่หรือพันธะเดี่ยวก่อน ซึ่งการบำบัดทางชีววิทยาไม่สามารถทำได้ กระบวนการบำบัดสีโดยใช้โอโซนเป็นเทคนิคที่นำมาใช้ไม่นานนัก ซึ่งอาจได้รับความนิยมเมื่อมาตรฐานการปล่อยน้ำทิ้งเข้มงวดขึ้น การโอโซนชั้น (ozonation) เป็นการออกซิไดซ์พันธะคู่ที่เป็นพันธะเคมีของหมู่โครโมฟอร์ของโมเลกุลด้วยโอโซน แต่เนื่องจากโอโซนเป็นตัวออกซิไดซ์ที่แรงมากจะทำปฏิกิริยากับสารประกอบในน้ำทิ้งอย่างรวดเร็วเมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โมเลกุลของสีย้อม ซึ่งส่วนใหญ่มักประกอบด้วยไนโตรเจนคลอรีน หรือซัลเฟอร์ จะเกิดเป็นสารประกอบชนิดใหม่ที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าสารตั้งต้น (รัชนิย์ รุกขชาติ, 2555)

2.7.4 เทคโนโลยีเยื่อแผ่น (Membrane technology) กระบวนการบำบัดสีด้วยเยื่อแผ่น (membrane) สามารถใช้ในการบำบัดสี นำสารเคมีที่ใช้ในการย้อมสี และสีย้อมบางชนิดกลับมาใช้ใหม่ได้ แบ่งออกเป็น 4 ประเภทดังนี้

2.7.4.1 ไมโครฟิลเตรชัน (Microfiltration) ใช้ในการบำบัดสีย้อมที่มีลักษณะเป็นคอลลอยด์ (colloid) ที่ถูกปล่อยออกจากหม้อย้อมหลังจากผ่านการล้าง โดยใช้บำบัดสีดิสเพอร์สที่ใช้ย้อมเส้นใยประเภทโพลีเอสเตอร์ และสีย้อมประเภทสีซัลเฟอร์ สีแวต และสีอะโซอิกที่ใช้ย้อมเส้นใยฝ้าย และวิสคอส (viscose) สีย้อมดิสเพอร์สเมื่อผ่านกระบวนการไมโครฟิลเตรชัน แล้วสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ (รัชนิย์ รุกขชาติ, 2555)

2.7.4.2 ออสโมซิสย้อนกลับ (Reverse osmosis) เหมาะสำหรับใช้กำจัดไอออนสีย้อม และโมเลกุลของสีย้อมที่มีขนาดใหญ่ เป็นกระบวนการที่จะต้องผ่านเยื่อแผ่น 2 ชั้นตอน คือเยื่อแผ่นออสโมซิสย้อนกลับที่บรรจุน้ำกร่อย (brackish water) และเยื่อแผ่นออสโมซิสย้อนกลับที่บรรจุน้ำทะเล (sea water) ซึ่งเยื่อแผ่นแรกจะสามารถบำบัดสีได้ถึงร้อยละ 90 ความเข้มข้นของสีที่เหลือจะถูกส่งผ่านไปยังเยื่อแผ่นที่สอง และสามารถบำบัดสีได้ถึงร้อยละ 94 อย่างไรก็ตามสีย้อมที่ใช้ย้อมเส้นใยไม่สามารถใช้กระบวนการนี้ได้ (รัชนิย์ รุกขชาติ, 2555)

2.7.4.3 ไดนามิก เมมเบรน (Dynamic membrane) ใช้บำบัดสีย้อมที่มีลักษณะเป็นคอลลอยด์ที่แขวนลอยอยู่โดยใช้ตัวรองรับที่มีรูพรุน เช่น เหล็ก แสตนเลส วัสดุคาร์บอน หรือเซรามิก ซึ่งต่อมาได้พัฒนามาใช้ Hydrous zirconium (IV) oxide และกรดโพลีอะคลีลิก (Zr/PAA) เพื่อปรับปรุงขนาดของรูพรุน กระบวนการนี้สามารถบำบัดสีได้ถึงร้อยละ 95 หรือมากกว่า (รัชนิย์ รุกขชาติ, 2555)

อิเล็กตรอนอิสระแก่ออกซิเจนมากกว่าสี่อะโซ ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (anaerobic condition) อิเล็กตรอนอิสระที่เกิดจากแบคทีเรียจะทำให้หมู่อะโซแตกออก เนื่องจากเอนไซม์เอโซรีดักเทส (azoreductase) ที่เกิดในไซโทพลาสซึมเมมเบรน (cytoplasmic membrane) ได้ผลผลิต คือ อะโรมาติกเอมีน และจากการที่หมู่อะโซแตกออกนี้เองทำให้สีมีปริมาณลดลง หมู่อะโรมาติกบางชนิดที่เกิดจากการแตกของหมู่อะโซ อาจมีความเป็นพิษหรือมีความสามารถในการก่อมะเร็งได้ แต่สารเหล่านี้สามารถสลายหรือเปลี่ยนโครงสร้างให้เป็นสารที่ไม่มีพิษ โดยการบำบัดแบบใช้ออกซิเจน (Frijter and et al., 2006) ซึ่งอาจทำโดยปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (Hydroxylation) หรือการทำให้วง อะโรมาติกเปิดออก การสลายสี่อะโซจึงเหมาะที่จะใช้สภาวะที่มีการใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนร่วมกัน (Jirasripongpun and et al., 2007) การบำบัดโดยการใช้ออกซิเจนไม่นิยมทำเนื่องจากมีราคาสูง ตลอดจนเซลล์ของแบคทีเรียมีความสามารถในการป้องกันอันตรายจากสิ่งแวดล้อมต่อเอนไซม์ได้ เนื่องจากคุณสมบัติความเป็นเยื่อเลือกผ่านของผนังเซลล์ของแบคทีเรีย (ศศิพงษ์ ปลายเงิน, 2550)

กลไกในการบำบัดสีย้อมโดยแบคทีเรีย มี 2 กลไกหลัก คือ

(1) การดูดซับ (Bioadsorption) เป็นการดูดซับสีเข้ามาในเยื่อหุ้มเซลล์และมีส่วนถูกดูดซับภายในไซโทพลาสซึม

กลไกการดูดซับในกิจกรรมการย่อยสลายสีย้อมอะโซเกิดจากแบคทีเรียดูดซับสีเข้าสู่เซลล์ ทำให้ความเข้มข้นของสีย้อมลดลงขั้นหนึ่ง แต่เป็นเพียงระยะเวลาดสั้น ๆ ไม่สามารถลดสีได้ในระยะยาว จนเมื่อถึงจุดที่แบคทีเรียดูดซับสีจนถึงจุดอิ่มตัวแล้ว เซลล์จะมีกระบวนการทางชีวภาพเพื่อย่อยสลายสีเกิดขึ้น (Silveira and et al., 2009)

(2) การย่อยสลาย (Biodegradation) การผลิตเอนไซม์มีทั้งเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ (intracellular enzyme) และเอนไซม์ที่ปล่อยออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) เอนไซม์ที่อยู่ในเซลล์ คือ เอนไซม์ที่ทำหน้าที่อยู่ในเซลล์เพื่อสร้างพลังงาน และสารต่างๆ ให้แก่เซลล์ (เสาวนีย์ ธรรมสถิตติ, 2547) เอนไซม์ที่ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ คือ เอนไซม์ที่สร้างขึ้นแล้วถูกปล่อยออกมานอกเซลล์ ทำหน้าที่ย่อยสารอาหารที่อยู่นอกเซลล์ เพื่อจะได้ดูดซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ง่าย (เสาวนีย์ ธรรมสถิตติ, 2547)

จุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์และเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ เพื่อเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสีย้อม โดยในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสีย้อม อาจประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิด เรียกรวมว่า ligninolytic enzymes ได้แก่ เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (lignin peroxidases; Lip) แลคเคส (laccases; Lac) และแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (manganese peroxidases; MnP) เป็นเอนไซม์ที่เกิดจากกลไกการย่อยสลายแบบออกซิเดทีฟ สำหรับเอนไซม์เอโซรีดักเทส (azoreductase) เป็นเอนไซม์ที่เกิดจากกลไกการย่อยสลายแบบรีดักทีฟ โดยจุลินทรีย์ผลิตขึ้นและปล่อยออกมาย่อยสลายสารจำพวกอะโรมาติก ซึ่งมีโมเลกุลขนาดใหญ่ เอนไซม์เอโซรีดักเทส

ต้องการ NADH และ NADPH เป็นโคแฟกเตอร์ ในการย่อยสลายสีย้อม (Nishiya and Yamamoto, 2007) เอนไซม์เอโซรีดักเทสมีทั้งชนิดที่เป็น intracellular enzyme (Hsueh and Chen, 2008) และ extracellular enzyme (Dafale and et al., 2008)

เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (Lignin Peroxidase; LiP) เป็นกลไกการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จะทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 เกิดการออกซิไดซ์สารประกอบอะโรมาติก เช่น veratryl alcohol ได้อินนูลบวแกเรล ซึ่งสามารถถูกออกซิไดซ์ต่อไปได้เมื่อมีออกซิเจน ระบบย่อยสลายลิกนินมีลักษณะไม่จำเพาะเจาะจง ทำให้สามารถนำเอนไซม์กลุ่มนี้ไปใช้ออกซิไดซ์สารประกอบ อะโรมาติกอื่นๆ ได้อีกมากมาย ตัวอย่างเช่น สารประกอบ polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated phenol, dioxins และ synthetic dye (อรชिरา เพ็ชรช้อย, 2552)

เอนไซม์แลคเคส (Laccase; Lac) แลคเคส มีประสิทธิภาพการออกซิไดซ์สารประกอบที่มีโครงสร้างคล้ายลิกนิน ทั้งที่เป็นกรดฟีโนลิก และไม่เป็นกรดฟีโนลิก ตลอดจนสารก่อมลพิษชนิดต่างๆ ได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน จึงมีการประยุกต์ใช้แลคเคส ในการบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมโดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำเสียจากโรงงานกระดาษและเยื่อกระดาษ โรงงานสิ่งทอ โรงงานปิโตรเคมี สารกำจัดวัชพืช และสารกำจัดแมลง (Eichlerova et al., 2003)

เอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (Manganese Peroxidase; MnP) เป็นไกลโค-โปรตีนที่เร่งปฏิกิริยาการออกซิไดซ์สารประกอบอะโรมาติกได้อินนูลฟินออกซีหรืออินนูลบวแกเรล (อรชिरา เพ็ชรช้อย, 2552)

เอนไซม์เอโซรีดักเทส (Azoreductase) แบคทีเรียสร้างเอนไซม์เอโซรีดักเทสเพื่อย่อยสลายพันธะเอโซให้แตกออก ทำให้โมเลกุลของสีเอโซเล็กลงและในขั้นตอนนี้จะทำให้ความเข้มข้นลดลงด้วย กระบวนการย่อยสลายสีเอโซโดยเอนไซม์เอโซรีดักเทสเกิดได้ทั้งในสภาพเดิมหรือไม่เติมอากาศ Chen (2006) พบว่า แบคทีเรียบางชนิดสามารถย่อยสลายสีย้อมเอโซได้ ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและในสภาวะที่ไม่มีอากาศ โดยแบคทีเรียจะมีการสร้างเอนไซม์เอโซรีดักเทสเพื่อย่อยสลายพันธะเอโซในโมเลกุลของสีย้อมให้แตกออก ทำให้ได้สารประกอบอะโรมาติกเอมีน อย่างไรก็ตาม Dong-lei and et al. (2007) ศึกษาการย่อยสลายสีย้อมเอโซทั้งในสภาวะที่มีอากาศและในสภาวะที่ไม่มีอากาศ พบว่า ในสภาวะที่ไม่มีอากาศจะเหมาะสมต่อการย่อยสลายสีเอโซมากกว่า และ Chen (2002) พบว่า การเติมออกซิเจนลงไประหว่างเพาะเลี้ยงเชื้อ *Pseudomonas luteola* จะลดการสร้างเอนไซม์เอโซรีดักเทสที่สร้างขึ้นภายในเซลล์ ทำให้การย่อยสีหยุดลง ในทางตรงกันข้ามการบ่มในสภาวะคงที่ (static condition) ปริมาณออกซิเจนจะมีเพียงเล็กน้อยที่บริเวณผิวหน้าอาหารจะก่อให้เกิดการชักนำการสร้างเอนไซม์เอโซรีดักเทสมากยิ่งขึ้น Zimmermann and et al. (1982) เสนอกลไกการย่อยสีกลุ่มเอโซ โดยแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการตัดพันธะของหมู่เอโซด้วยเอนไซม์เอโซรีดักเทสที่ใช้ NADH หรือ NADPH ในสภาพไม่มีอากาศหรือมีออกซิเจนปริมาณจำกัด (เช่น เพาะเลี้ยงในสภาวะ

คงที่) ซึ่ง NADH หรือ NADPH จะทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน เป็นผลให้เกิดการสร้างผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารอะโรมาติกเอมีน ซึ่งจะถูกลดสลายในสภาพมีออกซิเจนด้วยเอนไซม์ ประเภทไม่จำเพาะเจาะจงเข้าสู่กระบวนการ hydroxylation และการเปิดวงอะโรมาติกในสถานะที่มีออกซิเจน กระบวนการย่อยสลายจะเกิดแบบจำเพาะ และจะต้องเกิดขึ้นในระบบที่เป็นระบบต่อเนื่อง จนกระทั่งเซลล์สร้างเอนไซม์เอโซ-รีดักเทส ซึ่งมีความจำเพาะต่อสียอะโซภายใต้สภาวะที่กำหนด จึงทำการย่อยสลายพันธะเอโซได้ ในทางตรงกันข้ามถ้าเกิดการสลายในสถานะที่ไม่มีออกซิเจน การเกิดปฏิกิริยารีดักชันจะเกิดในแบบไม่จำเพาะซึ่งหมายถึงการเกิดกับหมู่เอโซด้วยการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนระหว่างสียอะโซในสิ่งแวดล้อมและเซลล์แบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์กัน โดยมักจะเกิดที่เยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอก (outer membrane) แบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เอโซ-รีดักเทสในการย่อยสลายหรือลดสียอะโซได้ เช่น *Xenophilus azovorans* (Blumel and et al., 2002) *Rhodobacter sphaeroides* (Bin and et al., 2004) *Staphylococcus aureus* (Chen and et al., 2005) *Bacillus velezensis* (Bafana and et al., 2008) และ *Pseudomonas aeruginosa* (Dafale and et al., 2008)

2.7.7.1 การใช้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ น้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมสิ่งทอ มีความซับซ้อน ความหลากหลายของสีสังเคราะห์และผลิตภัณฑ์อื่น ๆ เช่น สารช่วยกระจายตัว กรด เบส เกลือ และอื่นๆ เมื่อปล่อยของเสียเหล่านี้ลงในแม่น้ำ ทำให้ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง ทำให้สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำตาย กระบวนการทางชีวภาพเป็นทางเลือกที่จะใช้เทคโนโลยีที่มีอยู่ เพราะมีประสิทธิภาพสูง เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและตะกอนที่เกิดขึ้นมีปริมาณน้อย นอกจากนี้การบำบัดสีโดยแบคทีเรีย เกิดอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับระบบเชื้อราในการบำบัดสียอะโซ ความพยายามที่จะแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ในการย่อยสลายสียอะโซ เริ่มต้นในปี 1970 (Wuhrmann and et al., 1980) การวิจัยในเรื่องของการบำบัดสีได้รับคำเน้นการ โดยใช้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ เช่น *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas luteola* และ *Pseudomonas* sp. และแยกเชื้อ *Pseudomonas* SP SUK1 แสดงแนวโน้มการบำบัดสียอะโซภายใต้สภาวะอะน็อกซิก (Chang and et al., 2001; Chen and et al., 1999; Kalyani and et al., 2008; Yu and et al., 2001) การใช้เชื้อบริสุทธิ์ในการทดลองง่ายในการตรวจสอบกลไก รายละเอียดของการย่อยสลาย โดยใช้เครื่องมือของชีวเคมีและชีวโมเลกุลและข้อมูลนี้อาจจะมีประโยชน์ในการควบคุมระบบเอนไซม์เพื่อผลิตแก้ไขสายพันธุ์ที่มีกิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้น การวิเคราะห์เชิงปริมาณจากจลนพลศาสตร์ของการบำบัดสียอะโซ โดยเฉพาะแบคทีเรียประจำถิ่น ได้รับการศึกษาในรายละเอียดในระดับห้องปฏิบัติการ (Chang and Kuo, 2000; Telke and et al., 2008)

2.7.7.2 การใช้แบคทีเรียผสม ในการบำบัดสีที่มีประสิทธิภาพและรวดเร็ว โดยเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์มักจะไม่สามารถย่อยสลายสียอะโซได้สมบูรณ์ และจะมีอะโรมาติกเอมีนเกิดขึ้น ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง จะต้องทำการย่อยสลายต่อไป (Joshi and et al., 2008) ดังนั้นระบบการบำบัดที่ประกอบด้วยกลุ่มจุลินทรีย์ผสม จะทำให้การย่อยสลายมีประสิทธิภาพสูงขึ้น เนื่องจากมีการ

ผสมผสานกิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์และมีข้อดีมากกว่าการใช้เชื้อบริสุทธิ์ในการย่อยสลายของสีอะโซ (Chen and Chang, 2007; Khehra and et al., 2005; Saratale and et al., 2010) ในความเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ สายพันธุ์แต่ละชนิดจะย่อยสลายโมเลกุลสีที่แตกต่างกัน ตำแหน่งหรืออาจใช้สารที่ผลิตร่วมกันที่มีอยู่ในสายพันธุ์สำหรับการย่อยสลาย (Chang and et al., 2004; Forgacs and et al., 2004; Jadhav and et al., 2008; Saratale and et al., 2009) โดยทั่วไปในการย่อยสลายสีอะโซ เริ่มต้นด้วยการสลายพันธะอะโซ ซึ่งส่งผลให้เกิดอะโรเมติกเอมีนซึ่งเป็นพิษในธรรมชาติ

2.7.7.3 การใช้เซลล์กลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป การตรึงเซลล์ถูกนำมาใช้ในการป้องกันเซลล์ของจุลินทรีย์จากสารมลพิษหรือการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม มีการใช้อัลจิเนตในการตรึงรูปเพื่อรักษาสภาพของเซลล์ รวมถึงประโยชน์ทั้งหมดของปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน (Tal and et al., 2001)

การตรึงเซลล์จุลินทรีย์ (Cell immobilization) ได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นในการบำบัดของเสีย ซึ่งมีศักยภาพในการปรับปรุงประสิทธิภาพจากกระบวนการชีวภาพ เมื่อเทียบกับเซลล์อิสระ (Wang, 2002) เซลล์ตรึงรูปมีข้อดีหลายประการ คือ (1) สามารถเพิ่มอัตราการย่อยสลายในสถานะที่มีสารอินทรีย์สูง (2) สามารถควบคุมได้ง่าย (3) สามารถทำกิจกรรมได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่ต้องมีอัตราการเจือจางสูง (4) ปฏิกิริยามีความคงที่ ตลอดจนมีความคงทนต่อสารประกอบที่เป็นพิษ เซลล์ตรึงรูปได้รับการพัฒนาเพื่อให้ออกฤทธิ์สารมลพิษได้เร็วกว่าระบบบำบัดน้ำเสียธรรมดาเพราะมีความหนาแน่นของจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูง การตรึงเซลล์ได้รับการใช้อย่างกว้างขวางในการย่อยสลายสารประกอบที่เป็นพิษ เช่น ฟีนอล (Wang and et al., 1995), 4-chlorophenol (Wang and et al., 1997a; Wang and Qian, 1999), 2,4-dichlorophenol (Quan and et al., 2003), quinoline (Wang and et al., 2001), phthalic acid esters (Wang and et al., 2003)

พอลิเมอร์เมทริกซ์ถูกนำมาใช้สำหรับการตรึงเซลล์อย่างกว้างขวาง สารธรรมชาติและพอลิเมอร์สังเคราะห์หลายชนิดถูกนำมาใช้ในการตรึงเซลล์ (Wang and Liu, 1996; Wang and Shi, 1998; Wang and et al., 2000) พอลิเมอร์ธรรมชาติ ได้แก่ agar, agarose, alginate, kappa-carragenan มีความแข็งแรงเชิงกลที่ดีและมีความทนทาน ไม่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ ตรงกันข้ามกับสารพอลิเมอร์สังเคราะห์ มีความแข็งแรงและทนทาน แต่มักจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่น พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) เป็นชนิดที่มีแนวโน้มของการสังเคราะห์พอลิเมอร์ซึ่งมีราคาถูกและไม่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ เหมาะสำหรับการตรึงจุลินทรีย์

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชนิษฐา ชัยรัตนาวรรณ (2552) ทำการศึกษาการดูดซับสีในน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมด้วยตะกอนจุลินทรีย์ ผลการศึกษาพบว่า ความสามารถในการดูดซับสีของตะกอนจุลินทรีย์ที่มีชีวิต

กับตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีชีวิตมีความแตกต่างกัน ตะกอนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตมีความสามารถในการดูดซับสีได้สูงกว่าตะกอนจุลินทรีย์ที่ตายแล้ว และยังพบอีกว่าตะกอนจุลินทรีย์ที่นำมาจากโรงบำบัดน้ำเสียรวมสี่พระยา มีความสามารถในการดูดซับสีได้มากกว่าตะกอนจุลินทรีย์ ที่มาจากโรงฟอกย้อม สำหรับตะกอนจุลินทรีย์ที่มาจากโรงบำบัดน้ำเสียรวมสี่พระยาจะใช้ระยะเวลาสัมผัส 6 ชั่วโมง ในขณะที่ตะกอนจุลินทรีย์จากโรงงานฟอกย้อมใช้เวลาสัมผัสเพียง 3 ชั่วโมง ความสามารถในการดูดซับสูงสุดเท่ากับ 6.12 มิลลิกรัมต่อเซลล์

สุกัลยา บริสุทธิ์ (2553) ศึกษาประสิทธิภาพของ *B. subtilis* ORB7106 ในการย่อยสลายสีย้อมอะโซประเภท Azobenzene, Methyl red, Orange G และ Congo red ที่ความเข้มข้น 10-200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยศึกษาการย่อยสลายสีย้อมในสภาวะที่แตกต่างกันของอุณหภูมิ ตั้งแต่ 25-45 องศาเซลเซียส และที่พีเอช 5-9 บนอาหารแข็งและในอาหารเหลว จากการทดสอบบนอาหารแข็ง พบว่า *B. subtilis* ORB7106 สามารถเจริญและย่อยสลายสี Methyl red และ Congo red ได้ดี ที่ทุกความเข้มข้นสีสังเกตจากส่วนใสรอบโคโลนี การย่อยสลายสีย้อมในอาหารเหลว พบว่า *B. subtilis* ORB7106 สามารถย่อยสลายสี methyl red และ congo red ได้ถึงร้อยละ 80.25-97.15 ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนสีย้อม Azobenzene และ Orange G ย่อยสลายได้เพียงเล็กน้อย จากผลการย่อยสลาย พบว่า *B. subtilis* ORB7106 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสีย้อมอะโซดีกว่า *B. subtilis* JH642 อย่างมีนัยสำคัญ โดย *B. subtilis* ORB7106 สร้างเอนไซม์เอโซรีดักเทส (AzoR1) ชนิด intracellular enzyme ที่ต้องการ NADH เป็นโคแฟกเตอร์ในการย่อยสลายสีย้อม และพบว่า ประสิทธิภาพของเอนไซม์เอโซรีดักเทสเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่อเลี้ยง *B. subtilis* JH642 ในสภาวะที่มีสี Methyl red เป็นตัวชักนำ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์เอโซรีดักเทส (AzoR1) มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสีย้อม

Bella Devassy Tony and et al. (2009) ทำการศึกษาการบำบัดสีย้อมอะโซโดยกลุ่มแบคทีเรียใช้อากาศ 2 กลุ่ม ซึ่งพัฒนาจากระบบบำบัดน้ำเสีย พบว่ากลุ่มแบคทีเรีย SKB-II มีประสิทธิภาพในการบำบัดสีเฉพาะได้สูงกว่าสีผสม ที่มีการเติมแป้ง 1.3 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เวลาสุดท้าย 120 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพการบำบัดสีอยู่ในช่วงร้อยละ 80-96 ของสีย้อม 4 ชนิด จาก 6 ชนิด ได้แก่ congo red, bordeaux, ranocid fast blue และ blue BCC (ที่ความเข้มข้น 10 mgL⁻¹) และประสิทธิภาพการบำบัดร้อยละ 50-60 ของสีผสม ได้แก่ Congo red, Bordeaux, Ranocid Fast Blue และ Blue BCC ที่ความเข้มข้นรวม 10 มิลลิกรัมต่อลิตร แบคทีเรียกลุ่ม SKB-II ประกอบด้วยแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ซึ่งได้จากการจำแนกด้วยวิธี 16S rDNA sequence alignment ได้แก่ *Bacillus vallismortis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* และ *Bacillus megaterium*

Daizong Cui and et al. (2012) ทำการศึกษาโครงสร้างจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียผสมที่ใช้ในการบำบัดสีย้อมอะโซภายใต้สภาวะใช้อากาศและไม่ใช้อากาศ ผลการศึกษาพบว่า แบคทีเรียเกือบ

ทุกสายพันธุ์เป็นแบบไม่ใช้อากาศ มีกลุ่มแบคทีเรีย 2 กลุ่ม ซึ่งสามารถบำบัดสีเมทิลเรดได้ทั้งสภาวะใช้อากาศและไม่ใช้อากาศ อัตราการบำบัดสีอะโซสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในการใช้กลุ่มจุลินทรีย์เปรียบเทียบกับสายพันธุ์เฉพาะ ทั้ง 2 กลุ่มสามารถบำบัดสีอะโซที่ความเข้มข้นแตกต่างกันอย่างมีประสิทธิภาพในระยะเวลาอันสั้นและทนต่อความเข้มข้นของสีเมทิลเรดได้สูง

Kannan Pakshirajan and Sumeet Kheria (2012) ทำการศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมสีโดยใช้ *Phanerochaete chrysosporium* ตรึงรูปในถังปฏิกริยาจานหมุนชีวภาพ ผลการศึกษาพบว่า การบำบัดสีมากกว่าร้อยละ 64 เมื่อผสมกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ และประสิทธิภาพการบำบัดสีสูงสุด เท่ากับร้อยละ 83 ที่ความเข้มข้นของกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร การบำบัดซีไอดี สอดคล้องกับประสิทธิภาพการบำบัดสีในน้ำเสีย นอกจากนี้ผลที่ได้ยังสอดคล้องกับกิจกรรมของ เอมไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (MnP) และลิกนินเปอร์ออกซิเดส (LiP) จากเชื้อรา ซึ่งพบว่ามีบทบาทสำคัญในการบำบัดสีในน้ำเสีย

Kuo-Cheng Chen and et al. (2003) ศึกษาการบำบัดสีอะโซโดยใช้จุลินทรีย์ตรึงรูปบนพีวีเอ พบว่า กลุ่มจุลินทรีย์มีความสามารถสูงในการบำบัดสีอะโซ โดยเซลล์ตรึงรูปสามารถลดสีได้ร้อยละ 75 ที่ความเข้มข้นสูงสุด เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายในเวลา 12 ชั่วโมง โดยการเดินระบบต่อเนื่องในระยะเวลา 5-20 ชั่วโมง อัตราการระสีอยู่ในช่วง 240-60 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง ประสิทธิภาพในการบำบัดเกินร้อยละ 90 ที่ระยะเวลาสัมผัสสูงกว่า 10 ชั่วโมง โดยไม่พบว่าเม็ดบีทูลูกทำลายในการเดินระบบต่อเนื่องเป็นเวลา 6 เดือน การตรวจสอบกลไกของกระบวนการลดสีโดยเซลล์ตรึงรูป พบ เบื้องต้นเกิดจากกระบวนการทางชีวภาพร่วมกับการดูดซับสีลงในเซลล์และสารพยาง และจากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า มีกลุ่มจุลินทรีย์อย่างน้อย 3 สายพันธุ์อยู่ในเม็ดบีท

Cristovao Raquel and et al. (2011) ศึกษาหาทางเลือกในการตรึงเอนไซม์และการใช้ซ้ำ เพื่อให้มีราคาถูก และสามารถทำได้ง่ายในการบำบัดน้ำเสียระดับอุตสาหกรรมสิ่งทอ จึงได้ทำการตรึงเอนไซม์แลกเคสบนใยมะพร้าวดิบ วัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร โดยการดูดซับทางกายภาพ ผลของสภาวะจากการตรึงรูป ได้แก่ ความเข้มข้นของเอนไซม์ ระยะเวลาสัมผัส และค่าพีเอช บนลักษณะของตัวเร่งปฏิกริยาทางชีวภาพที่กำหนด เมื่อลักษณะของเอนไซม์ตรึงรูปถูกดำเนินการและพารามิเตอร์ที่เกิดขึ้น ความคงตัวของการดำเนินการและความร้อนเปรียบเทียบกับ เอนไซม์อิสระ แสดงถึงศักยภาพในการดำเนินการแบบต่อเนื่อง การใช้เอนไซม์ตรึงรูปในการย่อย สีย้อมรีแอคทีฟแบบต่อเนื่องและแบบผสมในถังปฏิกริยาแบบแบตช์ พบว่าเกิดจากสองลักษณะ คือ การดูดซับสีบนวัสดุ และปฏิกริยาของเอนไซม์

Sung-Hwa Lin and et al. (2012) ศึกษาการการบำบัดสีย้อมไดอะโซ (C.I. Reactive Red 141, RR 141) โดยใช้ถังปฏิกริยา UFPB ที่บรรจุระบบเซลล์ตรึงรูปกับเชื้อ *Aeromonas hydrophila* จากการทดลองพบว่า (1) ข้อมูลของระบบเซลล์ตรึงรูปทั้ง ลำดับแรกและลำดับสุดท้ายเป็นปฏิกริยาการ

ดูดซับ ไอโซเทอมแบบแลงเมียร์ (2) ข้อมูลทั้งหมดของระบบเซลล์ตรึงรูปมีการดูดซับคงที่ (3) ทั้งศักยภาพของเซลล์ตรึงรูปและขอบเขตสูงสุดของถึงปฏิกิริยาชีวภาพเป็นสัดส่วนกับจำนวนสารอาหารที่เข้าไป (4) ลักษณะเซลล์ตรึงรูปไม่ขึ้นกับอัตราการไหลของน้ำ หลังจากผ่านการบำบัดแล้วลักษณะเซลล์ตรึงรูปผกผันกันอัตราการไหลของน้ำ

Ying Cheng and et al (2012) ทำการศึกษา การย่อยสลายสปีคริสตัลไวโอเลท โดยใช้เชื้อ *Burkholderia vietnamiensis* C09V ตรึงบน พีวีเอ-โซเดียมอัลจิเนท-คาโอลิน พบว่า เม็ดบีท *Burkholderia vietnamiensis* C09V สามารถบำบัดสปีคริสตัลไวโอเลท ที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลาย ได้ถึงร้อยละ 98.6 ในขณะที่เซลล์อิสระบำบัดได้ร้อยละ 94.0 ที่ pH 5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 ชั่วโมง

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1.1 สารเคมี

3.1.1.1 Azo dyes (C.I. direct red 28, C.I. direct blue 53 และ C.I. reactive 107)

3.1.1.2 Sodium alginate

3.1.1.3 $MgSO_4$

3.1.1.4 $CaCl_2$

3.1.1.5 KH_2PO_4

3.1.1.6 K_2PO_4

3.1.1.7 NH_4NO_3

3.1.1.8 $FeCl_3$

3.1.1.9 NaCl

3.1.1.10 Glucose

3.1.1.11 Yeast extract

3.1.1.12 Tryptone

3.1.2 วัสดุ อุปกรณ์

3.1.2.1 Flask

3.1.2.2 Auto Pipette

3.1.2.3 Filter sterile 0.45 μM (Millipore)

3.1.2.4 Shaker

3.1.2.5 Centrifuge

3.1.2.6 Spectrophotometer

3.1.2.7 pH meter

3.1.2.8 Autoclave

3.1.2.9 กระบอกฉีดยา

3.1.2.10 เข็ม ขนาด 18 มิลลิเมตร

3.1.2.11 สำลี

3.1.2.12 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Nova spec II Model 80-2088-64

3.1.2.13 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (JEOL JSM-6010LV)

3.1.2.14 กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา

3.2 การพัฒนากลุ่มแบคทีเรียบำบัดสี

เก็บตัวอย่างน้ำเสีย ที่บ่อพักคัลเททิฟจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานฟอกย้อม (ระบบปรับเสถียร) อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 1 ตัวอย่าง และเก็บที่บ่อเติมอากาศจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาลอุทุมพรพิสัย (ระบบตะกอนเร่ง) อำเภออุทุมพรพิสัย จังหวัดศรีสะเกษ จำนวน 1 ตัวอย่าง บรรจุขวดปลอดเชื้อและปิดฝาให้มิดชิด เปิดตัวอย่างน้ำเสียปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Bushnell and Hass basal medium supplemented with glucose and yeast extract (BHB-GY medium) 90 มิลลิลิตร ซึ่งเติม 1% Congo red 1% Blue BCC และ 1% Golden yellow RNL สีละ 50 ไมโครลิตร ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดให้ถ่ายเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY medium ซึ่งเติม 1% Congo red 1% Blue BCC และ 1% Golden yellow RNL สีละ 200 ไมโครลิตร ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้จนครบ 7 รอบ (โดยรอบที่ 6-7 ไม่ต้องเติมสีลงในอาหารเลี้ยงเชื้อและใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ LB medium ทดแทน BHB-GY medium) กลุ่มแบคทีเรียที่ได้จากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานฟอกย้อมและระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาลอุทุมพรพิสัย คือ 1) Bacterial consortium PD-I และ 2) Bacterial consortium PD-II ตามลำดับ เก็บรักษาชั้นพันธุ์ชั้นของกลุ่มแบคทีเรีย ใน 50% glycerol เก็บที่ -80 องศาเซลเซียส

3.3 การตรึงกลุ่มเซลล์แบคทีเรีย

นำกลุ่มเซลล์แบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB medium ที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แยกตะกอนเซลล์โดยการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 ครั้ง เตรียมชั้นพันธุ์ชั้นของกลุ่มแบคทีเรียด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY medium จากนั้นนำชั้นพันธุ์ชั้นของกลุ่มแบคทีเรียที่เตรียมไว้มาผสมกับโซเดียมอัลจินท โดยใช้อัตราส่วนสุทธิเท่ากับ 5%

โซเดียมอัลจิเนต และ 7.5% กลุ่มแบคทีเรีย (w/v น้ำหนักเซลล์เปียก) นำซัสเฟ้นท์ชันที่มีส่วนผสมของ โซเดียมอัลจิเนต และกลุ่มแบคทีเรียหยดลงในสารละลาย 2% แคลเซียมคลอไรด์ (ปลอดเชื้อ) แช่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อการแข็งตัว เมื่อครบกำหนดนำเม็บบิทกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป (immobilized bacterial consortium) ที่ได้ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 ครั้ง เตรียมเม็บบิทควบคุม เช่นเดียวกับเม็บบิทกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป โดย gel bead (control-I) ใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อแทนซัสเฟ้นท์ชันของกลุ่มแบคทีเรีย และ immobilized dead cells (control-II) เตรียมเช่นเดียวกับเม็บบิท กลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป แต่เซลล์ที่ใช้ในการตรึงได้ผ่านการทำให้ไม่มีชีวิตโดยนำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

3.4 การหาความยาวคลื่นสูงสุดของสีเขียวอะโซ

นำสี Congo red Golden yellow RNL Blue BCC และสีผสม มาวัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Nova spec II Model 80-2088-64 ที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 400-700 นาโนเมตร โดยทำการวัดค่าเพิ่มขึ้นทุก 10 นาโนเมตร แล้วนำมาพล็อตกราฟ

3.5 การบำบัดสี Congo red ด้วยระบบแบคที

นำกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป ปริมาณ 20 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY medium 100 มิลลิลิตร (บรรจุในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร) ซึ่งเติม 1% Congo red ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่าง ที่เวลา 0 24 48 72 96 120 และ 144 ชั่วโมง นำมาวัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 499 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Nova spec II Model 80-2088-64 เพื่อดูประสิทธิภาพในการบำบัดสีข้อม ทำการทดลองควบคุมโดยใช้ alginate gel bead (Control-I), Immobilized dead cells PD-I (Control-II) และ Immobilized dead cells PD-II (Control-III) ทดแทนกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำการทดลอง

3.6 การบำบัดสี Golden yellow RNL ด้วยระบบแบคที

นำกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป ปริมาณ 20 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY medium 100 มิลลิลิตร (บรรจุในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร) ซึ่งเติม 1% Golden yellow RNL ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 0 24 48 72 96 120 และ 144 ชั่วโมง นำมาวัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่

ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Nova spec II Model 80-2088-64 เพื่อดูประสิทธิภาพในการบำบัดสีย้อม ทำการทดลองควบคุมโดยใช้ alginate gel bead (Control-I), Immobilized dead cells PD-I (Control-II) และ Immobilized dead cells PD-II (Control-III) ทดแทนกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำการทดลอง

3.7 การบำบัดสี Blue BCC ด้วยระบบแบคทีเรีย

นำกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูปปริมาณ 20 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY medium 100 มิลลิลิตร (บรรจุในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร) ซึ่งเติม 1% Blue BCC ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 0 24 48 72 96 120 และ 144 ชั่วโมง นำมาวัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 611 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Nova spec II Model 80-2088-64 เพื่อดูประสิทธิภาพในการบำบัดสีย้อม ทำการทดลองควบคุมโดยใช้ alginate gel bead (Control-I), Immobilized dead cells PD-I (Control-II) และ Immobilized dead cells PD-II (Control-III) ทดแทนกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำการทดลอง

3.8 การบำบัดสีผสมด้วยระบบแบคทีเรีย

นำกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป ปริมาณ 20 กรัม ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY medium 100 มิลลิลิตร (บรรจุใน พลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร) ซึ่งเติม 1% Goden yellow RNL, 1% Blue BCC และ 1% Congo red สีละ 200 ไมโครลิตร ระดับความเข้มข้นรวมเท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 0 24 48 72 96 120 และ 144 ชั่วโมง นำมาวัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 624 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Nova spec II Model 80-2088-64 เพื่อดูประสิทธิภาพในการบำบัดสีย้อม ทำการทดลองควบคุมโดยใช้ alginate gel bead (Control-I) Immobilized dead cells PD-I (Control-II) และ Immobilized dead cells PD-II (Control-III) ทดแทนกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูป โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำการทดลอง

$$\text{ประสิทธิภาพในการบำบัดสีย้อม (เปอร์เซ็นต์)} = \left[\frac{\text{ความเข้มข้นสีเริ่มต้น} - \text{ความเข้มข้นสีคงเหลือ}}{\text{ความเข้มข้นเริ่มต้น}} \right] \times 100$$

3.9 การศึกษาลักษณะกลุ่มแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยการย้อม Gram stain

นำ Bacterial consortium PD-I และ Bacterial consortium PD-II ป้ายลงบนแผ่นสไลด์เกลี่ย เชื้อให้กระจาย ทิ้งให้แห้งนำไปผ่านไฟ 2-3 ครั้ง หยดสีคริสตอลไวโอเลต ทิ้งไว้ 1 นาที เททิ้ง แล้วหยด สารละลายไอโอดีน ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างสีออกด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ทิ้งไว้ 15 วินาที แล้วล้างออก ด้วยน้ำกลั่น หยดสีซาฟรานิน ทิ้งไว้ 15-30 วินาที ล้างด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้งแล้วนำไปตรวจด้วย กล้องจุลทรรศน์

3.10 การศึกษาโครงสร้างกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูปด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

นำเม็บบีทเซลล์ตรึงรูป PD-I, PD-II, killed cell PD-I, killed cell PD-II และ gel bead มาตัด แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ แช่ใน 2.5% glutaraldehyde เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที จากนั้นทำการขจัดน้ำออกจากเม็บบีทโดยแช่ ในเอทานอลความเข้มข้น 30% 50% 70% 80% และ 100% ตามลำดับ ความเข้มข้นละ 15 นาที ทำให้ ตัวอย่างแห้งด้วยวิธี Critical-point dry (CPD) แล้วติดตัวอย่างบน STUB นำไปเคลือบด้วยทองคำ แล้วนำไปศึกษาลักษณะพื้นผิวของเม็บบีทด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (JEOL JSM-6010LV)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดสีย้อมอะโซ 3 ชนิด ได้แก่ Congo red, Golden yellow RNL และ Blue BCC ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสีผสม ได้แก่ 1% Congo red, 1% Blue BCC และ 1% Golden yellow RNL ที่ระดับความเข้มข้นรวมเท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วย immobilized bacterial consortium PD-I, immobilized bacterial consortium PD-II, immobilized dead cells PD-I, immobilized dead cells PD-II และ alginate gel beads ด้วยระบบเบดซ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ซึ่งกลุ่มแบคทีเรียที่เจริญรูปพัฒนาจากตัวอย่างน้ำเสียจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานคำปุน อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี และระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาลอุทุมพรพิสัย อำเภออุทุมพรพิสัย จังหวัดศรีสะเกษ ได้ผลการทดลองดังนี้

4.1 การพัฒนาและการตรึงกลุ่มแบคทีเรียบำบัดสี

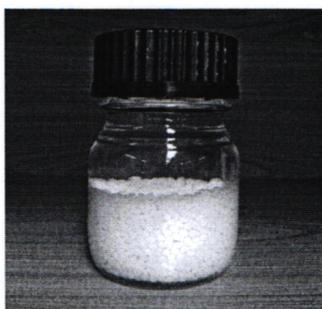
กลุ่มแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ bacterial consortium PD-I และ bacterial consortium PD-II ที่ได้จากการพัฒนากลุ่มแบคทีเรียจากตัวอย่างน้ำเสีย 2 แหล่ง คือ บ่อแฟลคคัลเททีฟจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานฟอกย้อม (ระบบปรับเสถียร) อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 1 ตัวอย่าง และที่บ่อเติมอากาศจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาลอุทุมพรพิสัย (ระบบตะกอนเร่ง) อำเภออุทุมพรพิสัย จังหวัดศรีสะเกษ จำนวน 1 ตัวอย่าง จากนั้นนำมาตรึงด้วยโซเดียมอัลจิเนต ในอัตราส่วนสุทธิเท่ากับ 5% โซเดียมอัลจิเนต และ 7.5% กลุ่มแบคทีเรียแล้วหยดลงในสารละลาย 2% แคลเซียมคลอไรด์ พบว่าหลังหยดลงในสารละลายเกิดสภาพเป็นเม็บบีท มีลักษณะกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ไม่มีการเกาะติดของเม็บบีท ดังสรุปในตารางที่ 1 และเมื่อทำการบำบัดด้วยสีย้อมอะโซพบว่าลักษณะของเม็บบีทยังคงมีสภาพเดิม แต่สีของเม็บบีทเปลี่ยนไปตามสีที่บำบัด ดังสรุปใน ตารางที่ 2



ภาพที่ 2 ลักษณะอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY+1% Blue BCC, BHB-GY+1% Golden yellow RNL และ BHB-GY+1% Congo red

ตารางที่ 1 ลักษณะของเม็ดบีทก่อนการบำบัดด้วยสีข้อมะไซ

ลักษณะเม็ดบีท	PD-I	PD-II	dead cell PD-I	dead cell PD-II	gel bead
รูปร่าง	กลม	กลม	กลม	กลม	กลม
ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง	2 มิลลิเมตร				
สี	ขาวขุ่น	ขาวขุ่น	ขาวขุ่น	ขาวขุ่น	ขาว
ความแข็งแรง	เหนียว ยืดหยุ่น บีบ แบนตาม แรงกด				



ภาพที่ 3 ลักษณะเม็ดบีทก่อนการบำบัดด้วยสีอะไซ (alginate gel bead)

ตารางที่ 2 ลักษณะของเม็ดบีดหลังการบำบัดด้วยสีย้อมอะโซ

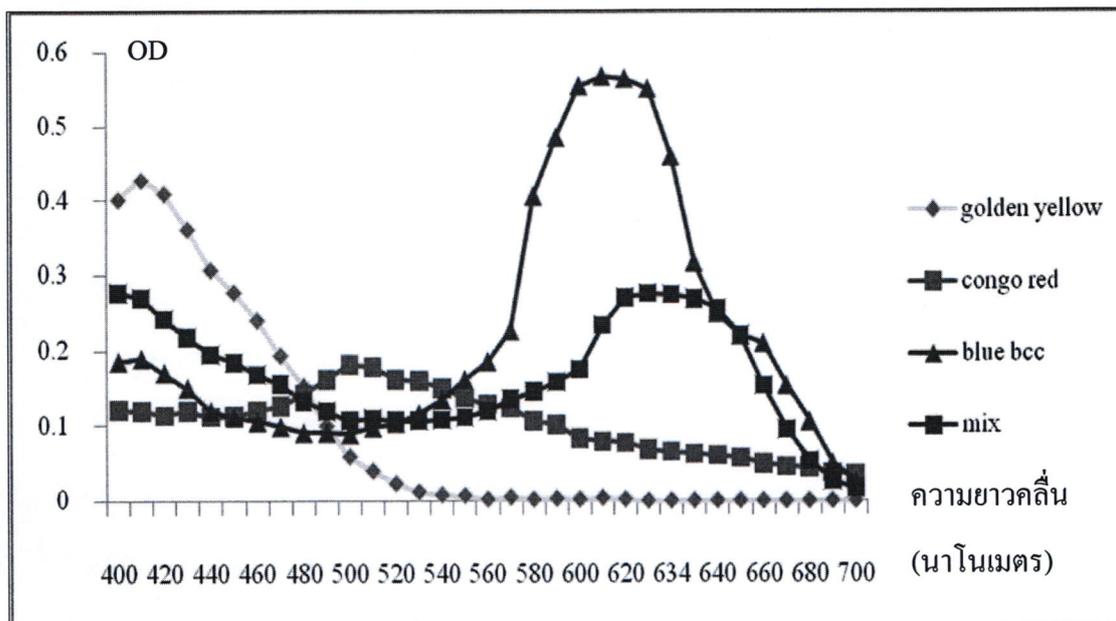
ลักษณะเม็ดบีด	PD-I	PD-II	dead cell PD-I	dead cell PD-II	gel bead
รูปร่าง	กลม	กลม	กลม	กลม	กลม
ขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง	2 มิลลิเมตร				
สี	เปลี่ยนตาม สีที่บำบัด	เปลี่ยนตาม สีที่บำบัด	เปลี่ยนตาม สีที่บำบัด	เปลี่ยนตาม สีที่บำบัด	เปลี่ยนตาม สีที่บำบัด
ความแข็งแรง	เหนียว ยืดหยุ่น บีบ แบนตาม แรงกด				



ภาพที่ 4 ลักษณะเม็ดบีดหลังการบำบัดด้วยสีย้อมอะโซ

4.2 การหาความยาวคลื่นสูงสุดของสีย้อมอะโซ

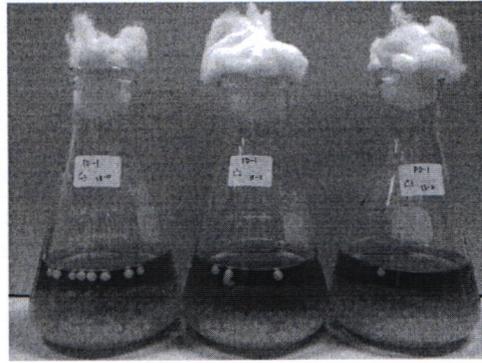
จากการนำสี Congo red, Golden yellow RNL, Blue BCC และสีผสม มาวัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Nova spec II Model 80-2088-64 ที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 400-700 นาโนเมตร โดยทำการวัดค่าเพิ่มขึ้นทุก 10 นาโนเมตร แล้วนำมาพล็อตกราฟ ได้ค่าความยาวคลื่นสูงสุดของสี Congo red Golden yellow RNL Blue BCC และสีผสม เท่ากับ 499 410 611 และ 624 นาโนเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 5



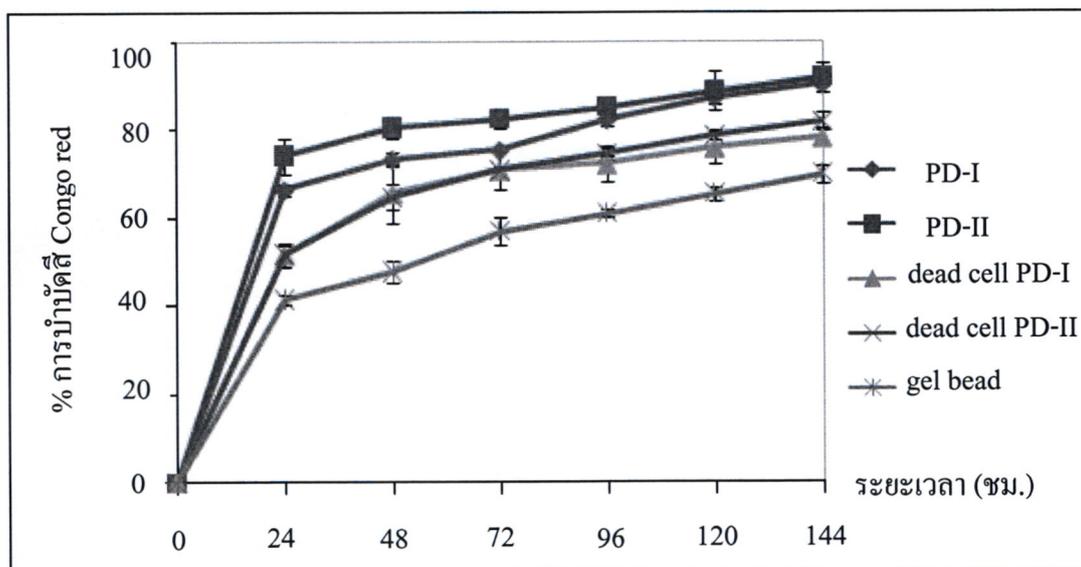
ภาพที่ 5 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสีย้อมอะโซ ได้แก่ Golden yellow RNL, Congo red, Blue BCC และสีผสม ที่ความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร

4.3 การบำบัดสี Congo red ด้วยระบบแบคทีเรีย

การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดสี Congo red ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่า immobilized bacterial consortium PD-II สามารถบำบัดได้ดีที่สุด ตลอดระยะเวลาในการบำบัด โดยเมื่อระยะเวลาการบำบัดเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการบำบัดสูงขึ้นด้วย โดยมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงสุดที่ระยะเวลา 144 ชั่วโมง ประสิทธิภาพในการบำบัดร้อยละ 92.0 ส่วน immobilized bacterial consortium PD-I มีประสิทธิภาพในการบำบัดร้อยละ 90.5 immobilized dead cells PD-I และ immobilized dead cells PD-II มีประสิทธิภาพในการบำบัดได้ร้อยละ 78.3 และร้อยละ 82.0 ตามลำดับ และ alginate gel beads สามารถบำบัดได้ปานกลางร้อยละ 70.0 ดังแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 6 การเพาะเลี้ยง Immobilized bacterial consortium PD-I ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY ที่มีสี Congo red ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 7 ร้อยละการบำบัดสี Congo red ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

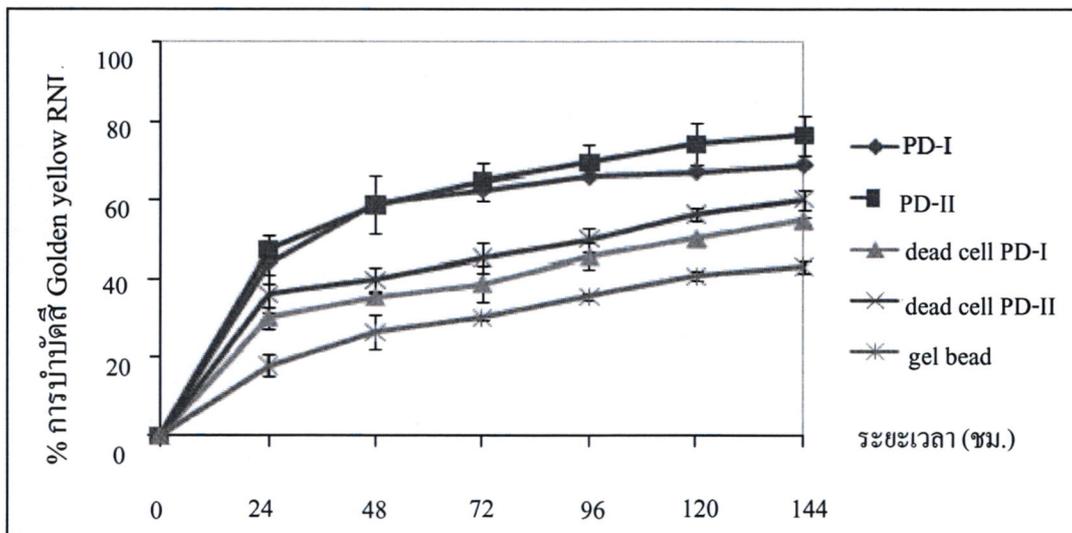
4.4 การบำบัดสี Golden yellow RNL ด้วยระบบแบคทีเรีย

การศึกษาศักยภาพการบำบัดสี Golden yellow RNL ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่า immobilized bacterial consortium PD-II สามารถบำบัดได้ดีที่สุด ตลอดระยะเวลาในการบำบัด โดยเมื่อระยะเวลาการบำบัดเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพในการบำบัดก็สูงขึ้นด้วย และสามารถบำบัดได้ดีที่สุดที่ระยะเวลา 144 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการบำบัดร้อยละ 76.4 ส่วน immobilized bacterial consortium PD-I มีประสิทธิภาพในการบำบัดร้อยละ 69.0 immobilized dead cells PD-I และ immobilized dead cells

PD-II มีประสิทธิภาพในการบำบัดร้อยละ 54.8 และร้อยละ 60.1 ตามลำดับ และ alginate gel beads สามารถบำบัดได้เล็กน้อย ร้อยละ 43.0 ดังแสดงในภาพที่ 9



ภาพที่ 8 การเพาะเลี้ยง Immobilized bacterial consortium PD-I ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY ที่มีสี Golden yellow RNL ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

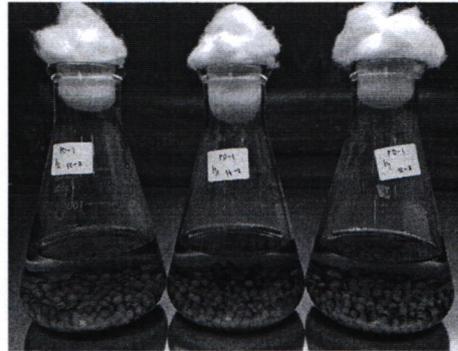


ภาพที่ 9 ร้อยละการบำบัดสี Golden yellow RNL ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

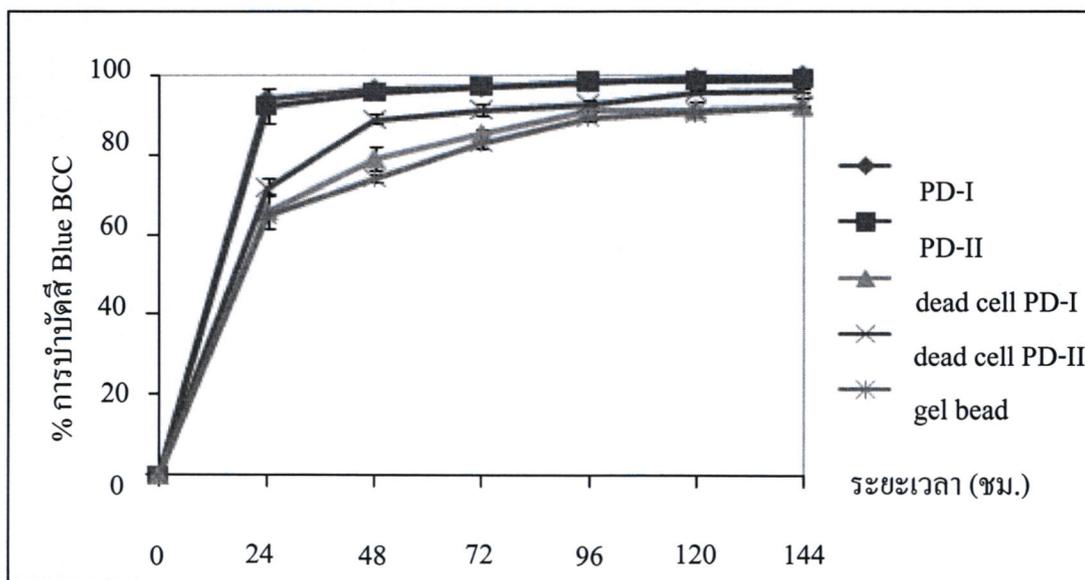
4.5 การบำบัดสี Blue BCC ด้วยระบบแบคทีเรีย

การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดสี Blue BCC ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่า สามารถบำบัดได้ดีตั้งแต่ระยะเวลาการบำบัดที่ 24 ชั่วโมง แล้วค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนเกือบคงที่ ในทุกๆ การทดลอง และสามารถบำบัดได้ดีที่สุดที่ระยะเวลา 144 ชั่วโมง โดย immobilized bacterial consortium PD-I และ immobilized bacterial consortium PD-II มีประสิทธิภาพในการบำบัดสีได้ร้อยละ 100 และร้อยละ

99.2 ตามลำดับ ส่วน immobilized dead cells PD-I และ immobilized dead cells PD-II มีประสิทธิภาพในการบำบัดได้ร้อยละ 92.3 และร้อยละ 96.3 ตามลำดับ และ alginate gel beads มีประสิทธิภาพในการบำบัดร้อยละ 92.3 ดังแสดงในภาพที่ 11



ภาพที่ 10 การเพาะเลี้ยง Immobilized bacterial consortium PD-I ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY ที่มีสี Blue BCC ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

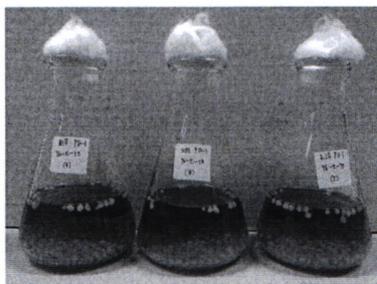


ภาพที่ 11 ร้อยละการบำบัดสี Blue BCC ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

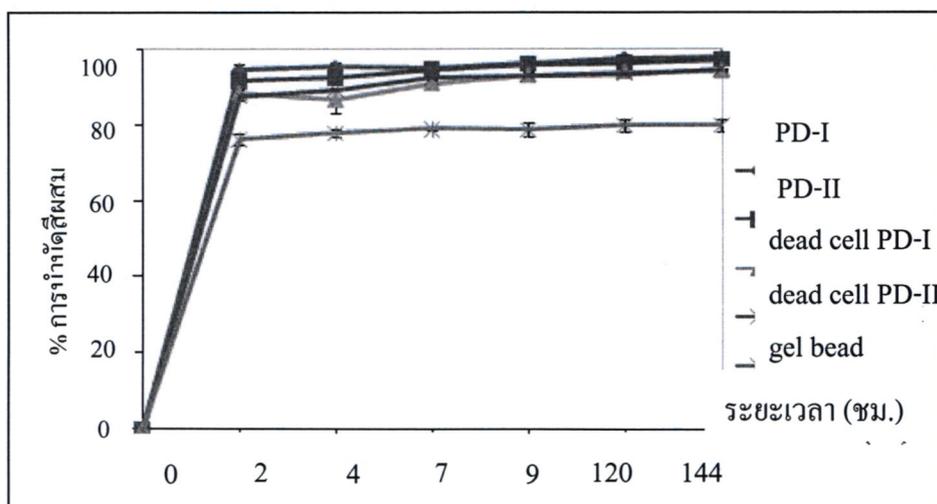
4.6 การบำบัดสีผสม ด้วยระบบแบคทีเรีย

การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดสีผสม ได้แก่ 1% Congo red, 1% Blue BCC และ 1% Golden yellow RNL ที่ระดับความเข้มข้นรวมเท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้องเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่า immobilized bacterial consortium PD-I สามารถบำบัด

ได้ดีที่สุด สามารถบำบัดได้ตั้งแต่ 24 ชั่วโมง และค่อยๆ เพิ่มขึ้นในแต่ละระยะเวลา จนเกือบคงที่ โดยมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงสุดที่ระยะเวลา 144 ชั่วโมง ประสิทธิภาพในการบำบัดร้อยละ 97.6 ส่วน immobilized bacterial consortium PD-II มีประสิทธิภาพในการบำบัดร้อยละ 96.9 immobilized dead cells PD-I และ immobilized dead cells PD-II มีประสิทธิภาพในการบำบัดได้ร้อยละ 94.1 และร้อยละ 94.4 ตามลำดับ และ alginate gel beads สามารถบำบัดได้ร้อยละ 79.6 ดังแสดงในภาพที่ 13



ภาพที่ 12 การเพาะเลี้ยง Immobilized bacterial consortium PD-I ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHB-GY ที่มีสีผสม



ภาพที่ 13 ร้อยละการบำบัดสีผสม

4.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

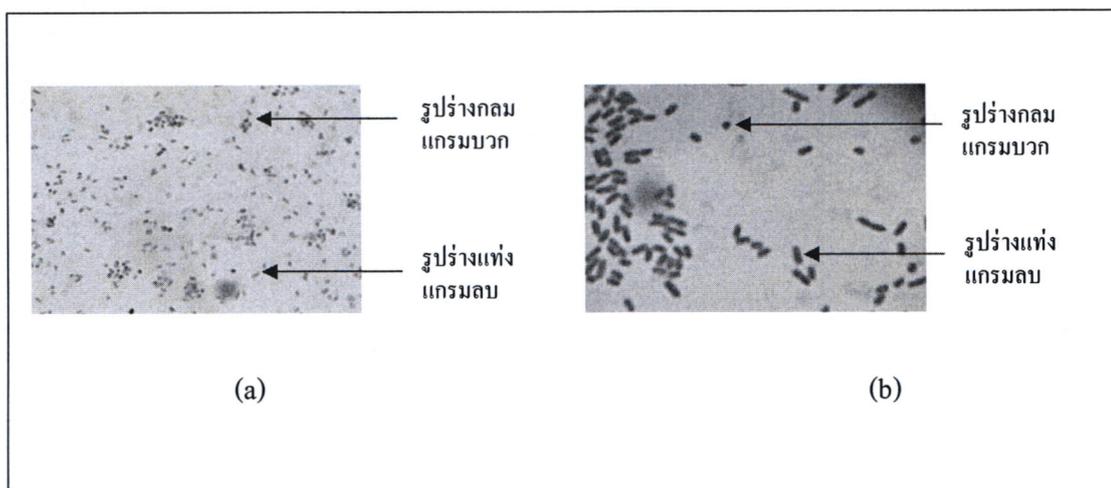
การทดลองนี้ได้ทำการทดลอง 2 ซ้ำการทดลอง และ 3 ซ้ำ ในบางการทดลอง ผลการทดลองแสดงถึงค่าเฉลี่ยของ 3 การทดลองที่แยกแต่ละชุด ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความเชื่อมั่นที่ระดับร้อยละ 95 ซึ่งได้จากการคำนวณโดยใช้ Microsoft Excell™

4.8 การศึกษาลักษณะกลุ่มแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยการย้อม Gram stain

การศึกษาลักษณะกลุ่มแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยการย้อม Gram stain พบว่า กลุ่มแบคทีเรียจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานฟอกย้อม (Bacterial consortium PD-I) และระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล (Bacterial consortium PD-II) มีทั้งแบบกลมและแบบแท่ง ย้อม แกรมติดทั้ง แกรมบวกและแกรมลบ และพบแบคทีเรียอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ดังสรุปในตารางที่ 3 และภาพที่ 14

ตารางที่ 3 ลักษณะกลุ่มแบคทีเรียจากกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยการย้อม Gram stain

ลักษณะ	bacterial consortium PD-I	bacterial consortium PD-II
รูปร่าง	กลมและแท่ง	กลมและแท่ง
การติดสีย้อมแกรม	แกรมบวกและแกรมลบ	แกรมบวกและแกรมลบ
จำนวนแบคทีเรีย	อย่างน้อย 2 ชนิด	อย่างน้อย 2 ชนิด



ภาพที่ 14 ลักษณะกลุ่มแบคทีเรีย (a) กลุ่มแบคทีเรีย PD-I (b) กลุ่มแบคทีเรีย PD-II ด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยการย้อม Gram stain

4.9 การศึกษาลักษณะโครงสร้างกลุ่มแบคทีเรียตรึงรูปด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

การศึกษาลักษณะพื้นผิวภายนอกและโครงสร้างภายในของ alginate gel bead ก่อนและหลังการบำบัดสีย้อม พบว่า พื้นผิวภายนอกของเม็ดบีดทั้งก่อนและหลังการบำบัดมีลักษณะผิวเป็น

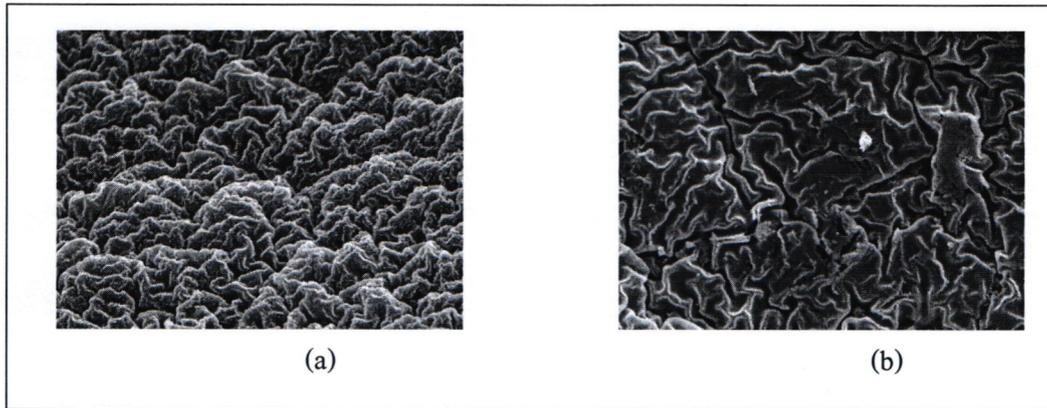
คลื่นขยาย ดังแสดงในภาพที่ 15 ส่วนลักษณะโครงสร้างภายในของเม็คบีททั้งก่อนและหลังการบำบัด
สีข้อม พบว่ามีลักษณะเป็นช่องโปร่งที่สามารถให้สีข้อมผ่านเข้าออกได้ดังแสดงในภาพที่ 16

ลักษณะพื้นผิวภายนอกและภายในของเม็คบีท immobilized bacterial consortium PD-I พบว่า ก่อนและหลังการบำบัดสีข้อม พื้นผิวภายนอกของเม็คดังกล่าว มีลักษณะผิวเป็นคลื่นขยาย ดัง
แสดงในภาพที่ 17 ส่วนลักษณะโครงสร้างภายในของเม็คบีททั้งก่อนและหลังการบำบัดสีข้อม พบว่ามี
ลักษณะเป็นช่องโปร่งที่สามารถให้สีข้อมผ่านเข้าออกได้เพื่อการทำปฏิกิริยา และพบแบคทีเรียรูปร่าง
กลมและรูปร่างแท่งถูกตรึงอยู่ภายในเม็คบีท ดังแสดงในภาพที่ 18

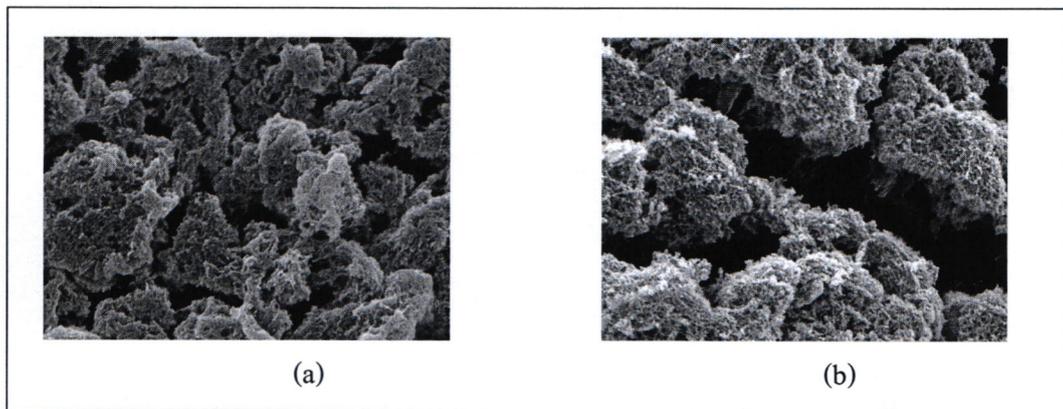
ลักษณะพื้นผิวภายนอกและภายในของเม็คบีท immobilized bacterial consortium PD-II พบว่า ก่อนและหลังการบำบัดสีข้อม พื้นผิวภายนอกของเม็คดังกล่าว มีลักษณะผิวเป็นคลื่นขยาย ดัง
แสดงในภาพที่ 19 ส่วนลักษณะโครงสร้างภายในของเม็คบีททั้งก่อนและหลังการบำบัดสีข้อม พบว่ามี
ลักษณะเป็นช่องโปร่งที่สามารถให้สีข้อมผ่านเข้าออกได้เพื่อการทำปฏิกิริยา และพบแบคทีเรียรูปร่าง
กลมและรูปร่างแท่งถูกตรึงอยู่ภายในเม็คบีท ดังแสดงในภาพที่ 20

ลักษณะพื้นผิวภายนอกและภายในของเม็คบีท immobilized dead cell PD-I พบว่า ก่อน
และหลังการบำบัดสีข้อม พื้นผิวภายนอกของเม็คดังกล่าว มีลักษณะผิวเป็นคลื่นขยาย ดังแสดงในภาพ
ที่ 21 ส่วนลักษณะโครงสร้างภายในของเม็คบีททั้งก่อนและหลังการบำบัดสีข้อม พบว่ามีลักษณะเป็น
ช่องโปร่งที่สามารถให้สีข้อมผ่านเข้าออกได้เพื่อการทำปฏิกิริยา และพบแบคทีเรียรูปร่างกลมและ
รูปร่างแท่งถูกตรึงอยู่ภายในเม็คบีท ดังแสดงในภาพที่ 22

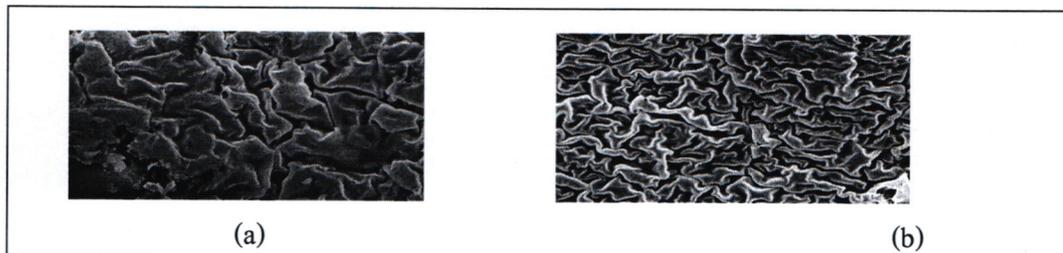
ลักษณะพื้นผิวภายนอกและภายในของเม็คบีท immobilized dead cell PD-II พบว่า ก่อน
และหลังการบำบัดสีข้อม พื้นผิวภายนอกของเม็คดังกล่าว มีลักษณะผิวเป็นคลื่นขยาย ดังแสดงในภาพ
ที่ 23 ส่วนลักษณะโครงสร้างภายในของเม็คบีททั้งก่อนและหลังการบำบัดสีข้อม พบว่ามีลักษณะเป็น
ช่องโปร่งที่สามารถให้สีข้อมผ่านเข้าออกได้เพื่อการทำปฏิกิริยา และพบแบคทีเรียรูปร่างกลมและ
รูปร่างแท่งถูกตรึงอยู่ภายในเม็คบีท ดังแสดงในภาพที่ 24



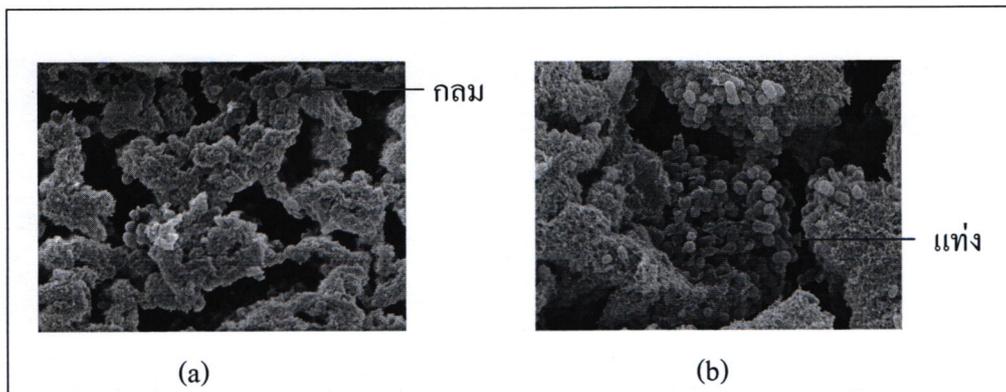
ภาพที่ 15 ลักษณะโครงสร้างผิวภายนอก alginate gel bead (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า



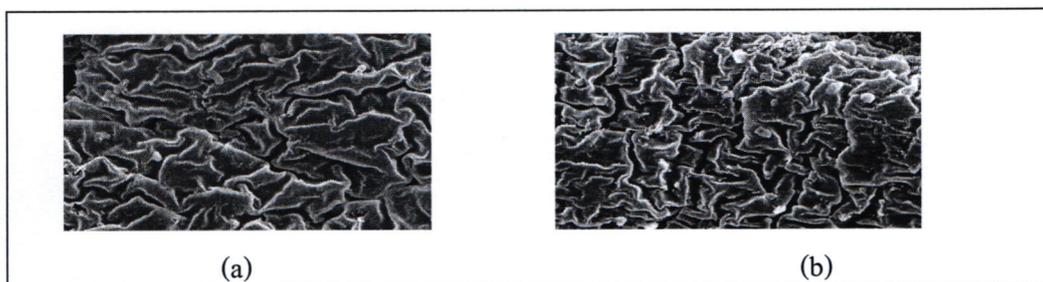
ภาพที่ 16 ลักษณะโครงสร้างภายใน alginate gel bead (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า



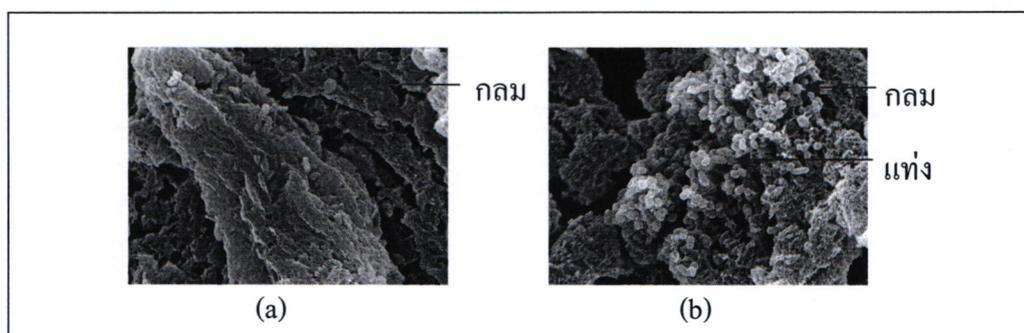
ภาพที่ 17 ลักษณะโครงสร้างผิวภายนอก immobilized bacterial consortium PD-I (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า



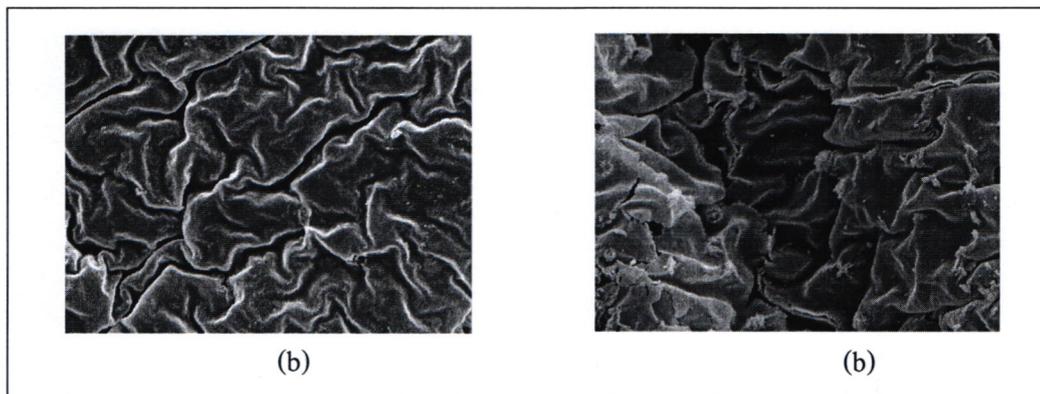
ภาพที่ 18 ลักษณะโครงสร้างภายใน immobilized bacterial consortium PD-I (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า



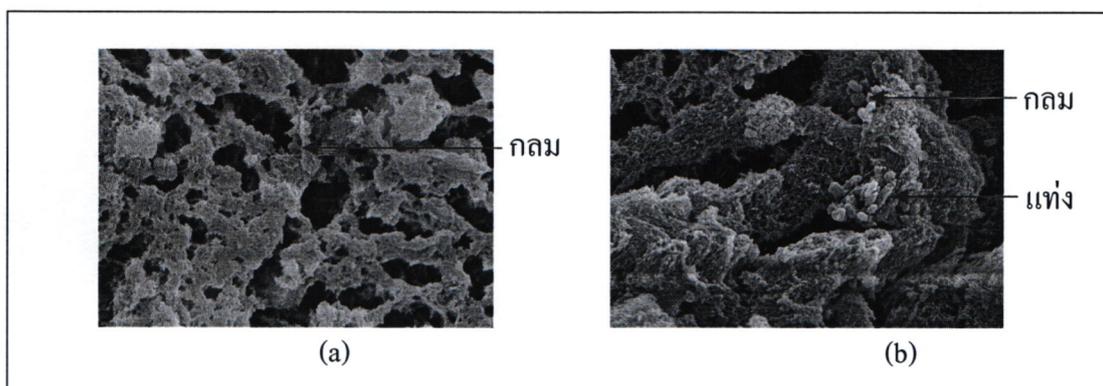
ภาพที่ 19 ลักษณะโครงสร้างผิวภายนอก immobilized bacterial consortium PD-II (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า



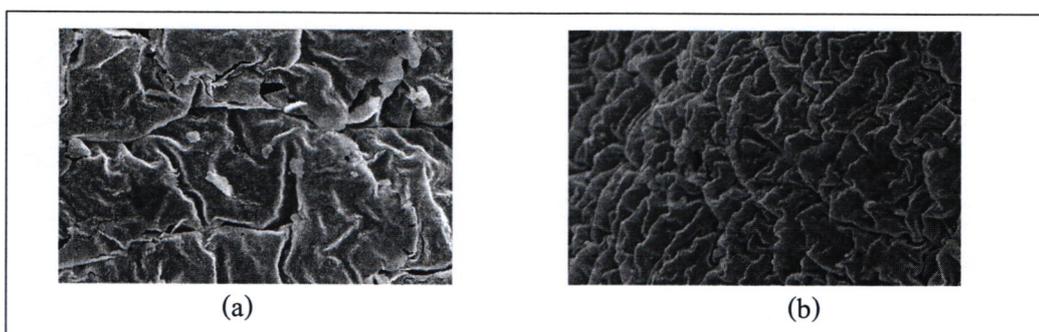
ภาพที่ 20 ลักษณะโครงสร้างภายใน immobilized bacterial consortium PD-II (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า



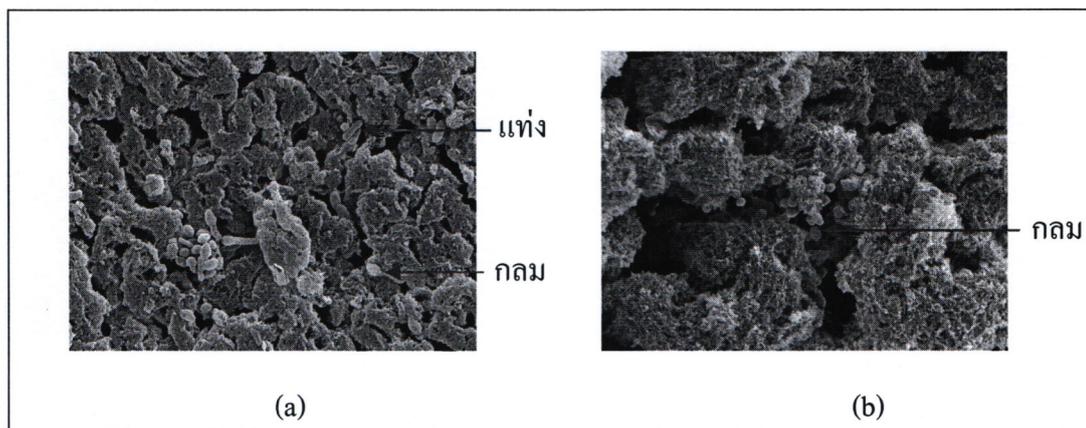
ภาพที่ 21 ลักษณะ โครงสร้างผิวภายนอก immobilized dead cell PD-I (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า



ภาพที่ 22 ลักษณะ โครงสร้างภายใน immobilized dead cell PD-I (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า



ภาพที่ 23 ลักษณะ โครงสร้างผิวภายนอก immobilized dead cell PD-II (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า



ภาพที่ 24 ลักษณะโครงสร้างภายใน immobilized dead cell PD-II (a) ก่อนการบำบัด (b) หลังการบำบัด เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด กำลังขยาย 7,500 เท่า

บทที่ 5

สรุป และอภิปรายผลการทดลอง

จากผลการบำบัดสีอะโซ 3 ชนิด ได้แก่ Congo red Golden yellow RNL และ Blue BCC ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสีผสม ได้แก่ 1% Congo red, 1% Blue BCC และ 1% Golden yellow RNL ที่ระดับความเข้มข้นรวมเท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วย immobilized bacterial consortium, immobilized dead cells และ alginate gel bead พบว่าการบำบัดสีอะโซเกิดขึ้น ทั้ง 3 ชนิดรวมทั้งสีผสม โดย immobilized bacterial consortium PD-I และ PD-II สามารถบำบัดได้ดีกว่า immobilized dead cells และ alginate gel bead ตามลำดับ ซึ่งสรุปได้ดังนี้

5.1 การพัฒนาและการตรึงกลุ่มแบคทีเรียบำบัดสี

กลุ่มแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด คือ bacterial consortium PD-I และ bacterial consortium PD-II ที่ได้จากการพัฒนาจากระบบบำบัดน้ำเสียทั้ง 2 แหล่ง เมื่อนำมาตรึงด้วยโซเดียมอัลจิเนท เกิดสภาพเป็น เม็ดบีด มีลักษณะกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตรไม่มีการเกาะติดของเม็ดบีด เมื่อทำการบำบัดสี แล้วเม็ดบีดยังคงสภาพเดิม ไม่มีการบวมน้ำและแตก ซึ่ง Wang and et al. (2000) ได้รายงานว่ เซลล์ ตรึงรูปสามารถทำกิจกรรมได้อย่างต่อเนื่อง โดยไม่ต้องมีอัตราการเจือจางสูง ปฏิกริยามีความคงที่ และมีความคงทนต่อสารประกอบที่เป็นพิษ

5.2 การบำบัดสี Congo red ด้วยระบบแบคที

จากผลการบำบัดพบว่า เม็ดบีดทั้ง 5 ชนิด สามารถบำบัดสี Congo red ได้ โดย immobilized bacterial consortium PD-II บำบัดได้ดีที่สุด อยู่ในช่วงร้อยละ 74.3–92.0 รองลงมาคือ immobilized bacterial consortium PD-I สามารถบำบัดสี Congo red อยู่ในช่วงร้อยละ 66.5 – 90.5 immobilized dead cell PD-II บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 52.0–82.0 immobilized dead cell PD-I บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 51.7–78.3 และ gel bead บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 41.6–70.0 ตามลำดับ จะเห็นว่า กลุ่มแบคทีเรียตรึงรูปที่มีชีวิตสามารถบำบัดสีได้สูงกว่ากลุ่มแบคทีเรียตรึงรูปที่ไม่มีชีวิต และที่ไม่มีเซลล์ ตามลำดับ การที่กลุ่มแบคทีเรียตรึงรูปไม่มีชีวิตและเม็ดบีดควบคุม (ไม่มีเซลล์) สามารถบำบัดสีได้นั้น น่าจะเกิดจากกระบวนการดูดซับสีไว้ที่ผนังเซลล์ และบนวัตถุที่ใช้ตรึงรูป (Kuo-Cheng Chen and

et al., 2003) ซึ่งเห็นได้จากสีของเมล็ดบีทที่เปลี่ยนไปตามสีย้อมที่ทำการบำบัด และสอดคล้องกับงานวิจัยของชนินฐา ชัยรัตนาวรรณ (2552) ที่ทำการศึกษาคูคัพชีในน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมด้วยตะกอนจุลินทรีย์ พบว่าตะกอนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตมีความสามารถในการดูดซับสีได้มากกว่าตะกอนจุลินทรีย์ที่ไม่มีชีวิต ส่วนกลุ่มแบคทีเรียที่เรียตรงรูปที่มีชีวิตสามารถบำบัดสีได้ดีกว่าเนื่องจากมีปฏิกิริยาของเซลล์ร่วมด้วย โดยสามารถผลิตเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์และเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ เพื่อเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสีย้อม (อรชिरา เพ็ชรช้อย, 2552) แบคทีเรียสร้างเอนไซม์เอโซรีคักเทส เพื่อย่อยสลายพันธะเอโซให้แตกออก ทำให้โมเลกุลของสีอะโซเล็กลง ทำให้ความเข้มข้นของสีลดลงด้วย (Chen and et al., 2006) Bella and et al. (2009) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดสีอะโซโดยใช้กลุ่มแบคทีเรีย พบว่าสามารถบำบัดสี Congo red ได้เท่ากับร้อยละ 49.2 ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

5.3 การบำบัดสี Golden yellow RNL ด้วยระบบแบคทีเรีย

จากผลการบำบัดพบว่า immobilized bacterial consortium PD-II สามารถบำบัดสี Golden yellow RNL ได้ดีที่สุดอยู่ในช่วงร้อยละ 47.5–76.4 รองลงมาคือ immobilized bacterial consortium PD-I บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 44.0 – 69.0 immobilized dead cell PD-II บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 36.0 – 60.1 immobilized dead cell PD-I บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 30.0 – 54.8 และ gel bead บำบัดได้เล็กน้อยอยู่ในช่วงร้อยละ 15.8–43.0 ตามลำดับ กลไกการดูดซับในกิจกรรมการย่อยสลายสีย้อมอะโซเกิดจากแบคทีเรียดูดซับสีเข้าสู่เซลล์ ทำให้ความเข้มข้นของสีย้อมลดลงขั้นหนึ่ง แต่เป็นเพียงระยะเวลาสั้นๆ ไม่สามารถลดสีได้ในระยะยาว จนเมื่อถึงจุดที่แบคทีเรียดูดซับสีจนถึงจุดอิ่มตัวแล้ว เซลล์จะมีกระบวนการทางชีวภาพเพื่อย่อยสลายสีเกิดขึ้น (Silveira and et al., 2009) จะเห็นว่า การบำบัดสี Golden yellow RNL บำบัดได้เพียงเล็กน้อย อธิบายได้ว่าโมเลกุลของสีย้อม Golden yellow RNL มีขนาดใหญ่ มีผลให้โมเลกุลของสีย้อมเข้าไปในรูพรุนได้น้อย จึงทำให้ความสามารถในการดูดซับสีได้น้อย (ชนินฐา ชัยรัตนาวรรณ, 2552) และอาจเนื่องมาจากโครงสร้างและคุณสมบัติของสีที่ย่อยสลายได้ยาก (Wackerow-Kouzova, 2005) Bella and et al. (2009) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดสีอะโซโดยใช้กลุ่มแบคทีเรีย พบว่าสามารถบำบัดสี Golden yellow RNL ได้เพียงเล็กน้อย แต่สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ปานกลาง แสดงให้เห็นว่าสี Golden yellow RNL ไม่เป็นพิษต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ

5.4 การบำบัดสี Blue BCC ด้วยระบบแบคทีเรีย

จากผลการบำบัดพบว่า เม็ดบีททั้ง 5 ชนิด สามารถบำบัดได้ดีตั้งแต่ระยะเวลาการบำบัดที่ 24 ชั่วโมง และค่อยๆ สูงขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ในทุกๆ การทดลอง และสามารถบำบัดได้ดีที่สุดที่ระยะเวลา 144 ชั่วโมง โดย immobilized bacterial consortium PD-I สามารถบำบัดสี Blue BCC ได้ดีที่สุดอยู่ในช่วงร้อยละ 94.0–100.0 รองลงมาคือ immobilized bacterial consortium PD-II บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 92.5–99.2 immobilized dead cell PD-II บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 71.9–96.3 immobilized dead cell PD-I บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 66.0–92.3 และ gel bead บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 65.0 – 92.3 ตามลำดับ จะเห็นว่า กลุ่มแบคทีเรียที่มีชีวิตสามารถบำบัดสีได้ดีสูงกว่ากลุ่มแบคทีเรียที่ไม่มีชีวิต และที่ไม่มีเซลล์ ตามลำดับ โดยกลุ่มแบคทีเรียที่เรียกรูปร่างจากโรงงานฟอกย้อม (immobilized bacterial consortium PD-I) บำบัดได้ดีกว่ากลุ่มแบคทีเรียที่เรียกรูปร่างจากโรงพยาบาล (immobilized bacterial consortium PD-II) และบำบัดได้ถึงร้อยละ 100 ซึ่ง Bella and et al. (2009) ได้กล่าวว่า ชนิดของสีย้อม มีผลต่อประสิทธิภาพของการบำบัด สีที่ต่างชนิดกัน โครงสร้างของสีก็มีความแตกต่างกัน ความเป็นพิษมีผลต่อการเจริญและการสร้างเอนไซม์ของกลุ่มแบคทีเรียในการลดสี และจากการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดสีอะโซ โดยใช้กลุ่มแบคทีเรีย พบว่าสามารถบำบัดสี Blue BCC ได้ร้อยละ 29.8 ที่ระดับความเข้มข้นสีเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

5.5 การบำบัดสีผสม ด้วยระบบแบคทีเรีย

จากผลการบำบัดพบว่า เม็ดบีททั้ง 5 ชนิด สามารถบำบัดได้ดีตั้งแต่ 24 ชั่วโมง และค่อยๆ เพิ่มขึ้นในแต่ละระยะเวลา โดยมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงสุดที่ระยะเวลา 144 ชั่วโมง โดย immobilized bacterial consortium PD-I สามารถบำบัดสีผสมได้ดีที่สุดอยู่ในช่วงร้อยละ 94.19–97.55 immobilized bacterial consortium PD-II บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 91.42–96.93 immobilized dead cell PD-I บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 88.18–94.06 immobilized dead cell PD-II บำบัด อยู่ในช่วง ร้อยละ 87.44–94.39 และ gel bead บำบัดอยู่ในช่วงร้อยละ 75.84–79.59 จะเห็นว่าสีผสมสามารถบำบัดสูงถึงร้อยละ 97.55 อาจเนื่องมาจาก เมื่อทำการผสมสีทำให้สีมีโครงสร้างขนาดเล็กลง เกิดการย่อยสลายและโมเลกุลของสีเข้าไปในรูพรุนได้ง่าย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ขนิษฐา ชัยรัตนาวรรณ (2552) ที่กล่าวว่าสีที่มีโครงสร้าง โครงสร้างขนาดเล็กทำให้ความสามารถในการเกิดการดูดซับเข้าไปในตำแหน่ง active size ของกลุ่มจุลินทรีย์จึงเกิดได้ดีกว่าสีที่มีโครงสร้างใหญ่ Bella and et al. (2009) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัด สีอะโซ โดยใช้กลุ่มแบคทีเรีย พบว่าบำบัดสีผสม 4 ชนิด ได้แก้

Congo red, Bordeaux, Ranocid Fast Blue และ Blue BCC ได้ร้อยละ 3.7-5.6 และ ร้อยละ 1.9-3.5 ที่ระดับความเข้มข้นรวมเท่ากับ 50 และ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

5.6 การศึกษาลักษณะกลุ่มแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และการศึกษาลักษณะโครงสร้างกลุ่มแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

จากการย้อม Gram stain พบว่า กลุ่มแบคทีเรียจากระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานฟอกย้อม (Bacterial consortium PD-I) และระบบบำบัดน้ำเสียโรงพยาบาล (Bacterial consortium PD-II) มีแบคทีเรียรูปร่างแบบกลมและแบบแท่ง ย้อมสีแกรมติดทั้งแกรมบวกและแกรมลบ แสดงถึงจำนวนแบคทีเรียอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ที่มีความสามารถในการบำบัดสีย้อมอะโซทั้ง 3 ชนิด โดยแต่ละสายพันธุ์จะย่อยสลายโมเลกุลสีที่แตกต่างกัน อาจใช้สารที่ผลิตร่วมกันที่มีอยู่ในสายพันธุ์สำหรับการย่อยสลาย (Chang and et al., 2004; Forgacs and et al., 2004; Jadhav and et al., 2008; Saratale and et al., 2009) ทำให้การย่อยสลายมีประสิทธิภาพสูงขึ้น เนื่องจากมีการผสมผสานกิจกรรมการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายของสีอะโซ (Chen and Chang, 2007; Khehra and et al., 2005; Saratale and et al., 2010)

ลักษณะที่สังเกตได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงให้เห็นว่า การบำบัดสีย้อมอะโซเกิดจากกลุ่มแบคทีเรียอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ทั้งใน bacterial consortium PD-I และ bacterial consortium PD-II โดยมีลักษณะทั้งรูปร่างกลมและรูปร่างแท่ง กระจายอยู่ภายในเม็ดบีด การขยายและการพัฒนาของกลุ่มแบคทีเรียในเม็ดบีดอาจมีสาเหตุมาจากความเข้มข้นของสีย้อม (Kuo-Cheng Chen and et al., 2003) ส่งผลต่อปริมาณของแบคทีเรียในเม็ดบีด

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดสีย้อมอะโซทั้ง 3 ชนิด ของกลุ่มเซลล์ตรึงรูป สี Congo red, Golden yellow RNL และ Blue BCC ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสีผสมได้แก่ 1% Congo red, 1% Blue BCC และ 1% Golden yellow RNL ที่ระดับความเข้มข้นรวมเท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่า การบำบัดเกิดขึ้นทั้งกลุ่มเซลล์ตรึงรูปที่มีชีวิต กลุ่มเซลล์ตรึงรูปที่ไม่มีชีวิต และไม่มีเซลล์ โดยกลุ่มเซลล์ตรึงรูปมีประสิทธิภาพในการบำบัดสีอะโซได้สูงกว่า กลุ่มเซลล์ตรึงรูปที่ไม่มีชีวิตและไม่มีเซลล์ ตามลำดับ แสดงว่า การบำบัดสีอะโซเกิดจากกิจกรรมการย่อยสลายของแบคทีเรียอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ร่วมกับการดูดซับสีบนวัตถุ จึงทำให้กลุ่มเซลล์ตรึงรูปมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงกว่ากลุ่มเซลล์ตรึงรูปที่ไม่มีชีวิตและที่ไม่มีเซลล์ อย่างไรก็ตาม กลุ่มเซลล์ตรึงรูปที่ไม่มีชีวิตและที่ไม่มีเซลล์ ก็ยังสามารถบำบัดสีได้เช่นกันแต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่ากลุ่มเซลล์ตรึงรูป เนื่องจากเกิดขึ้นเพียงการดูดซับสีบนวัตถุ และจะเห็นว่าสี Blue BCC สามารถบำบัดได้ดีที่สุด รองลงมาคือสีผสม, Congo red และ Golden yellow RNL ตามลำดับ อาจ

เนื่องจากผลต่อการเจริญของแบคทีเรียและโครงสร้างของสีย้อมที่เป็นวงอะโรมาติกที่มีความซับซ้อนแตกต่างกันของแต่ละสี ทำให้ย่อยสลายได้ยากและมีความเป็นพิษต่างกัน (Dafale and et al., 2008) แสดงให้เห็นว่า การบำบัดสีย้อมอะโซที่เกิดขึ้น เกิดจาก 2 ลักษณะ คือ กิจกรรมทางชีวภาพของแบคทีเรีย และการดูดซับสีย้อมด้วยวัสดุ สอดคล้องกับการทดลองของ Raquel O. Cristovao and et al. (2011) ที่ทำการศึกษาใช้เอนไซม์ตรีงรูปในการย่อยสีย้อมรีแอกทีฟแบบต่อเนื่อง และแบบผสมในถึงปฏิกิริยาแบบแบดจ์ พบว่าเกิดจากสองกระบวนการ คือ การดูดซับสีย้อมด้วยวัสดุและปฏิกิริยาของเอนไซม์

5.7 ข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดสีย้อมอะโซโดยกลุ่มแบคทีเรียตรีงรูป 2 ชนิด ภายในห้องปฏิบัติการ หากจะนำไปประยุกต์ใช้ในน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมฟอกย้อม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมดังนี้

5.7.1 ศึกษาการบำบัดโดยใช้น้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดสีที่แท้จริงของกลุ่มแบคทีเรียตรีงรูปทั้ง 2 ชนิด

5.7.2 ศึกษาการบำบัดสีย้อมอะโซในสถานะที่มีการเพิ่มระดับความเข้มข้นของสีย้อม เพื่อทดสอบความสามารถของเชื้อในการคงทนต่อระดับความเข้มข้นของสี

5.7.3 ศึกษาอิทธิพลของสารปนเปื้อนอื่นในน้ำทิ้งสีย้อมว่ามีผลต่อความสามารถในการบำบัดสีย้อมของกลุ่มแบคทีเรียตรีงรูปทั้ง 2 ชนิด หรือไม่ เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมฟอกย้อมต่อไป

5.7.4 นำกากตะกอนที่เกิดขึ้นไปบำบัดให้ถูกสุขลักษณะ

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

- กาวิ ศรีกุลกิจ. “สีข้อม”, วารสารคัลเลอร์เวย์. 7(34) : 14-19 ; มกราคม-มีนาคม, 2543.
- _____. หลักการย้อมสีสิ่งทอ. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.
- ขนิษฐา ชัยรัตนาวรรณ. “การดูดซับสีในน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมด้วยตะกอนจุลินทรีย์”, วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 5(1) : 7-25 ; มกราคม, 2552.
- รัชนิย์ รุกขชาติ. “สีข้อมและการบำบัดสีในน้ำทิ้ง”, กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ.
http://www.navy.mi.th/science/BrithDay46/Brithday_data/biology.htm. 18 ตุลาคม, 2555
- ศศิพงษ์ ปลายเงิน. การย่อยสลายสีอะโซโดยแบคทีเรียผสม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, 2550.
- สุกัลยา บริสุทธิ์. การย่อยสลายสีข้อมเอโซด้วยเอโซรีดักเทส (AzoR1) จากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ORB7106. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2553.
- เสาวนีย์ ธรรมสถิติ. แบคทีเรียทางเทคโนโลยีชีวภาพ: เซลล์และผลิตภัณฑ์ของเซลล์. นครปฐม : โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาสาธารณสุขอาเซียน, 2547.
- อลิสรา วังใน. การบำบัดสารมลพิษทางชีวภาพ. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2550.
- อังคณา ศุภย์ไตรรัตน์. “สุขภาพและสิ่งแวดล้อมกับการใช้สีอินทรีย์”, วารสารคัลเลอร์เวย์. 2(2) : 29-34 ; มีนาคม-พฤษภาคม, 2540.
- อรชिरา เพ็ชรช้อย. การลดความเข้มข้นสารละลายสีข้อมรีแอคทีฟโดยเชื้อราเส้นใยสีขาว *Datronia sp.* KAPI0039. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2552.
- Bafana, A., Chakrabarti, T. and Devi, S.S. “Azoreductase and dye detoxification activities”, *Bacillus velezensis* strain AB. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 7(7): 1139-1144; Spring, 2008.
- Banat, I. M., Nigam, P., Singh, D., and Marchant, R. “Microbial Decolorization of Textile-Dye-Containing Effluents: A Review”, *Bioresource Technology*. 5(8): 217-227; Winter, 1996.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Bella, D.T., Goyal, D. and Khanna, S. "Decolorization of textile azo dyes by aerobic bacterial consortium", International Biodeterioration and Biodegradation. 6(3): 462-469; Spring, 2009.
- Bin, Y., Jiti, and et al. "Expression and characteristic of the gene encoding azoreductase", Rhodobacter sphaeroides AS1.1737 FEMS Microbiology Letters. 2(36): 129-136; Winter, 2004.
- Blumel, S. and et al. "Molecular cloning and characterization of the gene coding for aerobic azoreductase", Xenophilus azovorans KF46F. Applied Environment and Microbiology. 6(8): 3948-3955; August-December, 2002.
- Chang, J. and et al. "Stimulation of Bacterial Decolorization of an Azo Dye by Extracellular Metabolite", Escherichia coli Strain NO₃ Bioresource Technology. 9(1): 243-248; March, 2004.
- Chang, J.S., Chou, C. and Chen, S.Y. "Decolorization of azo dyes with immobilized *Pseudomonas luteola*", Process Biochemistry. 3(6): 757-763; May, 2001.
- Chang, J. S. and Kuo, T. S. "Kinetics of Bacterial Decolorization of Azo Dye with *Escherichia coli* NO₃", Bioresource Technology. 7(5): 107-111; Spring, 2000.
- Chen, B. Y. and Chang, J. S. "Assessment Upon Species Evolution of Mixed Consortia for Azo Dye Decolorization", Journal of Chinese Institute of Chemical Engineers. 3(8): 259-266; Winter, 2007.
- Chen, H. "Recent advances in azo dye degrading enzyme research", Current Protein and Peptide Science. 11(8): 101-111; August, 2006.
- Chen, H., Hopper, S.L. and Cerniglia, C.E. "Biochemical and molecular characterization of an azoreductase", Staphylococcus aureus a tetrameric NADPH – dependent flavoprotein. Microbiology. 15(1): 1433-1441; Spring, 2005.
- Chen, Y.B. "Understanding decolorization characteristics of reactive azo dyes by *Pseudomonas luteola*: toxicity and kinetics", Process Biochemistry. 3(8): 437-46; Winter, 2002.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Chen, K. C., and et al. "Microbial Decolorization of Azo Dyes by *Proteus mirabilis*", Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2(3): 686-690; Spring, 1999.
- Coughlin, M. F., Kinkle, B. K. and Bishop, P. L. "Degradation of Acid Orange 7 in an Aerobic Biolm", Chemosphere. 4(6): 11-19; Spring, 2002.
- Cristovao, R. O., and et al. "Immobilization of commercial laccase onto green coconut fiber by adsorption and its application for reactive textile dyes degradation", Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 7(2): 6-12; March, 2011.
- Daizong, C., and et al. "Microbial community structures in mixed bacterial consortia for azo dye treatment under aerobic and anaerobic conditions", Journal of Hazardous Materials. 2(21): 185- 192; June, 2012.
- Dafale, N., and et al. "Decolorization of azo dyes and simulated dye bath wastewater using acclimatized microbial consortium-biostimulation and halo tolerance", Bioresource Technology. 9(9): 2552-2558; Winter, 2008.
- Delee, W., and et al. "Anaerobic treatment of textile effluents: a review", Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 7(3): 323-35; March, 1998.
- Diaz, E. "Bacterial degradation of aromatic pollutants: a paradigm of metabolic diversity", International Microbiology. 7(2): 173-180; Winter, 2004.
- Dong-lei, W., and et al. "Amoxic biodegradation of dimethyl phthalate (DMP) by activated sludge cultures under nitrate-reducing conditions", Journal of Environmental Science. 1(9): 1252-1256; July, 2007.
- Eichlerova, I., Homolka, L. and Nerud, F. "Decolorization of orange G by *Pleurotus ostreatus* monokaryotic isolates with different laccase activity", Folia Microbiology. 4(8): 775-779; Winter, 2003.
- Forgacs, E., Cserhati, T. and Oros, G. "Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review", Environment International. 5(30): 953-971; July, 2004.
- Frijters, C.T.M.J., and et al. "Decolorizing and detoxifying textile wastewater containing both soluble and insoluble dye in a full scale combined anaerobic/aerobic system", Water Research. 9(40): 1249-1257; Winter, 2006.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Gottlieb, A., and et al. "The toxicity of textile azo dyes after hydrolysis and decolourisation", Journal of Biotechnology. 8: 49-56; July, 2003.
- Gill M. and Strauch R. J. "Constituents of *Agaricus xanthodermus* Genevier: the first naturally endogenous azo compound and toxic phenolic metabolites", Z Naturforsch C. 39 (11-12): 1009-1027; August, 1984.
- Hu, W., and et al. "Cosmic Microwavebackground Observables and Their Cosmological Implications", The Astrophysical Journal, 5(49): 669-680; May, 2001.
- Hsueh, C.C. and Chen, B.Y. "Exploring effect of chemical structure on azo dye decolorization characteristics by *Pseudomonas luteola*", Journal of Hazardous Materials. 15(4): 703-710; Winter, 2008.
- Jadhav, S. U., and et al. "Biodegradation of Disperse Dye Brown 3 REL by Microbial Consortium of *Galactomyces geotrichum* MTCC 1360 and *Bacillus sp*", VUS. Biotechnology and Bioprocess Engineering. 13(5): 232-239; July-August, 2008.
- Jin, X., Liu, G., Xu, Z. and Tao, W. "Decolourisation of a Dye Industry Effluent by *Aspergillus fumigatus* XC6", Applied Microbiology and Biotechnology. 7(4): 239-243; Winter, 2007.
- Jirasripongpun, K. and et al. "Decolorization and degradation of C.I. reactive red 195 by *Enterobacter sp*" Thammasart International Journal of Science Technology. 12: 6-13; May, 2007.
- Joseph, R. "The dyeing of textile fibers: theory and practice", Philadelphia College of Textiles and Science, Pennsylvania, 15(8): 30-35; July-August, 1992.
- Joshi, T., and et al. "Isolation, Identification and Application of Novel Bacterial Consortium TJ-1 for the Decolourization of Structurally Different Azo Dyes", Bioresource Technology. 9(9): 7115-7121; Winter, 2008.
- Kalyani, D.C and et al. "Biodegradation of reactive textile dye Red BLI by an isolated bacterium *Pseudomonas sp*", SUK1. Bioresource Technology. 9(9): 4635-4641; July, 2008.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Kannan, P. and Sumeet, K. "Continuous treatment of coloured industry wastewater using immobilized *Phanerochaete chrysosporium* in a rotating biological contactor reactor", Journal of Environmental Management. 10(1): 118-123; February, 2012..
- Kuo-Cheng, C. and et al. "Decolorization of azo dye using PVA-immobilized microorganisms" Journal of Biotechnology. 10(1): 241-252; Winter, 2003.
- Khehra, M.S. and et al. "Decolorization of various azo dyes by bacterial consortia", Dyes Pigments. 6(7): 55-61; June, 2005.
- McMullan, G. and et al. "Microbial decolorization and degradation of textile dyes", Applied Microbiology and Biotechnology. 5(6): 81-87; February, 2001.
- Nishiya, Y. and Yamamoto, Y. "Characterization of a NADH : dichroindophynol oxidoreductase from *Bacillus subtilis*", Biotechnology. 7(1): 611-614; Winter, 2007.
- O'Neill, C., and et al. "Colour in textile effluents sources, measurements, discharge consents and simulation: a review", Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 7(4): 1009-1018; July, 1999.
- Quan, X. C., Shi, H. C., Wang, J. L. "Biodegradation of 2,4-dichlorophenol in sequencing batch reactors augmented with immobilized mixed culture", Chemosphere. 50(8): 1069-1074; March-May, 2003.
- Rai, H., and et al. "Removal of Dyes from the Effluent of Textile and Dyestuff Manufacturing Industry: A Review of Emerging Techniques with Reference to Biological Treatment" Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 3(5): 219-238; May, 2005.
- Razo-Flores, E. and et al. "Biodegradation of select azo dyes under methanogenic condition", Water Science Technology. 3(6): 65-72; March, 1997.
- Saratale, R.G., and et al. "Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review", Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. 4(2): 138-157; April-June, 2011.
- _____. "Decolorization and Biodegradation of Reactive Dyes and Dye Wastewater by a Developed Bacterial Consortium", Biodegradation. 10(5): 32-010-; July, 2010.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Saratale, R.G., and et al. "Ecofriendly Decolorization and Degradation of Reactive Green 19A Using *Micrococcus glutamicus* NCIM- 2168", Bioresource Technology, 11(20): 3897-3905; April-May, 2009.
- Selvam, K., Swaminathan, K. and Keo, S.C., "Microbial decolourization of azo dyes and dye industry effluent by *Fomes lividus*", World Journal of Microbiology and Biotechnology. 1(9): 591-593; Winter, 2003.
- Sharma, D.K., and et al. "Isolation and characterization of microorganisms capable of decolorizing various triphenylmethane dyes", Journal of Basic Microbiology. 4(4): 59-65; April, 2004.
- Silveira, E., and et al. "Selection of *Pseudomonas* for industrial textile dyes decolourization", International Biodeterioration and Biodegradation. 6(3):230-235; July-August, 2009.
- Stolz, A. "Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes", Applied Microbiology and Biotechnology. 5(6): 69-80; Winter, 2001.
- Sung-Hwa, L., and et al. "Kinetic theory of biostimulation for azo dye decolorization using immobilized cell system", Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. 4(3): 399-408; November, 2012.
- Tal, Y., and et al. "Enumeration and factors influencing the relative abundance of a denitrifier, *Pseudomonas sp* JR12. entrapped in alginate beads", Environmental Pollution. 11(2): 99-106; June, 2001.
- Telke, A.A., and et al. "Kinetics and mechanism of Reactive Red 141 degradation by a bacterial isolate *Rhizobium radiobacter* MTCC 8161", Acta Chimica Slovenica. 55: 320-329; November, 2008.
- Tony, B. D., Goyal, D. and Khanna, S. "Decolorization of Textile Azo Dyes by Aerobic Bacterial Consortium", International Biodeterioration and Biodegradation. 6(3): 462-469; July, 2009.
- Van der Zee, F. P. and Villaverde, S. "Combined Anaerobic-Aerobic Treatment of Azo Dyes-A Short. Review of Bioreactor Studies", Water Research. 3(9): 1425-1440; May, 2005.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Vandevivere, P. C., Bianchi, R. and Verstraete, W. "Treatment and Reuse of Wastewater from the Textile Wet-processing Industry: Review of Emerging Technologies", Journal Chemical Technology and Biotechnology. 7(2): 289-302; June-July, 1998.
- Wackerow-Kouzova, N.D. "Isolation and study of azobenzene-transforming soil bacteria", Applied Biochemistry and Microbiology. 4(1): 62-164; Winter, 2005.
- Wang, J. L., Ye, Y. C. and Wu, W. Z. "Immobilization of microbial cells using polyvinyl alcohol (PVA)-polyacrylamide gels", Biotechnology Techniques. 10: 203-208; Winter, 1995.
- _____. "Comparison of citric acid production by *Aspergillus niger* immobilized in gels and cryogels of polyacrylamide", Journal of Industrial Microbiology. 1(6): 351-353; November, 1996.
- _____. "Immobilization of microorganisms using carrageenan gels coated with chitosan and application to biodegradation of 4-chlorophenol", Journal of Environmental Sciences. 9(5): 283-287; Winter, 1997.
- _____. "The research and development of microbial immobilization using polyvinyl alcohol (PVA) gel", Journal of Industrial Microbiology. 28(2): 35-39; Decemeber, 1998.
- _____. "Microbial degradation of 4-chlorophenol by microorganisms entrapped in carrageenan-chitosan gels", Chemosphere. 3(8): 3109-3117; May, 1999.
- _____. "The radial distribution and bioactivity of *Pseudomonos* sp. immobilized in calcium alginate beads", Process Biochemistry. 3(5): 465-469; June, 2000.
- _____. "Biodegradation of quinoline by gel immobilized *Burkholderia* sp", Chemosphere. 44(5): 1041-1046; Winter, 2001.
- _____. Microbial immobilization techniques and water pollution control. Beijing: Science Press, 2002.
- _____. "Comparison of biodegradation of di-*n*-methyl phthalate by free and immobilized microbial cells", Biomedical and Environmental Science. 1(6): 126-132; Winter, 2003.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Wuhrmann, K., Mechsner, K. and Kappeler, T. "Investigation on rate-determining factor in the microbial reduction of azo dyes", European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology. 9(15): 325-338; May-June, 1980.
- Yang, Q., and et al. "Decolorization of synthetic dyes and production of manganese-dependent peroxidase by new fungal isolates", Biotechnology Letters. 2(5): 709-713; May, 2003.
- Ying, C., and et al. "Biodegradation of crystal violet using *Burkholderia vietnamiensis* C09V immobilized on PVA-sodium alginate-kaolin gel beads", Ecotoxicology and Environmental Safety. 8(3): 108-114; Winter, 2012.
- Yoo, E.S., Libra, J., and Wiesmann, U. "Reduction of azo dyes by *Desulfovibrio desulfuricans*", Water Science and Technology. 1(3): 15-22; June, 2000.
- Yu, J., Wang, X. and Yue, P. "Optimal Decolorization and Kinetic Modeling of Synthetic Dyes by *Pseudomonas* Strains", Water Research. 3(5): 3579-3586; May, 2001.
- Zimmermann, T., Kulla, H.G. and Leisinger, T. "Properties of purified orange II azoreductase, the enzyme initiating azo dye degradation by *Pseudomonas* KF46", Journal of Biochemistry. 12(9):197-203; Winter, 1982.
- Zissi, U. and Lyberatos, G. "Azo-dye biodegradation under anoxic conditions", Water Science and Technology. 3(4): 495-500; March, 1996.

ภาคผนวก

ตารางที่ 4 ร้อยละของการบำบัดสี Congo red

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร				
	PD-I	PD-II	dead cell PD-I	dead cell PD-II	gel bead
0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
24	66.50±1.50	74.33±4.04	51.67±2.89	52.00±2.00	41.56±0.96
48	73.50±1.50	80.67±2.31	65.67±6.66	65.00±3.00	47.89±2.36
72	75.50±0.50	82.67±2.31	71.00±4.58	71.00±1.00	57.00±3.00
96	82.50±1.50	85.33±1.15	72.33±4.04	75.00±1.00	61.00±1.00
120	87.50±1.50	89.00±4.58	76.00±3.46	79.00±1.00	65.50±1.50
144	90.50±0.50	92.00±3.46	78.33±2.08	82.00±2.00	70.00±2.00

ตารางที่ 5 ร้อยละของการบำบัดสี Golden yellow RNL

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร				
	PD-I	PD-II	dead cell PD-I	dead cell PD-II	gel bead
0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
24	44.00±5.34	47.50±3.45	30.04±2.76	35.96±4.77	17.75±2.73
48	59.33±1.89	58.76±7.48	35.30±0.99	39.76±3.16	26.52±4.45
72	62.67±2.83	64.78±4.83	38.64±4.75	45.24±3.91	30.00±0.48
96	66.00±0.00	69.60±4.45	45.57±3.43	49.93±2.92	35.51±0.95
120	67.33±0.00	74.28±5.35	50.17±0.24	56.28±1.73	40.79±1.11
144	69.00±0.47	76.44±5.04	54.75±1.06	60.10±2.69	43.02±1.45

ตารางที่ 6 ร้อยละของการบำบัดสี Blue BCC

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร				
	PD-I	PD-II	dead cell PD-I	dead cell PD-II	gel bead
0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
24	93.97±0.05	92.48±4.30	66.00±4.44	71.90±2.14	64.98±0.48
48	96.55±0.86	95.90±1.44	79.14±3.01	89.10±1.15	74.25±1.05
72	96.90±0.30	97.24±1.35	85.33±1.15	91.38±1.61	83.02±1.24
96	98.10±0.16	98.67±1.29	91.14±1.31	93.00±1.00	89.29±1.00
120	99.35±0.31	98.76±1.29	91.33±1.84	95.90±0.16	90.71±0.62
144	100.00±0.00	99.24±1.32	92.29±2.00	96.29±0.29	92.29±0.29

ตารางที่ 7 ร้อยละของการบำบัดสีผสม

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร				
	PD-I	PD-II	dead cell PD-I	dead cell PD-II	gel bead
0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
24	94.19±1.69	91.42±0.49	88.18±1.16	87.44±0.97	75.84±1.47
48	94.96±1.16	92.17±0.41	86.43±3.36	89.10±0.09	77.65±0.98
72	94.70±0.45	94.58±2.33	90.83±0.09	92.17±0.14	78.68±0.39
96	95.87±0.81	95.82±1.17	92.89±0.81	92.75±0.23	78.42±1.19
120	97.29±1.03	95.92±0.97	93.80±0.39	93.21±0.19	79.59±1.61
144	97.55±1.18	96.93±0.78	94.06±0.45	94.39±0.19	79.59±1.57

ตารางที่ 8 สรุปร้อยละของการบำบัดสีย้อมอะโซ่ทั้ง 3 ชนิด

ชนิดของสี	ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร				
	PD-I	PD-II	dead cell PD-I	dead cell PD-II	Alginate gel bead
Blue BCC	100.0±0.00	99.2±1.32	92.3±2.00	96.3±0.29	92.3±0.29
Congo red	90.5±0.05	92.0±3.46	78.3±2.08	82.0±2.00	70.0±2.00
Golden yellow RNL	69.0±0.47	76.4±5.04	54.8±1.06	60.1±2.61	43.0±1.45
สีผสม	97.6± 1.18	96.9±0.78	94.1± 0.45	94.4±0.19	79.6±1.57

การเตรียมอาหารและสารละลายที่ใช้ในการทดลอง

1. LB medium สำหรับ 1 ลิตร

ประกอบด้วย	Yeast extract	5	กรัม
	Peptone	10	กรัม
	NaCl	10	กรัม

ละลายส่วนประกอบทั้งหมด และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร นำมานึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที pH เท่ากับ 7

2. Bushnell and Hass basal medium supplemented with glucose and yeast extract (BHB-GY medium) สำหรับ 1 ลิตร

ประกอบด้วย	MgSO ₄	0.2	กรัม
	CaCl ₂	0.02	กรัม
	KH ₂ PO ₄	1.0	กรัม
	K ₂ PO ₄	1.0	กรัม
	NH ₄ NO ₃	1.0	กรัม
	FeCl ₃	0.05	กรัม
	NaCl	0.4	กรัม
	Glucose	1.0	กรัม
	Yeast extracts	1.0	กรัม

ละลายส่วนประกอบทั้งหมด และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร นำมานึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที pH เท่ากับ 7

3. การเตรียมสารละลายย้อมอะโซ

1% Congo red stock solution ชั่งสี 0.1 กรัม ละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองด้วย Millipore filter 0.45 ไมโครเมตร

1% Golden yellow RNL stock solution ชั่งสี 0.1 กรัม ละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองด้วย Millipore filter 0.45 ไมโครเมตร

1% Blue BCC stock solution ชั่งสี 0.1 กรัม ละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร ทำให้ปลอดเชื้อโดยการกรองด้วย Millipore filter 0.45 ไมโครเมตร

เตรียมสารละลายสีย้อมอะโซสำหรับการวิเคราะห์ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ประกอบด้วยอาหาร BHB-GY 100 มิลลิลิตรและ 1% สีย้อมอะโซ 500 ไมโครลิตร จะได้ความเข้มข้นสีอะโซ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ของสีแต่ละชนิด และสีผสม ประกอบด้วยอาหาร BHB-GY 100 มิลลิลิตร และ 1% สีย้อมอะโซ สีละ 200 ไมโครลิตร จะได้ความเข้มข้นสีรวม 60 มิลลิกรัมต่อลิตร

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล

นางดาริกา รูปงาม

ประวัติการศึกษา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (อนามัยสิ่งแวดล้อม)
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, พ.ศ. 2549-2552
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, พ.ศ. 2554-2556

ประวัติการทำงาน

พ.ศ. 2553-ปัจจุบัน
โรงพยาบาลอุทุมพรพิสัย อำเภออุทุมพรพิสัย
จังหวัดศรีสะเกษ

ตำแหน่งและสถานที่ทำงานปัจจุบัน

นักวิชาการสาธารณสุข
กลุ่มงานเวชศาสตร์ครอบครัวและบริการด้านปฐมภูมิ
งานควบคุมโรค โรงพยาบาลอุทุมพรพิสัย
อำเภออุทุมพรพิสัย จังหวัดศรีสะเกษ
โทรศัพท์ (045) 691516 ต่อ 263
E-Mail: darikaapple@gmail.com

