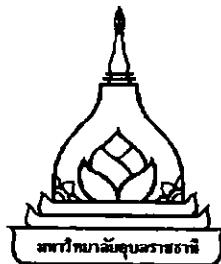


## การกำจัดสีีย้อมด้วยแลคเคลสในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ

นริศา ทวีชัย

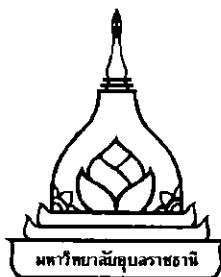
การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์  
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี  
ปีการศึกษา 2558  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี



## REMOVAL OF DYE USING LACCASE IN MEMBRANE BIOREACTOR

NARISA THAWEECHAI

AN INDEPENDENT STUDY SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF ENGINEERING  
MAJOR IN ENVIRONMENTAL ENGINEERING  
FACULTY OF ENGINEERING  
UBON RATCHATHANI UNIVERSITY  
ACADEMIC YEAR 2015  
COPYRIGHT OF UBON RATCHATHANI UNIVERSITY



ในรับรองการคณบดีวิศวกรรม  
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี  
ปริญญาศึกษากรรมศาสตร์บัณฑิต  
สาขาวิชาศึกษากรรมสิ่งแวดล้อม คณะศึกษาศาสตร์

เรื่อง การกำจัดสีย้อมด้วยแลคเคลสในถังปฏิกิริณเยื่อกรองชีวภาพ

ผู้วิจัย นางสาวนริศา ทวีชัย

คณะกรรมการสอบ

รองศาสตราจารย์ ดร.สุพัฒน์พงษ์ มัตราช

ประธานกรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิกา รัตนพงศ์เลขา

กรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จักรกฤษณ์ อัมพุช

กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิกา รัตนพงศ์เลขา)

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.กุลเชษฐ์ เพียรทอง)

คณบดีคณะศึกษาศาสตร์

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปีการศึกษา 2558

## กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าอิสระฉบับนี้สำเร็จลุล่วงตามเป้าหมายได้ ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพัฒน์พงษ์ มัตรชา อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิกา รัตนพงศ์เลขา และกรรมการสอบ ดร.จักรกฤษณ์ อัมพุช ที่กรุณาให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะต่างๆ จนกระทั่งการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ ขอขอบคุณคณะอาจารย์หลักสูตรบัณฑิตศึกษา สาขาวิชากรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่บัณฑิตศึกษา ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ ที่ได้ให้คำแนะนำ และช่วยอำนวยความสะดวกในระหว่างการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณ นางสาวชีวนันท์ นามวงศ์ และพี่ฯ ร่วมชั้นเรียนในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตร์ มหาบัณฑิต ที่ให้การช่วยเหลือ คำปรึกษาและให้กำลังใจในระหว่างการทำงานวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัว ที่ได้ให้กำลังใจ ช่วยเหลือและสนับสนุนทำให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นริศา ทวีชัย  
ผู้วิจัย

## บทคัดย่อ

**เรื่อง** : การกำจัดสีัยอ้มด้วยแอลกเคลสในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ  
**ผู้วิจัย** : นริศา ทวีชัย  
**ชื่อปริญญา** : วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต  
**สาขาวิชา** : วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม  
**ประธานกรรมการที่ปรึกษา** : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรรณิกา รัตนพงศ์เลขา  
**คำสำคัญ** : ถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ, แอลกเคลส, การกำจัดสีัยอ้ม, แอซิดบ Zuk 80

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาเสถียรภาพของเอนไซม์แอลกเคลส ผลกระทบความเข้มข้นสีัยอ้ม แอซิดบ Zuk 80 และผลกระทบอัตราการไหลของสารที่มีต่อการกำจัดสีัยอ้มในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองและถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ โดยเยื่อกรองอัลตร้าที่ใช้เป็นเยื่อกรองทำจากโพลีซัลฟอน ขนาด 10 กิโล ดาลตัน ดำเนินระบบการไหลแบบไหลตามขาว ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเยื่อกรองอัลตร้าที่ใช้ร่วมกับถังปฏิกรณ์สามารถกักเก็บเอนไซม์ไว้ในระบบได้มากกว่าร้อยละ 70 ที่อัตราการไหลของสารเข้าระบบเป็น 300 มิลลิลิตรต่อนาที เวลา 240 นาที เมื่อพิจารณาผลของการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสีัยอ้มพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นสีัยอ้มทำให้ค่าการกำจัดสีัยอ้มและเพอ米เจฟลักษณ์ในถังปฏิกรณ์ทั้ง 2 แบบลดลง ส่วนรับการเพิ่มอัตราการไหลของสารส่งผลให้ค่าการกำจัดสีัยอ้มลดลง ในขณะที่เพอ米เจฟลักษณ์มีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบการกำจัดสีัยอ้มที่เวลา 240 นาที ความเข้มข้นสีัยอ้ม 30 มิลลิกรัมต่อลิตร และอัตราการไหลของสาร 300 มิลลิลิตรต่อนาที มีค่าร้อยละ 47.87 และร้อยละ 94.25 สำหรับถังปฏิกรณ์เยื่อกรองและถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการใช้ถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพซึ่งบรรจุเอนไซม์แอลกเคลสช่วยให้ประสิทธิภาพการกำจัดสีัยอ้มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าเยื่อกรองที่ใช้งานแล้ว สามารถนำมารีส์ตั้งด้วยสารเคมี และสามารถนำกลับมาใช้งานได้ดังเดิม

## ABSTRACT

TITLE : REMOVAL OF DYE USING LACCASE IN MEMBRANE BIOREACTOR  
AUTHOR : NARISA THAWEECHAI  
DEGREE : MASTER OF ENGINEERING  
MAJOR : ENVIRONMENTAL ENGINEERING  
ADVISOR : ASST. PROF. KARNNIKA RATANAPONGLEKA, PhD

KEYWORDS : MEMBRANE BIO-REACTOR, LACCASE, DYE REMOVAL, ACID BLUE 80

This research aimed to study the stability of laccase and the effects of Acid Blue 80 concentration and flows on dye removal in a membrane reactor and a membrane bio-reactor. The ultra-filtration membrane used was made from polysulfone with a molecular weight cut-off of 10 kDa. The operation system was in a cross-flow filtration mode. The results showed that the use of the ultra-filtration membrane combined with the reactor retained more than 70% of the enzyme in the system at the substance flow rate of 300 ml/min for 240 minutes. Increases in dye concentration resulted in reductions in dye removal and permeate flux in both reactors. Increases in substance flow rate decreased dye removal while permeate flux increased. Dye removals at 240 minutes, dye concentration of 30 mg/l, and substance flow rate of 300 ml/min were approximately 47.87% and 94.25% for the membrane reactor and membrane bio-reactor respectively. The results indicated that the use of the membrane bio-reactor containing enzyme laccase yielded higher dye removal efficiency. Furthermore, it was found that the used membrane could be re-generated with a chemical reagent and could be re-used.

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ด
สารบัญภาพ	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง</b>	
2.1 ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับเอนไซม์	4
2.2 เอนไซม์แลคเคส	4
2.3 สีเย็น	9
2.4 งานการแยกด้วยเยื่อกรอง	11
2.5 ถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ	21
2.6 ข้อดีของกระบวนการเยื่อกรอง	23
2.7 ข้อจำกัดของกระบวนการเยื่อกรอง	24
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินการทดลอง</b>	
3.1 วัสดุและสารเคมี	25
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์	25
3.3 การเตรียมเอนไซม์	26
3.4 ชุดเยื่อกรองอัลตราฟิลเตอร์ชัน	26
3.5 ระบบถังปฏิกรณ์	27
3.6 สีเย็น	28
3.7 กรอบแนวคิดงานวิจัย	28
3.8 วิธีดำเนินการศึกษา	30
3.9 วิธีการวิเคราะห์ผล	31
3.10 การคำนวณผล	32
<b>บทที่ 4 ผลทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง</b>	
4.1 การศึกษาเสถียรภาพของเอนไซม์ในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง	34
4.2 การจำจัดสีเย็นด้วยระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง	37

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 การกำจัดสีเย้อมด้วยเอนไซม์แลคเคลสในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ	39
4.4 การเรียบเทียบการกำจัดสีเยอมด้วยระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองและระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ	43
4.5 การล้างระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ	45
<b>บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ</b>	
5.1 สรุปผลการทดลอง	47
5.2 ข้อเสนอแนะ	48
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	<b>49</b>
<b>ภาคผนวก</b>	
ก การเตรียมสารละลาย	55
ข ผลการทดลอง	59
<b>ประวัติผู้วิจัย</b>	<b>66</b>

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์แลคเคลสกับการประยุกต์ใช้งาน	8
2.2 โครงสร้างทั่วไปของสีย้อมชนิด Acid Blue 80	10
2.3 กระบวนการอัลตราฟิลเตชัน (Ultrafiltration processes)	13
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวกับเยื่อกรองในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ	23
4.1 การกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองและถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ ที่เวลา 240 นาที เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อม	44
4.2 การกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองและถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ ที่เวลา 240 นาที เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสีย้อมเข้าสู่ระบบ	44
ข.1 ข้อมูลสถิติรภาพของเอนไซม์ในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองที่อัตราการไหล ของระบบ 300, 400 และ 500 mL/min	60
ข.2 ข้อมูลผลการกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง ที่ความเข้มข้นต่างๆ	61
ข.3 ข้อมูลผลการกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง ที่อัตราการไหลต่างๆ	62
ข.4 ข้อมูลผลการกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ ที่ความเข้มข้นต่างๆ	63
ข.5 ข้อมูลผลการกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ ที่อัตราการไหล ของสีย้อมเข้าระบบต่างๆ	64
ข.6 ข้อมูลของผลกระทบต่อการล้างระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพด้วยน้ำปราศจากประจุ ก่อนการใช้งานและหลังการใช้งาน และสารเคมี	65

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของเอนไซม์แลคเคสจาก <i>Bacillus subtilis</i>	7
2.2 โมดูลแบบแผ่น	15
2.3 โมดูลแบบท่อ	15
2.4 โมดูลแบบเส้นยกลง	16
2.5 โมดูลแบบม้วน	16
2.6 กระบวนการกรองแบบไฟลขวางและแบบปิดตาย	17
2.7 ลักษณะการอุดตันแบบ Complete Pore Blocking	18
2.8 ลักษณะการอุดตันแบบ Pore Constriction or Standard Blocking	19
2.9 ลักษณะการอุดตันแบบ Intermediate Blocking	19
2.10 ลักษณะการอุดตันแบบ Cake Formation Model	19
2.11 รูปแบบการทำงานของ MBR 2 รูปแบบ (ก) แบบที่ 1 (ข) แบบที่ 2	21
3.1 เยื่อกรองแบบอัลตราฟิลเตชันรุ่น MiniKros® Sampler Filter Modules Part No. S02-5010-05-P	27
3.2 ระบบถังปฏิกิริณ์เยื่อกรองชีวภาพ	27
3.3 กรอบแนวคิดงานวิจัย	29
4.1 เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลืออยู่ที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไฟลของสารที่เข้าระบบ 300, 400 และ 500 มิลลิลิตรต่อนาที (ก) ในรีเทนเนจ (ข) ในเพอมิเจจ	35
4.2 เปอร์เซ็นต์กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ที่เหลืออยู่ที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไฟลของสารที่เข้าระบบเป็น 300, 400 และ 500 มิลลิลิตรต่อนาที (ก) ในรีเทนเนจ (ข) ในเพอมิเจจ	36
4.3 เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกิริณ์เยื่อกรองที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อมเป็น 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร	37
4.4 เพอเมิเจจฟลักซ์ที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อมเป็น 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร	37
4.5 เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกิริณ์เยื่อกรองที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไฟลของสีย้อมเข้าระบบเป็น เท่ากับ 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิลิตรต่อนาที	38
4.6 เพอเมิเจจฟลักซ์ที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไฟลของสีย้อมเข้าระบบเท่ากับ 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิลิตรต่อนาที	39

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.7 เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีเย้มด้วยถังปฏิกรณ์ยื่อกรองชีวภาพที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีเย้มเป็น 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร	40
4.8 ปริมาณโปรดตินท์พบในเพ้อมิเจที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีเย้มเป็น 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร	40
4.9 เพ้อมิเจฟลักซ์ที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีเย้มเป็น 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร	41
4.10 เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีเย้มด้วยถังปฏิกรณ์ยื่อกรองชีวภาพที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสีเย้มเข้าระบบเป็น 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร	42
4.11 ปริมาณโปรดตินท์พบในเพ้อมิเจที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสีเย้มเข้าระบบเป็น 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร	42
4.12 เพ้อมิเจฟลักซ์ที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสีเย้มเข้าระบบเป็น 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร	43
4.13 เพ้อมิเจฟลักซ์ที่ความดันต่างๆ เมื่อเดินระบบด้วยน้ำประจากปะจุ ก่อนการใช้งานและหลังการใช้งาน และด้วยสารเคมี	45
ก.1 กราฟมาตรฐานโปรดติน	57
ก.2 กราฟมาตรฐานสีเย้ม แอชิดบลู 80	58

## บทที่ 1 บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัณฑ

ในปัจจุบันสื่อymomถูกนำมาใช้ในกระบวนการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นจำนวนมากเนื่องจากต้องทำให้ผลิตภัณฑ้มีความนำสมัยอยู่เสมอ และมีการส่งออกผลิตภัณฑ์ทางด้านสิ่งทอไปขายต่างประเทศในปัจจุบัน เป็นมูลค่าหลายหมื่นล้านบาท ซึ่งนำรายได้มาสู่ประเทศไทยอย่างสูง นอกจากอุตสาหกรรมสิ่งทอแล้วอุตสาหกรรมอื่นๆ ที่ใช้สื่อymomในกระบวนการผลิต ได้แก่ อุตสาหกรรมฟอกย้อมผ้า สีพิมพ์ การถ่ายภาพ อุตสาหกรรมพลาสติกและอื่นๆ ส่งผลให้การใช้สื่อymomมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นและสื่อymomเหล่านี้อาจก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมทางน้ำ ถ้าไม่มีการบำบัดน้ำเสียที่มีประสิทธิภาพ น้ำเสียที่ปล่อยออกจากรองรับอุตสาหกรรมต่างๆ เหล่านี้จะประกอบด้วยสื่อymomชนิดต่างๆ ปนเปื้อนอยู่และส่วนใหญ่เป็นสื่อymomที่ได้จากการสังเคราะห์มากกว่าสื่อymomจากธรรมชาติ เนื่องจากสื่อymomสังเคราะห์มีการผลิตและมีคุณภาพที่แน่นอน ติดทนทาน ละลายน้ำได้ดีและตุดชักกับเส้นใยได้ง่ายกว่าสื่อymomชาติรวมทั้งสังเคราะห์ยังหาได้ง่ายและมีราคาถูก ส่งผลให้สังเคราะห์ได้รับความนิยมนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ (Zoolinger, 1987: 385) ในระหว่างกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมเหล่านี้ สื่อymomสามารถเป็นลงสู่น้ำเสียของโรงงานได้ตั้งแต่ ร้อยละ 2-50 วันจะนำไปสู่การปนเปื้อนของสื่อymomสู่น้ำผิวดินและน้ำใต้ดินรอบบริเวณโรงงานอุตสาหกรรม (นกมล ศิริทรงธรรม, 2539: 47) สังเคราะห์หลายชนิดสามารถเห็นการปนเปื้อนในแหล่งน้ำได้แม้จะมีความเข้มข้นต่ำ (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งน้ำเสียที่เกิดจากการกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมจะมีความเข้มข้นของสื่อymomอยู่ระหว่าง 10-20 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้สื่อymomน้ำเสียค่อนข้างเข้ม (Levine, 1991: 283)

จากคุณสมบัติของสีเย้อมที่มีโครงสร้างชั้นช้อนทำให้สีเหล่านี้มีความคงตัวสูง ทนต่อการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ทำให้น้ำสีที่เกิดจากโรงงานผลิตสีเย้อมไม่สามารถที่จะกำจัดออกได้โดยวิธีการบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไป รวมทั้งสีสังเคราะห์และสารเคมีต่างๆ ของสีเย้อมที่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งในสิ่งมีชีวิต (ข้อมูลกฎหมายไทย, 2556: Web-site) ทำให้น้ำสีที่มีสีเย้อมปนเปื้อนเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตรวมทั้งมนุษย์ สีเย้อมสังเคราะห์ที่แพร่กระจายในสิ่งแวดล้อมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงและเป็นมลพิษต่อแหล่งน้ำผิวน้ำและแหล่งน้ำใต้ดิน สีเย้อมที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำและสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ อีกทั้งยังส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของประชาชนและแหล่งน้ำตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นแหล่งน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนานาชนิด ดังนั้นการมีสีเย้อมปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำตามธรรมชาติจะก่อให้เกิดผลกระทบโดยตรงต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพราะสีดังกล่าวมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ เช่น กุ้ง และปลาชนิดต่าง ๆ เป็นต้น

แอชิดบสู 80 แบ่งตามโครงสร้างทางเคมี จัดอยู่ในกลุ่มแอนทรากวิโนน Anthraquinone เป็นกลุ่มสีที่เกิดจากสารประกอบอินทรีย์ มีประจุลบ ละลายน้ำได้ดี ส่วนใหญ่เป็นเกลือของกรด กำมะถัน มีมวลโมเลกุล เท่ากับ  $678.691 \text{ g/mol}$  กลไกในการติดสีเกิดเป็นพันธะไฮdroجينิกให้กับ

เส้นใยโปรดตินในน้ำย้อมที่มีสภาพเป็นกรดเจือจาง สีในกลุ่มนี้บางตัวสามารถนำไปใช้ย้อมเส้นใย เชคลูโลสบริสุทธิ์ได้ เช่น ปอ ปาน ในลอน ไขขนแกะ ไหມ และอะคลิริกไดดี มีความทนทานของสี ต่อการซักล้างอยู่ในช่วงคิมาก ความทนทานต่อแสงดีมาก และนิยมใช้อย่างแพร่หลายในโรงงาน อุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมย้อมผ้า อาหารเครื่องสำอาง กระดาษ ผลิตภัณฑ์หนังฟอก เป็นต้น

จากคุณสมบัติของสีในกลุ่มแอนทรัคโวน ที่มีความทนทานต่อการซักล้าง และทนทานต่อการ ย่อยสลายสูง ทำให้ต้องมีการศึกษาแนวทางในการพัฒนาวิธีการย่อยสลายสารสีแอดซิต ทั้งวิธีการ ทางกายภาพ ทางเคมีและทางชีวภาพ แต่วิธีการที่เป็นที่นิยมในปัจจุบัน คือ การบำบัดทางเคมี (สุดสาขชล หอมหง และคณะ, 2554: 108) เนื่องจากน้ำเสียที่เกิดจากการกระบวนการย้อมสีมีความเป็น พิษสูง จึงต้องใช้กระบวนการทางเคมีที่มีความสะดวก รวดเร็ว แต่มีข้อจำกัด คือต้องใช้พลังงานและ ค่าใช้จ่ายสูง

ดังนั้นจึงมีการศึกษาการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยการบำบัดน้ำเสียโดยผลิตภัณฑ์จาก จุลินทรีย์ เช่น เอนไซม์ เพราะปฏิกิริยาไม่รุนแรงเหมือนปฏิกิริยาทางเคมี ไม่เป็นพิษ ไม่ก่อให้เกิด สารพิษต่อกันในสิ่งแวดล้อม จากการศึกษาการงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับแอชิดบลู 80 เช่น Xinsheng Lua และคณะ (2015: 166) ศึกษาการดูดซับสีย้อม แอชิดบลู 80 และโลหะหนักด้วยถ่านกัมมันต์ที่มี ส่วนประกอบของน้ำ份รัง พบร่วม สามารถดูดซับสีย้อมและโลหะหนักได้สูงสุด 294.7 และ 45 มิลลิกรัม ต่อกิรัม AB80-Cu<sup>2+</sup> ตามลำดับ และงานวิจัยเกี่ยวข้องกับเอนไซม์แลคเคลสพบว่า แลคเคลสเป็นเอนไซม์ ที่สามารถย่อยสลายสีย้อมได้เป็นอย่างดี เช่น การใช้แลคเคลสจากเชื้อราเส้นใยสีขาว *Dactonnia sp.* KAPI0039 ในการย่อยสลายลิกนินและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส ซึ่งมีผลทำให้สีรีดออกพิฟของ น้ำทึ้งจากโรงงานฟอกย้อมสิ่งทอลดลง (อรชีรา เพ็ชร์ช้อย, 2552: 250) และแลคเคลสจากเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* มีประสิทธิภาพกำจัดสีโดยย่อยสลายลิกนินในช่วงความเป็นกรด-ด่าง 6.0-9.0 (Debendra K. Sahoo and Rimpy Gupta, 2005: 1575) แต่เนื่องจากการเรียบและสกัด เอนไซม์เพื่อใช้ในการดำเนินการมีค่าใช้จ่ายสูง ด้วยเหตุนี้เองผู้วิจัยจึงได้ทำเทคโนโลยีระบบถังปฏิกิริณ เยื่อกรองเข้ามาช่วยในการดำเนินระบบเพื่อช่วยให้น้ำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่ได้และสามารถเดินระบบ ได้อย่างต่อเนื่องมากขึ้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีแนวความคิดที่จะศึกษาการกำจัดสีย้อมด้วยเอนไซม์ แลคเคลส ในถังปฏิกิริณเยื่อกรองชีวภาพ

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาเสถียรภาพของเอนไซม์แลคเคลสในระบบถังปฏิกิริณเยื่อกรองชีวภาพ

1.2.2 เพื่อศึกษาการกำจัดสีย้อม แอชิดบลู 80 ด้วยถังปฏิกิริณเยื่อกรอง

1.2.3 เพื่อศึกษาการกำจัดสีย้อม แอชิดบลู 80 ด้วยเอนไซม์แลคเคลสในถังปฏิกิริณเยื่อกรอง ชีวภาพ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อม และอัตราการไหลของสีย้อมที่เข้าระบบ

## 1.3 ขอบเขตการศึกษา

1.3.1 เอนไซม์แลคเคลสที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เตรียมจากเชื้อรา *Lentinus polychrous* Lev.

1.3.2 น้ำเสียสังเคราะห์เตรียมจากการผสมสีเย้อมที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในน้ำ โดยกลุ่มสีเย้อมที่สนใจในการศึกษาครั้งนี้คือ สีเย้อม แอซิดบลู 80

1.3.3 เยื่อกรองที่ใช้เป็นชนิดเยื่อกรองอัลตราไฟลเตอร์ชั้น รุ่น MiniKros® Sampler Filter Modules Part No. S02-S010-05-P จากบริษัท SPECTRUM LABS ผลิตจาก Polysulfone และเป็นระบบแบบไหลตามขวาง (Cross flow filtration)

1.3.4 เป็นการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองเป็นอุณหภูมิห้อง

1.3.5 การวัดกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์จะทำการทดสอบด้วยสาร 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid); ABTS

1.3.6 ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายสีเย้อมอยู่ในช่วง 10-50 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายสีเย้อม เท่ากับ 7

1.3.7 เอนไซม์แลคเคสที่ใช้ในการศึกษามีปริมาณ 100 มิลลิลิตร ซึ่งมีค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ เท่ากับ 0.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 มีความเข้าใจในการทำงานของเอนไซม์แลคเคส และประสิทธิภาพในการกำจัดสีเย้อมสังเคราะห์ในระบบบำบัดน้ำเสียในอุตสาหกรรมสิ่งทอ

1.4.2 มีความเข้าใจในกระบวนการทำงานของถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ

1.4.3 สามารถลดปริมาณการใช้สารเคมีในการกำจัดสีเย้อมในน้ำได้

1.4.4 สามารถนำความรู้ที่ได้จากการศึกษาไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ที่ต้องการปรับปรุงคุณภาพน้ำทึ้งที่มีการปนเปื้อนสีเย้อมได้

## บทที่ 2

### ဓາtuษฎีและวรรณกรรมเกี่ยวกับเงื่อนไข

#### 2.1 เอนไซม์เบื้องต้นเกี่ยวกับเอนไซม์

เอนไซม์เป็นโปรตีนสังเคราะห์ขึ้นจากเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเคมี เอนไซม์ มีความสำคัญและจำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิต เพราะว่าปฏิกิริยาเคมีส่วนใหญ่ในเซลล์จะเกิดขึ้นมาก ถ้าไม่มี เอนไซม์อาจทำให้ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยากลایเป็นสารเคมีชนิดอื่น เอนไซม์เป็นโปรตีนซึ่งทำหน้าที่ เร่งปฏิกิริยาเคมีในสิ่งมีชีวิต ขบวนการย่อยสารอาหารต่างๆ (Catabolism) การสังเคราะห์สาร ชีวโมเลกุล (Anabolism) รวมทั้งการทำงานของย้อมินล้วนต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ทั้งสิ้น การทำงานของเอนไซม์มีลักษณะแบบเดียวกับคตัติสติในปฏิกิริยาเคมีทั่วๆ ไป กล่าวคือ ในระหว่าง ที่ปฏิกิริยาจะมีการใช้เอนไซม์ในปริมาณที่น้อยมาก และเอนไซม์จะไม่มีการแตกสลายหรือ เปลี่ยนแปลงไปเป็นสารอื่นในขณะที่เร่งปฏิกิริยา การทำงานของเอนไซม์เกิดขึ้นได้ทั้งในขณะที่เอนไซม์ อยู่ในเซลล์หรืออยู่ในสิ่งมีชีวิต (*In vivo*) และในหลอดทดลอง (*In vitro*) โดยมีเงื่อนไขว่าสภาวะทดลอง ในหลอดทดลอง ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ตัวทำละลาย และปริมาณไอออนต่างๆ ต้องใกล้เคียงกับสภาวะในเซลล์หรือในร่างกาย (Physiological Condition)

#### 2.2 เอนไซม์แลคเคลส

แลคเคลสเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม benzenediol: oxygen oxidoreductase (EC1.10.3.2) ประกอบ ด้วย ไกลโคลโปรตีนและส่วนมากพบว่ามีโมเลกุลของคอปเปอร์ประมาณ 4 โมเลกุล เป็นองค์ประกอบ โดยจับกับกรดอะมิโนซีสเทอีน 1 โมเลกุลและกรดอะมิโนไฮสีฟีน 10 โมเลกุล ในบางครั้งจึงเรียก เอนไซม์ชนิดนี้ว่า blue copper oxidase (Riva, 2006: 220)

หน้าที่ของแลคเคลส คือ จะเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันในสารตั้งต้น และเนื่องจากแลคเคลส มีความจำเพาะเจาะจงต่อวงแหวนอะโรมาติก (aromatic rings) น้อย จึงสามารถออกซิเดสสารตั้งต้น ได้หลากหลายชนิด เช่น สารอินทรีย์ (organic substance), สารอนินทรีย์ (inorganic substance), ไดฟีโนล (diphenol), โพลีฟีโนล (polyphenols), ไดเอไมด์ (diamines), อะโรมาติกऐมีน (aromatic amines) และแอสคอร์บे�ท (ascorbate) โดยอิเล็กตรอนในสารตั้งต้นจะถูกขยับย้ายไปยัง คอปเปอร์ในโมเลกุลของเอนไซม์ จากนั้นโมเลกุลของออกซิเจนจะรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายไปเป็นน้ำ (Saito and et al., 2003: 524)

แลคเคลสเป็นเอนไซม์ที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากจากงานนักวิจัยตั้งแต่ศตวรรษที่สิบเก้าและถือว่า เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพที่มีการนำไปประยุกต์ใช้งานได้หลากหลายรวมทั้งการบำบัดทางชีวภาพ เอนไซม์แลคเคลส เมื่อจำแนกตามระบบของ Enzyme Commission (EC) ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่ม Oxido reductases ที่มีลักษณะคอปเปอร์ในโครงสร้าง (Multi-Nuclear Copper-Containing Oxidases) ซึ่งจะ เร่งการออกซิเดซ์ไดฟีโนล และสารที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงและจะใช้โมเลกุลของออกซิเจนเป็นตัวรับ อิเล็กตรอนตัวสุดท้าย แลคเคลสสามารถใช้สับสเตรทได้หลากหลายซึ่งแตกต่างกับเอนไซม์อื่นๆ

ที่จำเพาะกับสับสเตรทบางชนิดเท่านั้น ตัวอย่างสับสเตรಥองแคลคเคส ได้แก่ Diphenol, Polyphenol, Different substituted phenol, Diamines, Aromatic amines, Benzenethiols หรือแม้แต่สารอนินทรีย์บางชนิด เช่น ไอโอดีน (Xu, 1996: 44) เมื่อถูกออกซิಡ้โดยเอนไซม์ รีดิวชิงด์ สับสเตรทจะเสียอิเล็กตรอนและมักจะอยู่ในรูปอนุมูลอิสระ (Korsten and et al., 1990: 477; Thurston, 1994: 25) อนุมูลอิสระที่ไม่เสียรีแล่นนี้ อาจถูกเร่งโดยแคลคเคสต่อไปหรืออาจเกิดปฏิกิริยาขึ้นโดยไม่ต้องมีเอนไซม์ก็ได้ สับสเตรಥองแคลคเคสที่รู้จักกันดี คือ ABTS [2,2 -azinobis – (3-ethylbenzoline-6-sulphonate)], syringaklazine [3,6-dimethoxy-4-hydroxybenzaldohydeazine], 1-napththol,  $\alpha$ -cresol (1-hydroxyl-4-methylbenzene) 2,6-dirnethoxyphenol และ guaraco (2methoxy phenol)

สารที่เหมาะสมเป็นสับสเตรಥองแคลคเคสจะมีลักษณะสำคัญสองอย่าง (1) สารนั้นต้องสามารถเข้าจับกับบริเวณ T1 ในโมเลกุลเอนไซม์ได้ซึ่งจะถูกกำหนดโดยหมู่แทนที่เกาะกับวงพีนอลิกของสับสเตรท (2) ศักย์ไฟฟ้าของสับสเตรท ( $F_{\text{substrate}}^0$ ) ต้องต่ำเพียงพอ เนื่องจากการเร่งปฏิกิริยา โดยแคลคเคสมีรายงานว่าขึ้นกับความแตกต่างของศักย์ไฟฟ้าระหว่างเอนไซม์กับสับสเตรท (Xu and et al., 1996: 46) ความต่างศักย์ของสับสเตรทถูกกำหนดโดยโครงสร้างเคมี หมู่แทนที่ที่แตกต่างของสับสเตรทจะมีผลต่อค่า F ของสับสเตรทขึ้นกับว่าหมู่แทนที่นั้นมีความสามารถดึงหรือให้อิเล็กตรอนได้ดี ตัวอย่างเช่นหมู่แทนที่ คือ methoxy ซึ่งเป็นหมู่ที่ให้อิเล็กตรอนได้ดีจึงไปเพิ่มความหนาแน่นของอิเล็กตรอนที่หมู่ phenol ทำให้มีโอกาสถูกออกซิಡ้ได้ง่ายขึ้น (Xu, 1996: 46)

โดยทั่วไปยืนของเอนไซม์แคลคเคสจะโคลด์ไฮโดรตีนที่มีกรดอะมิโนประมาณ 500-600 ตัวแผล โดยมากแล้ว แคลคเคสจากเชื้อรากจะเป็นเอนไซม์ที่หลังอกามาโนกเซลล์มี signal peptide อยู่ทางด้านปลาย N ประกอบด้วยกรดอะมิโนประมาณ 70 ตัว มวลโมเลกุลของเอนไซม์แคลคเคส เมื่อหาโดยวิธี SDS-PAGE จะมีค่าอยู่ระหว่าง 60-90 kDa ในโมเลกุลมักพบร้าบีโภคทรีทเม้นท์ประมาณ 10-20% ของมวลโมเลกุล (Dedeyan and et al., 2000: 162) ค่า isolectric points (pl) มีค่าอยู่ระหว่าง 3-6 อย่างไรก็ตามเชื้อรากหลายชนิดสร้างแคลคเคสขึ้นมาหลาย isoforms บางครั้งพบแคลคเคสที่มี pl เป็นกลางหรือเบต้า่อนๆ เช่น ในเชื้อรา *Podospora anserine*, *Trametes villosa* (Fernandez-Larrea and Stahl, 1996: 1,821) และ *Pleurotus ostreatus* (Palrneri and et al., 1997: 31,302) เนื่องจากเอนไซม์กลุ่มนี้จะทำงานร่วมกับอาการและผลิตน้ำเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้ จึงทำให้เอนไซม์แคลคเคสได้ชื่อว่าเป็น Eco-Friendly Enzymes (Riva, 2006: 220)

### 2.2.1 แหล่งของเอนไซม์แคลคเคส

เอนไซม์ชนิดนี้พบในพืชชั้นสูง แมลงบางชนิด และเชื้อรา โดยเฉพาะจากพวงไกว์ทรอท (White-rot) เป็นราที่บ่อยสายการนำไปใช้เดรตและลิกนินในเนื้อไม้ได้เร็วและสมบูรณ์ แสดงให้เห็นว่าราในกลุ่มนี้ผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินไลติกได้ (ligninolytic enzyme) เอนไซม์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ แคลคเคส (Laccase) แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (Manganess peroxidase) ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (Lignin peroxidase) เป็นต้น อย่างไรก็ตามแคลคเคสเป็นเอนไซม์ที่ได้รับความนิยมมากกว่าเอนไซม์ตัวอื่นในกลุ่มลิกนินไลติก เนื่องจากสามารถถูกออกซิಡ้โดยใช้อกซิเจน ในขณะที่กลุ่มเปอร์ออกซิเดส จะอาศัยไออกไซด์เรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นโคแฟคเตอร์ และมีความจำเพาะเจาะจงต่อสารตั้งต้นมากกว่า

(Thurston, 1994: 24) เอนไซม์นี้เป็นได้ทั้ง Extra และ Intercellular enzyme ขึ้นอยู่กับแหล่งกำเนิดที่พบ

แลคเคสถูกศึกษามากในกลุ่มเชื้อรา เนื่องจากให้ปริมาณผลผลิตที่สูง ใช้ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสั้นกว่าพืชและแมลง จับกับสารตั้งต้นหลากหลายชนิด สามารถกำจัดสีเย็บได้ในหลายกลุ่ม เช่น แลคเคสจาก *Panua ruditis* 0.016 μg/ml สามารถกำจัดสีเย็บกลุ่มแอนทรัคโนนได้ 74% ในเวลา 30 นาที สีกลุ่มอะโซและอนิดิโกราไมด์ 26% และ 12% ตามลำดับ ใน 1 ชั่วโมง แลคเคสจาก *Cerrena unicolor* ถูกนำมาใช้ย่อยสลายสีเย็บในกลุ่มสีอะโซและแอนทรัคโนน, *Cyathus bulleri* ผลิตแลคเคสและถูกนำมาใช้ในการกำจัดสีเย็บเบสิกและสีแอกซิด ส่วนใหญ่มาในลักษณะของแลคเคสที่พบในกลุ่มเชื้อรากินน้ำตาล 59-110 kDa และองค์ประกอบของการใบไชเดรตเชื่อมต่อกันด้วยพันธะโควาเลนต์ 10-45% ทำให้เสียรากพืชของเอนไซม์เพิ่มขึ้น (Claus, 2004: 148) ปัจจุบันเอนไซม์แลคเคสยังพบในปีการิโอดิติกเซลล์พากแบคทีเรีย เช่น *Klebsiella pneumoniae*, *Streptomyces psammoticus*, *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas desmolyticum* (Thurston, 1994: 24)

## 2.2.2 โครงสร้างผลือของเอนไซม์แลคเคส

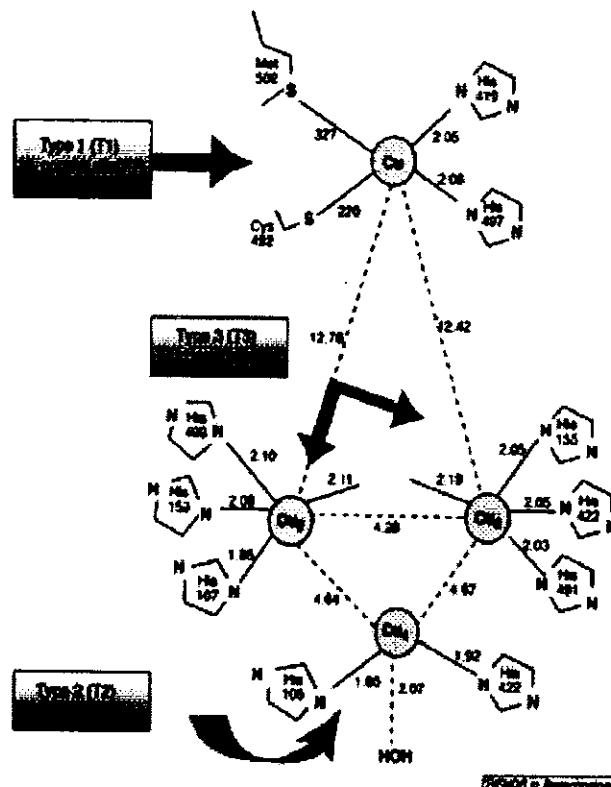
การศึกษาโครงสร้างผลือของแลคเคส (Laccase) ใช้ความละเอียดขนาด (Resolution)  $1.5 \text{ \AA}^\circ$  ใช้เทคนิคการแทนที่ของโมเลกุล โดยใช้รูปต้นแบบของแลคเคสจากเชื้อ *Coprinus cinereus* (pdb code : 1HFU) ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างโปรตีนแบบพับขาดง และเป็นโปรตีนก้อนที่รวมกับน้ำตาลเรียกว่า ไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) ที่มีขนาด  $70 \times 60 \times 50 \text{ \AA}^\circ$  โครงสร้างโมเลกุลที่มีการจัดเรียงโดเมน (Cupredoxin-like domains) ในแต่ละโดเมนมีการต่อแบบ Greek key  $\beta$ -barrel กับอะตอมของคอปเปอร์ 3 กลุ่มโดยโดเมนที่ 1 อยู่ในช่วง 1-141, โดเมนที่ 2 อยู่ในช่วง 142-303 และโดเมนที่ 3 อยู่ในช่วง 304-498 โครงสร้างโมเลกุลของแลคเคสมีความแข็งแรงและเสถียรมาก เนื่องจากการสร้างพันธะไฮโดรเจนชั้นไฟฟ์ระหว่าง Cys85 กับ Cys485 ของโดเมนที่ 1 และ 3 ตามลำดับ และระหว่าง Cys117 กับ Cys204 ในโดเมนที่ 1 และ 2 แสดงโครงสร้างแลคเคสที่คล้ายกับแลคเคสในกลุ่มเชื้อรา *Basidiomyceteous* และ *Trametes versicolor* ตำแหน่งที่เกิด N-glycosylation ประกอบด้วย 3-10 ตำแหน่ง มีการเกิด Glycosylation 5 พันธะ ที่เชื่อมต่อกันด้วย  $\alpha$ -linked ที่ Asn โดยที่ N-acetyl glucosamine 2 โมเลกุล และเชื่อมต่อกันด้วย  $\beta$ -linked จับกับ Asn โดย N-acetylglucosamine 3 โมเลกุล (Ryde and et al., 2007: 1,062)

2.2.2.1 กลุ่มคอปเปอร์ที่เป็นองค์ประกอบภายในโครงสร้างโมเลกุลของแลคเคส แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (Dooley, 1999: 3,074) ดังภาพที่ 2.1 คือ

1) กลุ่มคอปเปอร์ T1 (Type-1-copper) เป็นคอปเปอร์สีน้ำเงินที่มีอะตอมของคอปเปอร์อยู่แบบเดียว มีความสามารถในการ Absorbance อิเล็กตรอนที่ 610 นาโนเมตร

2) กลุ่มคอปเปอร์ T2 (Type-2-copper) เป็นคอปเปอร์ที่ไม่มีการ Absorbance อิเล็กตรอน แต่จะมีการสร้าง EPR ซึ่งเป็นสัญญาณของโปรตีนจะทำงานร่วมกับคอปเปอร์ T3

3) กลุ่มคอปเปอร์ T3 (type-3-copper) เป็นคอปเปอร์ที่มีอะตอมอยู่กันเป็นคู่ หมุนกับคู่ของคอปเปอร์ จะมีการ Absorbance อิเล็กตรอนที่ 330 นาโนเมตร



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของเอนไซม์แคลเคสจาก *Bacillus subtilis*.  
ที่มา: Dooley, 1999: 3,072

### 2.2.3 การตรึงเอนไซม์

การตรึงเอนไซม์ คือ การทำให้เอนไซม์ยึดเกาะอยู่กับสิ่งใดสิ่งหนึ่งที่ไม่ละลายน้ำ (Insoluble support) (Arica and et al., 2009: 1995) เอนไซม์ตรึงรูปนี้เมื่อใช้งานแล้ว สามารถทนความร้อนได้ดีกว่า สามารถแยกเอนไซม์ออกจากผลิตภัณฑ์หลังเกิดปฏิกิริยาได้ง่ายกว่า สามารถแยกนำกลับมาใช้งานได้อีกหลายครั้งจนกว่า ออกตัวตัวหรือความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จะลดต่ำลง และสามารถช่วยดำเนินระบบเครื่องปฏิกิริยารีวิวภาพได้อย่างต่อเนื่อง (Arica and et al., 2009: 1,996) ทำให้ประหยัดเวลาการใช้ในรูปเอนไซม์อิสระ และสามารถใช้ในสภาวะการทำปฏิกิริยาที่แตกต่างไปจากเอนไซม์อิสระดังเดิมได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการเลือกชนิดของตัวกลางที่ใช้จับยึด กับวิธีการตรึงรูป ดังนั้นจึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางมากกว่าการใช้เอนไซม์อิสระ ซึ่งจะต้องใช้สภาวะการทำปฏิกิริยาที่จุดหนึ่งที่เหมาะสมเท่านั้น เอนไซม์ตรึงรูปค่อนข้างจะมีเสถียรภาพที่ดีกว่าเอนไซม์ในรูปอิสระ สามารถใช้งานในระบบที่มีเอนไซม์หลายๆ ตัวได้ และใช้ได้ทั้งในลักษณะแบบต่อเนื่องหรือเป็นครั้งคราว เอนไซม์ที่จะนำมาตรึงรูปไม่จำเป็นต้องทำให้บริสุทธิ์มากนัก ก็สามารถทำงานได้ดีเหมือนเอนไซม์บริสุทธิ์ สำหรับเครื่องปฏิกิริยานั้นจะใช้กับเอนไซม์ตรึงรูปที่มีปัญหา เพราะสามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมได้ขึ้นอยู่กับรูปแบบของการตรึงรูปและสารที่เป็นสับสเตรท รูปแบบการตรึงเอนไซม์ ได้แก่ การตรึงแบบดักติด การตรึงเซลล์แบบการห่อหุ้ม การตรึงเซลล์แบบยึด และการตรึงเซลล์โดยการรวมตัวของเซลล์

### 2.2.4 เอนไซม์แลคเคสกับการประยุกต์ใช้งาน

ตารางที่ 2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์แลคเคสกับการประยุกต์ให้งาน

การประยุกต์ใช้งาน	ผลการศึกษา	อ้างอิง
- การบำบัดคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม	แลคแคลสสามารถลดปริมาณด่างจากอุตสาหกรรมเยื่อปอล่าได้จาก 15-20% เหลือ 6% โดยมีประสิทธิภาพสูงที่สุดภายใต้สภาวะการตรวจเอนไซม์	เลอคลักชณ์ จิตราตอนและชุรภา ธีระภัทรสกุล (2551)
- การย่อยสลายสารประกอบพืชนอกลิคในน้ำเสีย	แลคเคสมีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบพืชนอกลิคได้ ทำให้เหมาะสมสำหรับการกำจัดสีย้อมในกระบวนการบำบัดน้ำเสียเนื่องจากแลคเคสสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสับสเตรฟได้หลากหลาย	Maria Fernandez and et al. (2011)
- การตกแต่งยีนส์	DeniLite TM เป็นแลคเคสตัวแรกในอุตสาหกรรม การฟอกย้อมยีนส์จะเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการฟอกขาวตัวแรกที่ทำงานร่วมกับสารตัวกลาง	พิชิตพล เจริญทรัพยานันท์ (2550) อ้างอิงจาก Novozyme (1996)
- การตกแต่งยีนส์	แลคเคสบริสุทธิ์จาก <i>Trametes hirsute</i> และ <i>Sulerotum rofsii</i> สามารถย่อยสลายอินดิโกทึ้งในน้ำทิ้งและบนผ้าได้ โดยภายใต้สภาวะการทำงานร่วมกับสารเรดอกซ์ตัวกลาง	พิชิตพล เจริญทรัพยานันท์ (2550) อ้างอิงจาก Campos and et al. (2001)
- การสังเคราะห์สี	แลคเคสจาก <i>Pyniccelaria oryzae</i> สามารถสร้างสีอะโซดีแองโดยการเกิด oxidative coupling ของ 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone (MBTH) และพืชนอกลิคได้	พิชิตพล เจริญทรัพยานันท์ (2550) อ้างอิงจาก Setti and et al. (1993)
- การสังเคราะห์สี	แสดงให้เห็นว่า การเกิดออกซิเดชันของ ferulic acid โดยแลคเคสในตัวกลาง biphasic hydro-organic ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์สีเหลืองที่มีความเสถียร ซึ่งละลายในสารละลายอินทรีย์เท่านั้น การสังเคราะห์สีด้วยแลคเคสในตัวกลางนี้ปัจจุบันจะใช้สารประกอบ polyphenolic และสาร phenolic อื่นๆ	พิชิตพล เจริญทรัพยานันท์ (2550) อ้างอิงจาก Mustafa and et al. (2005)
- การกำจัดสีย้อมในน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรม	แลคเคสจาก <i>Pleurotus ostreatus</i> DOA 10 ที่ใช้เห็ดมันเป็นอาหารเลี้ยงสามารถกำจัดสีย้อม RBBR ได้ 91 % ในขณะที่กำจัด cibacron red H-B และ cibacron yellow W-R ได้เพียง 27 และ 52 % ตามลำดับ ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่ปริมาณกูลูโคส 3.0 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณแอมโมเนียมหาร์เฟต 0.13 เปอร์เซ็นต์ และขนาดของเห็ดมัน 0.3 – 2.0 มิลลิเมตร และมีจิกรรม	ทักษิณ ฤกษ์สำราญ (2552)

### ตารางที่ 2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์แลคเคลสกับการประยุกต์ใช้งาน (ต่อ)

การประยุกต์ใช้งาน	ผลการศึกษา	อ้างอิง
	เอนไซม์แลคเคลสสูงสุดที่ 1.72 ยูนิตต่อมิลิกรัม โปรตีน	
-การย้อมขนสัตว์	แลคเคลสสามารถย้อมผ้าขนสัตว์ได้ โดยพบว่าในการย้อมสีด้วยแลคเคลสใช้เวลาในการย้อมนานจะได้สีที่เข้มขึ้น ซึ่งตรงข้ามกับกระบวนการการปกติที่ทำโดยการเพิ่มปริมาณสี ทำให้การย้อมขนสัตว์ด้วยแลคเคลสประหยัดกว่ากระบวนการการปกติ ซึ่งใช้น้ำสารช่วยย้อม ลดและพลังงานจำนวนมาก	พิชิตพล เจริญทรัพยา นันท์ (2550) อ้างอิงจาก Shin and et al. (2001)
-การทำความสะอาดเส้นรอบ	เอนไซม์แลคเคลสสามารถใช้ในการตกแต่งเส้นรอบ เพื่อเพิ่มความสม่ำเสมอของเส้นด้วย โดยปฏิริยาเกิดภายในสภาวะที่มีรุนแรง ทำให้กระบวนการเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม	พิชิตพล เจริญทรัพยา นันท์ (2550) อ้างอิงจาก Sharma and et al. (2005)

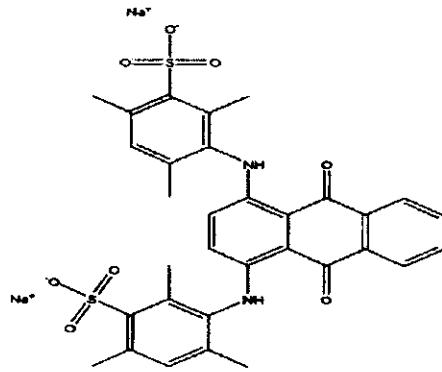
### 2.3 สีย้อม

สีย้อมเป็นสารเคมีที่สักดัดจากน้ำมันปิโตรเลียมหรือถ่านหิน เมื่อน้ำมันปิโตรเลียม หรือถ่านหินผ่านการสักดัดจะได้สารไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัว เช่น เบนซินไชลีนแอนตราซีโนโลจิอินแพทอลิน และพาราฟินซึ่งสารไฮโดรคาร์บอนเหล่านี้ จะถูกเปลี่ยนเป็นสีย้อมด้วยเทคนิคต่างๆ ซึ่งสีย้อมที่ผลิตขึ้นมา มีหลายชนิดขึ้นอยู่กับความเหมาะสมสมกับเส้นใย และกระบวนการย้อมที่มีลักษณะแตกต่างกันไป การที่จะนำสีย้อมใดๆ มาใช้ได้ผลต้องขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพการรวมตัวของสีกับเส้นใย ซึ่งต้องมีประสิทธิภาพมากกว่าน้ำ จึงจะสามารถทำให้เกิดสภาวะเช่นนี้ขึ้นได้เมื่อไม่เลกูลของสีย้อม มีหมู่อะตอมซึ่งถูกจัดให้เรียงตัวกัน ในลักษณะที่จะทำให้เกิดการดูดติดเส้นใยได้ลงกับเส้นใยแล้วเกิดพันธะยึดกันแน่น อาจกล่าวได้อย่างกว้างๆ ว่าอิทธิพลเชิงเคมี 4 ชนิดที่ทำให้สีดูดติดเส้นใย คือ พันธะไฮโดรเจน แรงแวนเดอว์ฟล์ส แรงไออ่อน และพันธะโควาเลนท์ กำลังแรงเหล่านี้มักไม่ทำหน้าที่เพียงลำพัง การดูดติดกันระหว่างไม่เลกูลของสีย้อมกับไม่เลกูลของเส้นใยอย่างน้อยต้องประกอบไปด้วย 2 ชนิดขึ้นไป บางครั้งก็อาจเกิดแรงทั้ง 4 ชนิดผสมผสานกัน สำหรับแรงยึดติดทางเคมีที่จะให้การยึดติดที่ดีที่สุด ได้แก่ พันธะโควาเลนท์ การเกิดสีของสีย้อม สีซึ่งปราภูมิอุมาทำให้ตามนุษย์ปกติมองเห็นได้เกิดจาก การเรียงตัวของกลุ่มอะตอม ประเภทหนึ่งภายในไม่เลกูลของสีย้อม กลุ่มอะตอมที่กล่าวนี้เรียกว่า “โครงโน้มฟอร์”

#### 2.3.1 แอซิດบลู 80

สีย้อมชนิด แอซิດบลู 80 เมื่อแบ่งตามโครงสร้างทางเคมี จัดอยู่ในกลุ่มแอนทราควีโนน Anthraquinone เป็นกลุ่มสีที่เกิดจากสารประกอบอินทรีย์ มีประจุลบ ละลายน้ำได้ดี ส่วนใหญ่เป็นเกลือของกรดกำมะถัน มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 678.691 g/mol ถูกค้นพบโดยกระวงสิงแวดล้อม และสุขภาพประเทศาคณาจารย์ เมื่อปี 1909 ในสิงแวดล้อมจะมีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต ซึ่งโครงสร้างโดยทั่วไปของสีย้อมชนิด แอซิດบลู 80 แสดงดังตารางที่ 2.2

## ตารางที่ 2.2 โครงสร้างทั่วไปของสีย้อมชนิด แอกซิคบล 80

ชื่อสารเคมี	แอกซิคบล 80
ชื่อทางเคมี	3,3'- [ (9,10-Dihydro-9,10-Dioxo-1,4-Anthracenediy)Diimino ] Bis [2,4,6-Trimethylbenzenesulfonic Acid],Disodium Salt
มวลโลเลกุล	678.691 g/mol
สูตรโครงสร้างทางเคมี	$C_{32}H_{28}N_2O_8S_2 \cdot 2Na$
ค่าความยาวคลื่นสูงสุด	626 นาโนเมตร
โครงสร้างทางเคมี	

### 2.3.2 ผลกระทบของสีย้อมต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิต

ผลกระทบของสีย้อมต่อสิ่งแวดล้อม กลุ่มอะtomต่างๆ จะเป็นตัวเพิ่มสีให้แก่สารประกอบอะโรมาติก โดยการดูดกลืนแอบสีขาวไว้บางແບບแสงและปล่อยออกมายังแอบแสง ทำให้มุขย์มองเห็นสีย้อมมีโภนสีแตกต่างกันไป และพบว่าสีย้อมเป็นสารที่ยากต่อการถ่ายตัวทางชีวภาพ แต่ความเป็นพิษต่อปลาค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญของสีย้อมในน้ำทึ้งปัจจุบันมีได้อยู่ที่ความเป็นพิษของสีย้อมแต่อยู่ที่สีของน้ำทึ้ง เนื่องจากสีย้อมเป็นสารที่มีสีเข้ม ดังนั้นมีสีอยู่ในน้ำเพียงปริมาณเล็กน้อย ก็สามารถทำให้น้ำมีสีเป็นที่รังเกียจของผู้พบรเห็นได้ จึงต้องมีการกำจัดสีของน้ำทึ้งก่อนปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อม

#### 2.3.2.1 ปัญหาที่เกิดจากสีย้อมในน้ำทึ้งจากโรงงาน สามารถสรุปได้ดังนี้

- 1) ก่อให้เกิดความไม่สุ่ยงามทางด้านทัศนียภาพ
- 2) สีย้อมที่เป็นสารอินทรีย์อย่างสลายได้ ทำให้ค่าออกซิเจนละลายน้ำลดลง
- 3) ขัดขวางการเดินทางของแสง ซึ่งจำเป็นต่อการสังเคราะห์แสงของพืช
- 4) การผลิตออกซิเจนลดลง เนื่องจากผลกระทบจากข้อ 3 ซึ่งส่งผลต่อสัตว์น้ำ
- 5) ความเป็นพิษของตัวสีย้อม บางชนิดเป็นสารก่อมะเร็ง
- 6) ทั้งหมดข้างต้นส่งผลให้สภาพของแหล่งน้ำไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต

## 6) ทั้งหมดข้างต้นส่งผลให้สภาวะของแหล่งน้ำไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต

ผลกระทบของสีย้อมต่อสิ่งมีชีวิต สีย้อมเคมีอาจเข้าสู่ร่างกายของผู้ใช้ได้ 3 ทาง คือ ทางการหายใจด้วยการสูดดมสีที่พุ่งกระจายอยู่ในอากาศ จากการสัมผัสทางผิวน้ำและจากการปะปนเข้าไปกับอาหาร สารบางชนิดในสีย้อมหากเข้าสู่ร่างกายจะไปสะสมอยู่ภายในอวัยวะต่างๆ จะก่อตัวเป็นสารก่อมะเร็ง เช่น 2-naphthylamine และ NH2Benzidine สีย้อมบางชนิด เช่น สี Azo เป็นสีที่ทำได้ง่ายและมีราคาถูก ซึ่งมีส่วนประกอบของโลหะหนักโครเมียมผสมอยู่ ถ้าทิ้งลงไปในน้ำจะเป็นอันตรายต่อปลาและสิ่งมีชีวิตในน้ำถ้าเข้าสู่ร่างกายมบุญจะเป็นสารก่อมะเร็ง

### 2.4 การแยกด้วยเยื่อกรอง

#### 2.4.1 กระบวนการกรองเยื่อกรอง

ปัจจุบันกระบวนการเยื่อกรองถูกนำมาประยุกต์ใช้ในหลาย ด้าน เช่น การบำบัดน้ำ การลดแบคทีเรียในน้ำดื่ม การแยกเกลือกออกจากน้ำทะเล การทำให้เข้าขันในผลิตภัณฑ์นม การผลิตน้ำผลไม้เข้มข้นและการทำน้ำผลไม้ให้มีความใส เป็นต้น ข้อดีของการกรองเยื่อกรอง คือ สามารถแยกสารละลายโดยไม่ต้องใช้สารเคมีในการกระบวนการแปรรูป สามารถกำจัดสิ่งปนเปื้อนได้หมด และค่าบำรุงรักษาน้อย

หลักการของกระบวนการกรองเยื่อกรองที่ใช้ความดันเป็นแรงขับดัน เคลื่อนสารเนื่องจากผลต่างของความดันระหว่างเยื่อกรอง (Transmembrane pressure: TMP) ส่วนตัวถูกละลายจะถูกเยื่อกรองกักไว้ เรียกว่า “รีเทนเทห” หรือ “สารละลายเข้มข้น (Concentrate)” ส่วนตัวที่ละลายและตัวถูกละลายบางส่วนที่ประกอบด้วยสารโมเลกุลขนาดเล็กที่ผ่านเยื่อกรองไปได้ เรียกว่า “เพอเมิเรจ” ส่วนที่นำไปใช้ประโยชน์อาจเป็นรีเทนเทห หรือทั้งสองส่วนเข้าอยู่กับความต้องการ การกรองโดยใช้เยื่อกรองระดับต่างๆ ได้แก่ ระดับไมโครฟิลเตชัน (Microfiltration: MF) อัลตราฟิลเตชัน (Ultrafiltration: UF) นาโนฟิลเตชัน (Nanofiltration: NF) และօสโมซิสผันกลับ (Reverse osmosis: RO)

#### 2.4.2 กระบวนการกรองแบบอัลตราฟิลเตชัน ( Ultrafiltration: UF )

เป็นกระบวนการที่ใช้เยื่อแผ่นที่มีรูพรุนขนาดเล็ก (Microporous) สำหรับแยกสารโมเลกุลใหญ่ คอลloid (Colloid) ออกจากน้ำและสารโมเลกุลเล็ก เยื่อแผ่นอัลตราฟิลเตชันมีขนาดรูพรุนประมาณ 2-20 nm (20-200 Å) แรงขับดันที่ใช้ในการแยกจะต่ำกว่าօสโมซิสผันกลับ คือ 100-800 kPa (1-8 atm) มีการใช้งานแยกสารหรือเพิ่มความเข้มข้นโปรดีน คอลloid การบำบัดน้ำทิ้ง ทำน้ำให้บริสุทธิ์ การทำน้ำผลไม้ให้ใส เป็นต้น

##### 2.4.2.1 หลักการพื้นฐาน

กระบวนการอัลตราฟิลเตชันเป็นกระบวนการแยกสารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน เอ็นไซม์ และแป้ง ออกจากน้ำและสารโมเลกุลเล็กอื่นๆ ตัวอย่างสารละลายที่อาจแยกหรือเพิ่มความเข้มข้นได้ โดยกระบวนการนี้ ได้แก่ น้ำนม น้ำผลไม้ สารละลายเอ็นไซม์ สารปฏิชีวนะและน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ เป็นต้น กระบวนการอัลตราฟิลเตชัน (UF) เป็นกระบวนการทางกายภาพ อาศัยแรงดันที่ต่ำเป็นแรงขับดันให้ของเหลวผ่านช่องว่างของเยื่อกรองในการแยกอนุภาคขนาดเล็กที่มี

ขนาดใหญ่ รวมทั้งแบคทีเรียและจุลทรรศน์ฯ ออกจากของเหลว กระบวนการอัลตราฟิลเตอร์ชัน (UF) เป็นกระบวนการที่สำคัญกระบวนการหนึ่ง เนื่องจากมีอัตราการผลิตน้ำสูงกว่ากระบวนการอื่นๆ ที่ความตันเดียว กัน น้ำที่ผ่านการกรองมีคุณภาพดีกว่าน้ำที่ได้จากการกระบวนการแยกหัวไป เช่น การตัดตะกอน การเหวี่ยงหนีศูนย์ การกรองทราย เป็นต้น นอกจากนี้สารมลพิษในน้ำส่วนใหญ่ จะมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 0.05–10 ไมโครเมตร ทำให้สามารถกำจัดได้โดยกระบวนการอัลตราฟิลเตอร์ชัน (UF) เนื่องจากขนาดอนุภาคดังกล่าวอยู่ในช่วงค่าที่กำหนดของกระบวนการอัลตราฟิลเตอร์ชัน (UF) พอดี

กระบวนการอัลตราฟิลเตอร์ชัน เป็นกระบวนการแยกด้วยเยื่อกรองที่มีขนาดรูพรุนของเยื่อกรองในช่วง 30-1,000 อังสตรอม ส่วนใหญ่ประยุกต์ใช้เพื่อยกอนุภาคหรือตัวละลายที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 1,000-500,000 Dalton ไม่ให้ผ่านเยื่อกรองออกไป จึงไม่ค่อยมีความแตกต่างในความตันของโนโนติกคร่อมเยื่อกรอง ดังนั้นจึงสามารถทำงานที่ความตันในช่วง 2-10 บาร์ (69-483 kPa หรือ 10-70 psi) เยื่อกรองอัลตราฟิลเตอร์ชันมักทำให้โครงสร้างเป็นแบบไม่สมมาตร โดยมีขนาดรูพรุน 30-400 อังสตรอม อยู่ที่ผิวน้ำเพียง 0.1-1.5 ไมครอน ส่วนขนาดของชั้นรองรับ มีขนาดใหญ่กว่าชั้นผิวอย่างมาก

การระบุลักษณะสมบัติของเยื่อกรองอัลตราฟิลเตอร์ชันเป็นเช่นเดียวกับเยื่อกรองไมโครฟิลเตอร์ชัน คือ ฟลักซ์ที่ผ่านเยื่อกรองขนาดรูพรุน ความพุ่น (Porosity) ลักษณะโครงสร้างของเยื่อกรอง (Morphology) ค่าการคงอยู่ของตัวละลาย (Retention factor) ค่า Molecular weight cutoff คุณสมบัติความชอบน้ำ/ไม่ชอบน้ำ ความแข็งแรงเชิงกล (Mechanical strength) เสถียรภาพต่อสารเคมีและความร้อน (Chemical and thermal stability) และสามารถทำความสะอาดด้วยสารเคมีได้ (Cleanability) พอลิเมอร์ที่ใช้เตรียมเป็นเยื่อกรองอัลตราฟิลเตอร์ชัน ได้แก่ พอลิชัลโ芬 เชลลูโลสแอกไซเดต พอลิพรอพิลีน ในลอน 6 พอลิเตトラฟลูออโรเอทิลีน พอลีไวนิลคลอไรด์ เป็นต้น รูปแบบของอัลตราฟิลเตอร์ชันมีดูลที่มีข่ายในห้องตลาดมีทุกลักษณะ ได้แก่ แบบแผ่นและกรอบ (Plate and frame) แบบห่อม้วน (Spiral wound) แบบห่อ (Tubular) และแบบเส้นใย (Hollow filter) ไม่ว่าจะเป็นโมดูลลักษณะใดก็ตามเพื่อให้มีการถ่ายโอนมวลมากที่สุด จำเป็นต้องให้มีความเร็วแนวสัมผัส (อัลตราแรงเฉือน) บริเวณผิวน้ำของเยื่อกรองสูง วิธีการที่ง่ายที่สุดคือ ให้สารป้อนไหลตามแนวทาง (Cross flow) กล่าวคือ สารป้อนมีแนวทางการไหลขนานกับผิวน้ำของเยื่อกรองและเพื่มอัตราผ่านเยื่อกรองในแนวตั้งจากกันเยื่อกรอง ดังตารางที่ 2.3 เป็นข้อมูลด้านคุณลักษณะของเยื่อกรองและกระบวนการอัลตราฟิลเตอร์ชัน

#### 2.4.2.2 กลไกการทำงานของกระบวนการอัลตราฟิลเตอร์ชัน (UF)

กลไกการทำงานของกระบวนการอัลตราฟิลเตอร์ชัน (UF) จะแตกต่างจากกระบวนการกรองแบบธรรมด้า (Conventional Filtration) คือ ในระบบการกรองแบบธรรมด้า เมื่อปล่อยให้น้ำไหลผ่านชั้นกรองอนุภาคแขวนลอยจะถูกกำจัด โดยจะติดค้างอยู่ที่ผิวของสารกรอง (Surface Filtration) หรือติดค้างในชั้นกรอง (In-Depth Filtration) ส่วนในกระบวนการอัลตราฟิลเตอร์ชัน (UF) อนุภาคแขวนลอยหรือสารอินทรีย์จะถูกกำจัดโดยจะติดค้างอยู่ในช่องว่างของเยื่อกรองเรียกว่า “กลไกการแยกสารแบบคัดขนาดอนุภาค (Sieve Mechanism)” สำหรับสารอินทรีย์ เช่น โปรตีน แบคทีเรีย อนุภาคแขวนลอย อาจถูกกำจัดด้วยกลไกการดูดติดผิวน้ำของเยื่อกรองหรือภายในโครงสร้าง ชั้นอนุญัติที่ทำเยื่อกรองคือ วัสดุชนิด Hydrophobic จะมีสมบัติในการดูดติด

### ตารางที่ 2.3 กระบวนการอัลตราฟิลเตชัน (Ultrafiltration processes)

Ultrafiltration	
Membrane	Symmetric or Asymmetric
MWCO	$10^3$ - $10^6$ Da
Driving force	2-10 bar
Separation principle	Seiving mechanism
Separation goal	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Solution</li> <li>- Fractionation</li> <li>- Concentration</li> </ul>
Application	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Analytical application</li> <li>- Sterilization (food and pharmaceuticals)</li> <li>- Ultrapure water (semiconductors)</li> <li>- Clarification (beverage)</li> </ul>

ที่มา: Kovasin, 2002: 27

#### 2.4.2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของกระบวนการอัลตราฟิลเตชัน (UF)

เนื่องจากกลไกการกำจัดอนุภาคของกระบวนการอัลตราฟิลเตชันเป็นการกรองแบบคัดขนาด ดังนั้นปัญหาที่มักเกิดขึ้นในการทำงาน คือ การอุดตันที่เกิดจากสิ่งปรุงต่างๆ ที่อยู่ในน้ำ ทำให้อัตราการผลิตน้ำ (Permeate flux) และอายุการใช้งานของเยื่อกรองลดลง ซึ่งปัจจัยต่างๆ มีดังนี้

1) ลักษณะสมบัติของน้ำดิน ความเข้มข้นและชนิดของสารอินทรีย์ในน้ำจะมีผลถึงลักษณะสมบัติ ของน้ำที่จะผ่านเยื่อกรองโดยตรง ไม่เลกุลสารอินทรีย์ที่ติดค้างจะทำปฏิกิริยา กับเยื่อกรอง เช่น ดูดติด เกิดเจลขึ้นที่บริเวณผิวของเยื่อกรอง กับความด้านทานการไหลที่ต่างๆ กัน องค์ประกอบของสารอินทรีย์ในน้ำจะแตกต่างกันในแต่ละแห่ง และเปลี่ยนแปลงเป็นบางครั้งในแหล่งเดียวกัน

2) วัสดุที่ใช้ทำเยื่อกรอง วัสดุที่ใช้ทำเยื่อกรองขนาดของรูพรุนของเยื่อกรอง และการกระจายขนาดรูพรุนในเยื่อกรองมีผลต่อลักษณะการอุดตันในกระบวนการอัลตราฟิลเตชัน (UF) วัสดุที่ใช้ทำเยื่อกรองแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ วัสดุที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) และวัสดุที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) โดยเยื่อกรองชนิดที่ชอบน้ำจะดูดซับสารอินทรีย์น้อยกว่าเยื่อกรองแบบไม่ชอบน้ำ ด้วยเหตุนี้จึงสามารถกล่าวได้ว่า การเกิดการอุดตันจะขึ้นอยู่กับชนิดของสารอินทรีย์ในน้ำ และชนิดของวัสดุที่ใช้ทำเยื่อกรอง

3) การปรับสภาพน้ำเบื้องต้น สารปนเปื้อนที่พบรูปในแหล่งน้ำธรรมชาติ แบ่งเป็น 4 ประเภท คือ อนุภาคแขวนลอย (ส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์แต่จะรวมถึงสารอินทรีย์ด้วย) เกลือ อนินทรีย์ละลาย สารอินทรีย์ละลายจุลชีพ ซึ่งสารเหล่านี้จะทำให้เกิดการอุดตันของเยื่อกรอง และอัลตราการผลิตน้ำลดลง วิธีการป้องกันการอุดตันอาจทำได้โดยการปรับสภาพน้ำก่อนเข้าสู่กระบวนการ

อัลตราการผลิตน้ำคลดลง วิธีการป้องกันการอุดตันอาจทำได้โดยการปรับสภาพน้ำก่อนเข้าสู่กระบวนการอัลตราฟิลเตอร์ชั้น (UF) ได้แก่ การกำจัดอนุภาคแขวนลอยขนาดใหญ่ การเติมสารโคอกอกแลนด์หรือผงถ่านกัมมันต์ การปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ

4) ความดัน การเพิ่มแรงดันมากขึ้นจะทำให้อัตราการผลิตน้ำและคุณภาพน้ำได้ดีขึ้น แต่ถ้าแรงดันเพิ่มขึ้นจนเกินขีดจำกัดจะทำให้อนุภาคและโครงสร้างต่างๆ ที่สะสมบริเวณผิวน้ำของเยื่อกรองอุดตัวกันแน่นจนทำให้ค่าพลาสติกลดลง และอาจทำลายโครงสร้างภายในของเยื่อกรองจนไม่อาจคืนสภาพการกรองน้ำได้ดังเดิม

5) ความเร็วของการไหลของของเหลว การไหลของของเหลวด้วยความเร็วสูงผ่านเยื่อกรองทำให้เกิดแรงเฉือน ซึ่งจะช่วยลดการอุดตันที่ผิวน้ำของเยื่อกรองทำให้อัตราการผลิตน้ำสูงขึ้น ในการประยุกต์ใช้อัตราการเกิดแรงเฉือนสามารถควบคุมโดยปั๊มและรูปร่างทางเรขาคณิตของเยื่อกรองได้

#### 2.4.3 ชนิดโมดูลของเยื่อกรอง

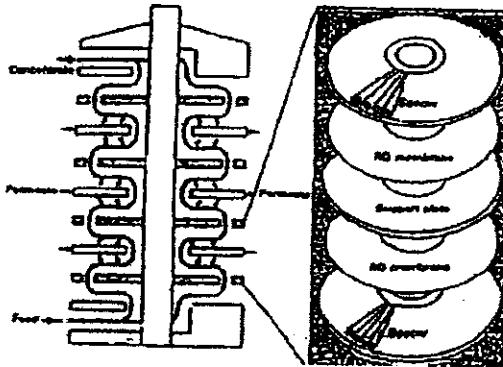
อุปกรณ์ในกระบวนการแยกสาร คือ โมดูล (Modules) หรือแผ่นกรอง (Cartridges) การใช้เยื่อกรองต้องคำนึงหลักสำคัญ 2 ประการ คือ (1) เลือกใช้ให้ถูกต้องตามระดับของเยื่อกรอง (2) โมดูลต้องออกแบบให้ทั้งตัด สามารถบรรจุแผ่นเยื่อกรองมากที่สุด เพื่อผลประโยชน์ที่สุด ซึ่งมีพื้นที่ผิวสำหรับแลกเปลี่ยนต่อปริมาตรมากที่สุด จากเหตุผล 2 ประการนี้จะนำไปสู่การลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำต่อปริมาตร แต่เพิ่มค่าใช้จ่ายในการใช้พลังงานในการแยกสาร เนื่องจากความเร็วหมุนเวียนสูง มีพื้นที่หน้าตัดเล็กทำให้มีการสูญเสียแรงดันมากขึ้น ซึ่งจะต้องหาจุดที่คุ้มค่าที่สุด แต่โมดูลที่ใช้ต้องคำนึงถึงความต้องการอื่นๆ อีก เช่น ง่ายต่อการทำความสะอาด และง่ายต่อการซ่อมแซมและเปลี่ยนโมดูล

โมดูลในห้องทดลองแบ่งเป็นประเภทใหญ่ๆ ได้ 4 ประเภท คือ แบบแผ่น (Plate type) แบบห่อ (Turbular) แบบม้วน (Spiral wound) แบบเส้นไยกลวง (Hollow fibers) เยื่อกรองใช้งานส่วนใหญ่ในการทำน้ำให้บริสุทธิ์ แต่ในสาขาอื่นเยื่อกรองถูกใช้ในการบำบัดน้ำทิ้ง ระบบชีวภาพ การคืนสภาพโลหะหนัก ลดน้ำในตัวละลาย และการคืนสภาพของสีการเจริญเติบโตของการใช้เยื่อกรอง ตอบสนองทั้งด้านเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อม กระบวนการเยื่อกรองไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมีรุนแรง สามารถใช้ได้ในอุณหภูมิห้อง ตั้งแต่น้ำในสิ่งน้ำที่มีการปนเปื้อน และใช้พื้นที่อย่างมีประสิทธิภาพ จากที่กล่าวมาจึงทำให้เยื่อกรองมีความน่าสนใจทั้งในด้านเศรษฐศาสตร์ มีความหลากหลายเนื่องจาก การจัดเรียงภายในของโมดูล และเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใย

ในการนำเยื่อกรองมาใช้จริง จำเป็นต้องมีการบรรจุแผ่น (Hollow fibers) ในวัสดุรองรับ ที่เรียกว่าโมดูลให้สอดคล้องในการนำไปใช้งาน ซึ่งโมดูลที่ใช้กันในปัจจุบันพบอยู่ 4 ลักษณะ ได้แก่

##### 2.4.3.1 แบบแผ่น (Plate and Frame Module)

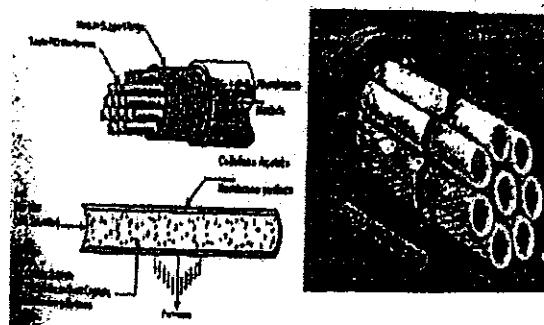
เทคนิคนี้เป็นการจัดแผ่นเยื่อกรองที่ง่ายที่สุด โมดูลที่ใช้จะมีลักษณะทำงานคล้ายเครื่องกรองที่ใช้แรงดันอัด ตั้งภาพที่ 2.2 แผ่นเยื่อกรองวางอยู่บนแผ่นรองรับชั้นรูพรุน (Porous Plate) หรือแผ่นรองรับที่มีร่องให้น้ำไหลออกได้ เยื่อกรองและแผ่นรองรับจะวางซ้อนกันและสลับกัน น้ำถูกบังคับให้ซึมผ่านเยื่อกรอง และแผ่นรองรับแล้วจึงไหลออกจากโมดูล



ภาพที่ 2.2 ไม้ดูดแบบแผ่น  
ที่มา: Osamu, 2001: 18

#### 2.4.3.2 แบบห่อ (Tubular Module)

วิธีนี้เป็นการม้วนแผ่นเยื่อกรอง ให้เป็นหลอดหรือห่อขนาดเล็ก และยึดติดไว้ภายในห้องอันหนึ่งที่ทำด้วยสแตนเลส หรือไฟเบอร์กลาส ดังภาพที่ 2.3 และทำหน้าที่เป็นโครงสร้างรองรับแผ่นเยื่อกรองไม้ให้เข้าหากันในระหว่างการใช้งาน และใช้เป็นทางออกของน้ำสะอาดด้วย น้ำดิบจะถูกสูบผ่านเข้าไปในห่อด้วยความดันแรงดันของน้ำทำให้ไม้เลกูล้น้ำสามารถซึมผ่านเยื่อกรองและห่อรองรับออกไปสู่ภายนอก เนื่องจากเทคนิคนี้สามารถทำความสะอาดได้ง่ายจึงนิยมใช้ในกรณีที่มีการอุดตันเกิดขึ้นเร็ว

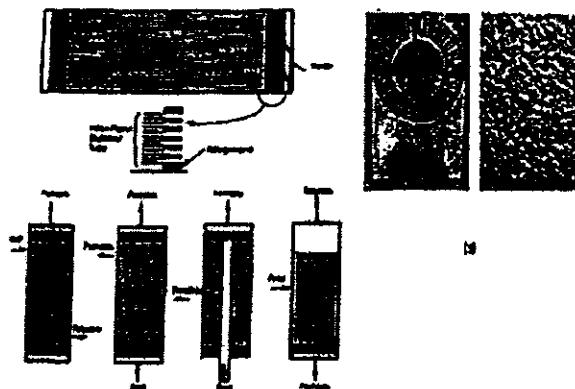


ภาพที่ 2.3 ไม้ดูดแบบห่อ  
ที่มา: Osamu, 2001: 18

#### 2.4.3.3 แบบเส้นไยกลวง (Hollow Fiber Module)

เยื่อกรองเป็นเส้นไยกลวงจะมีผิวคล้ายฟองน้ำล้อมรอบผิวชั้นใน (ซึ่งมีความหนาเพียง 0.1 ไมครอน) ทำโดยการนำเยื่อกรองแบบเส้นไยกลวงมาดัดรวมกันเป็นมัดๆ และอพัพเป็นรูปเกือกม้าหรือตัวยู ปลายทั้งสองข้างของเส้นไยถูกนัด ถูกตรึงติดต่อกันด้านในเดียวกันนี้ เยื่อกรองชนิดนี้หมายความว่าหัวน้ำดิบที่มีความสกปรก หรือของแข็งเจือปนสูง เพราะว่ามีช่องว่างขนาดใหญ่ ทำให้มีโอกาส

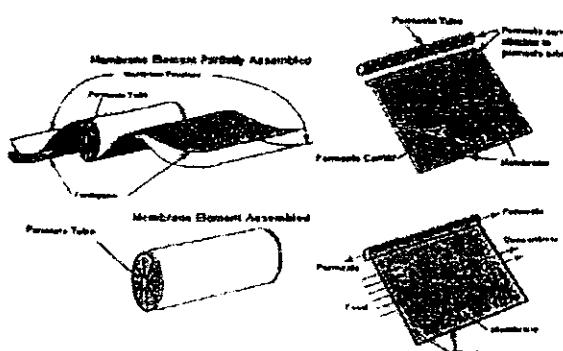
อุดตันได้น้อย และยังสามารถจัดรูปแบบการวางโมดูลได้หลายลักษณะและป้อนน้ำเข้าได้หลายลักษณะ ดังภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 โมดูลแบบเส้นไขกลวง  
ที่มา: Osamu, 2001: 18

#### 2.4.3.4 แบบม้วน (Spiral Wound Module)

โมดูลแบบนี้ประกอบด้วยเยื่อกรองสองแผ่นประกอบกัน โดยมีแผ่นวัสดุเนื้อพรุน สอดอยู่ตรงกลางระหว่างเยื่อกรองทั้งคู่ จากนั้นม้วนแผ่นแบบและแผ่นวัสดุทึ้งสามารถห่อเจาะรู ดังในภาพที่ 2.5 โดยมีแผ่นตะแกรงทำด้วยโพลิโพฟลีนคลุมปิดด้านนอก ขอบของแผ่นเยื่อกรองทึ้งสามารถด้านถูกยืดได้ด้วยการพิเศษ ขอบที่เหลือปล่อยให้เปิดตามปกติและซึ่งติดกับห่อเจาะรู ลักษณะเช่นนี้ทำให้ถูกน้ำบังคับให้ไหลไปยังห่อเจาะท่อละรูเสมอ การม้วนเยื่อกรอง แผ่นรองรับและตะแกรงพลาสติก ทำให้ได้โมดูลรูปทรงกระบอกที่สามารถบรรจุในห้องระบบกรองได้ โมดูลแบบนี้อาจมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 5 10 20 หรือ 30 เซนติเมตร และมีความยาวต่างๆ กัน แต่มักไม่เกิน 1 เมตร น้ำดิบจะถูกบังคับให้ไหลในแนวแกนของโมดูลเข้าไปตามแผ่นตะแกรง และจะถูกแรงดันอัดให้น้ำซึ่งผ่านเยื่อกรองตามแนวรัศมีล็อกไปยังแผ่นรองรับ ซึ่งจะส่งน้ำบริสุทธิ์ไปยังห่อเจาะรูเพื่อนำน้ำออกจากโมดูลต่อไป



ภาพที่ 2.5 โมดูลแบบม้วน  
ที่มา: Osamu, 2001: 18

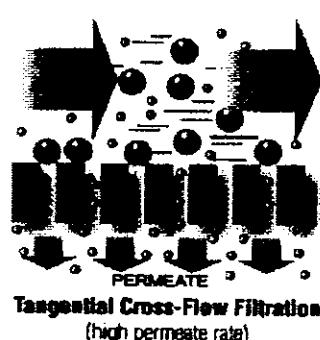
กระบวนการเยื่อกรองสามารถแบ่งกระบวนการกรองตามรูปแบบดำเนินการกรองและทิศทางการไหลของสารป้อนเป็น 2 รูปแบบ คือ

1) การกรองแบบปิดตาย (Dead-end filtration)

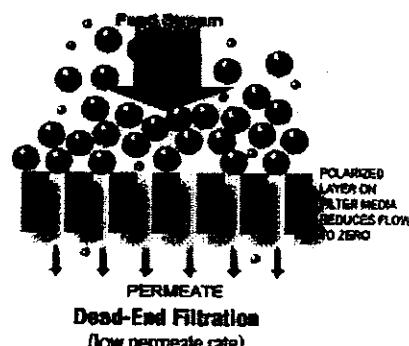
การกรองแบบปิดตาย เป็นการป้อนสารละลายในทิศทางตั้งฉากกับเยื่อกรอง (ภาพที่ 2.6 (ข)) ทำให้เกิดการสะสมของอนุภาคบนผิวน้ำแผ่นเยื่อกรอง เรียกว่า เคลก (cake) ที่ส่งผลให้ค่าฟลักซ์ (flux) ลดลงทันทีและมีความต้านทานของการกรองเพิ่มขึ้น การกรองแบบนี้จะเหมาะสมสำหรับสารละลายที่มีความเข้มข้นไม่มากนัก หรืออาจใช้ในการแยกสารละลายในปริมาณน้อยเพื่อการวิเคราะห์

2) การกรองแบบไหลขวาง (Cross-flow filtration)

การกรองแบบไหลขวาง ป้อนสารละลายในทิศทางขนานกับเยื่อกรอง หรือตั้งฉากกับทิศทางการไหลของเพอเมจิเจ (ภาพที่ 2.7 (ก)) การกรองแบบไหลขวางสามารถลดการสะสมของอนุภาคที่ผิวน้ำเยื่อเยื่อกรองได้ มีความเหมาะสมกับสารละลายที่มีความเข้มข้นสูง และนิยมใช้กันมากในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากสามารถลดความเข้มข้นสะสม (Concentration polarization) และการเกิดเค็มน้ำผิวน้ำเยื่อกรอง และใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณมากได้



(ก) การกรองแบบไหลขวาง



(ข) การกรองแบบปิดตาย

ภาพที่ 2.6 รูปแบบกระบวนการเยื่อกรอง

จากลักษณะของการกรองทั้ง 2 แบบ ทำให้เกิดการอุดตันของเยื่อกรองและมีผลต่อการซึมผ่านเยื่อกรอง ซึ่งการอุดตันมีลักษณะดังจะกล่าวต่อไปนี้

#### 2.4.4 ลักษณะการอุดตันบนเยื่อกรอง

การอุดตันบนเยื่อกรองมีผลต่อการกรองเป็นอย่างมาก หากเกิดการอุดตันแล้วจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกรองบนแผ่นเยื่อกรอง จะทำให้ฟลักซ์ที่ผ่านเยื่อกรองมีค่าลดลง (Flux decline) ซึ่งสิ่งที่เกิดขึ้นดังที่จะกล่าวต่อไปเป็นผลซึ่งนำไปสู่การอุดตันได้ ดังนี้

##### 2.4.4.1 สิ่งที่นำไปสู่การอุดตันบนเยื่อกรอง

- 1) ปรากฏการณ์คอนเซนตรेशันโพลาไรเซชัน (Concentration Polarization: CP) เป็นปรากฏการณ์ที่พบรโดยทั่วไปบนเยื่อกรอง คือ การสะสมอนุภาคหรือโมเลกุลของตัวกรุกละลายที่บริเวณผิวของเยื่อกรองภายในชั้น Boundary Layer ซึ่งเป็นชั้นที่ใกล้ผิวน้ำของเยื่อกรองโดย CP

จะเกิดในสารละลายไปสิ้นสุดที่ผิวน้ำเยื่อกรอง ซึ่งในขั้นนี้จะเป็นอิสระและขัดขวางการไหลผ่านเยื่อกรอง ความเข้มข้นบริเวณผิวน้ำเยื่อกรอง (Cw) นี้จะมีความเข้มข้นสูงกว่าบริเวณท่อญี่ห่างออกไป (Cb)

2) การเกิดชั้นเจล (Gel Layer) เป็นชั้นของโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ที่สุดอยู่บริเวณผิวน้ำของเยื่อกรองพบมากในกระบวนการอัลตราพิลเตอร์ชั้น เมื่อความเข้มข้นของสารตั้งตัวที่ผิวน้ำของเยื่อกรองสูงขึ้นอาจถึงขีดจำกัดของสารละลายที่สามารถถ่ายได้ ( $Cg = \text{Gel concentration}$ ) ของสารตัวนั้นๆ ซึ่งตัวถูกละลายอาจมีลักษณะคล้ายกับเจลที่เกิดขึ้นบนผิวน้ำเยื่อกรองทำให้ความต้านทานการไหลน้ำสูงมากขึ้นกว่าเดิม และยังทำให้ค่า Recovery ของสารเยื่อกรองเปลี่ยนไปด้วย การเกิดชั้นเจลสามารถทำให้ค่าฟลักซ์เพิ่มขึ้นได้โดยการเปลี่ยนสภาพการทำงานหรือการล้างน้ำ ซึ่งเป็นกระบวนการที่ผันกลับได้บ้าง

3) การเกิดชั้นเคก (Cake Formation) เป็นกลไกที่มีความใกล้เคียงกันในการเกิดของชั้นเจล แต่มีความแตกต่างกันระหว่างเคกและเจลอยู่ที่เคกเป็นการสะสมเป็นชั้นอนุภาคของสารหรือสารแขวนลอย แต่เจลเป็นการสะสมของสารโมเลกุลขนาดใหญ่ ถ้าในสารมีอนุภาคที่มีขนาดเล็กและใหญ่ปนกันอยู่ อนุภาคขนาดเล็กจะถูกสะสมในรูพรุนของเยื่อกรองจนแน่น ต่อจากนั้นจะเกิดการสะสมของอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ตามมา แล้วเกิดเป็นเคกที่บริเวณผิวน้ำของเยื่อกรอง ซึ่งเมื่อวัดความหนาแล้วเจลจะมีความหนาในระดับไมโครเมตรแต่เคกจะมีความหนาเป็นมิลลิเมตร

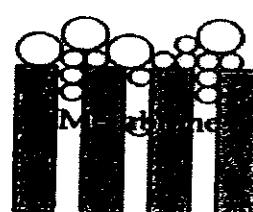
4) การอุดตันรูพรุน (Pore Blockage) คือ การอุดตันรูพรุนของแผ่นเยื่อกรอง ซึ่งลักษณะการเกิดการอุดตันของแผ่นเยื่อกรองที่มีรูพรุนขนาดต่างๆ เมื่อเทียบกับตัวถูกละลาย

4.1) ถ้าเยื่อกรองมีขนาดรูพรุนที่แน่น และมีขนาดเล็กกว่าตัวถูกละลายเล็กน้อยจะทำให้เกิดการอุดตันที่รูพรุนก่อน ต่อจากนั้นจะเริ่มสะสมที่บริเวณผิวน้ำของเยื่อกรอง ส่วนมากจะมีการอุดตันบนผิวน้ำของเยื่อกรองเป็นส่วนใหญ่

4.2) ถ้าเยื่อกรองมีขนาดรูพรุนที่ใหญ่กว่าตัวถูกละลายเล็กน้อย ทำให้เกิดการอุดตันภายในรูพรุนก่อนแล้วต่อจากนั้นจะเกิดการสะสมบริเวณผิวน้ำของเยื่อกรอง ส่วนมากจะมีการอุดตันภายในรูพรุนก่อนและต่อจากนั้นจะเกิดการสะสมบริเวณผิวน้ำของเยื่อกรอง

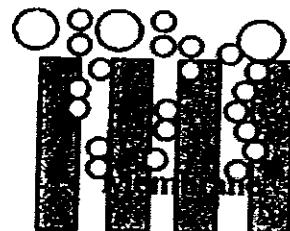
#### 2.4.4.2 ลักษณะของการอุดตันแบบ Complete Pore Blocking

1) Complete Pore Blocking เป็นการลดลงของฟลักซ์ เนื่องจากมีอนุภาคตกลงก่อนและค้างบนผิวเยื่อกรองเกิดการปิดทับรูพรุนของเยื่อกรอง ทำให้จำนวนรูพรุนของเยื่อกรองลดลงแสดงในภาพที่ 2.7 และสามารถคำนวณค่าการอุดตัน



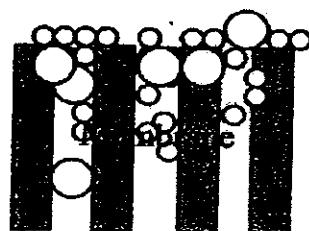
ภาพที่ 2.7 ลักษณะการอุดตันแบบ Complete Pore Blocking  
ที่มา: ขันทอง สุนทรภากา, 2545: 22

2) Pore Constriction or Standard Blocking เป็นการลดลงของฟลักซ์เนื่องจากเกิดการตุดชับบริเวณผิวของเยื่อกรองและรูพรุนของเยื่อกรองมีขนาดลดลง ดังภาพที่ 2.8 และสามารถคำนวณค่าการอุดตัน



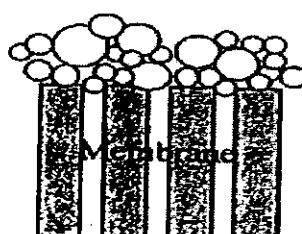
ภาพที่ 2.8 ลักษณะการอุดตันแบบ Pore Constriction or Standard Blocking  
ที่มา: ขั้นทอง สุนทรภaga, 2545: 22

3) Intermediate Blocking เป็นการลดลงของฟลักซ์ เนื่องจากเกิดการตุดชับของอนุภาคบนผิวน้ำของเยื่อกรองในช่วงระยะเวลา หรืออนุภาคอาจปิดบางส่วนของผิวน้ำเยื่อกรองทำให้ขั้นความหนาของการกรองเพิ่มมากขึ้น แสดงในภาพที่ 2.9 และสามารถคำนวณค่าการอุดตัน



ภาพที่ 2.9 ลักษณะการอุดตันแบบ Intermediate Blocking  
ที่มา: ขั้นทอง สุนทรภaga, 2545: 22

4) Cake Formation Model เป็นการเกิดก้อนแข็งบนผิวของเยื่อกรอง เนื่องจากความเข้มข้นของสารอินทรีย์มีค่ามากขึ้นซึ่งมีผลทำให้ฟลักซ์ลดลง แสดงในภาพที่ 2.10 และสามารถคำนวณค่าการอุดตัน



ภาพที่ 2.10 ลักษณะการอุดตันแบบ Cake Formation Model  
ที่มา: ขั้นทอง สุนทรภaga, 2545: 23

#### 2.4.5 ปัจจัยที่ก่อให้เกิดการอุดตันบนเยื่อกรอง

สิ่งที่มีผลที่ก่อให้เกิดการอุดตันบนเยื่อกรองและทำให้ค่าฟลักซ์ลดลงนั้นมีหลายปัจจัย ด้วยกัน ซึ่งปัจจัยเริ่มต้นมาจากคุณภาพของน้ำที่นำมาผ่านเยื่อกรองคุณลักษณะของเยื่อกรองความดัน ความเข้มข้นของสารละลาย ความแรงประจุ (Ionic Strength) ค่าพิเศษและอุณหภูมิของสารละลาย ขนาดหน้าแน่นไมโครกรูลของสาร ลักษณะการกรองผ่านเยื่อกรองเป็นต้น

2.4.5.1 รูพrun ขนาดของรูพrun หมายถึง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางหรือขนาดความกว้าง ของรูพrun ดังนั้น เยื่อกรองแบบไมโครพิลเทอร์ชนิดว่ามีรูพrunขนาดใหญ่ สำหรับอัลตราพิลเทอร์ชน เป็นขนาดกลาง ถ้าขนาดรูพrunเล็กกว่า 2 นาโนเมตร นิยมเรียกว่า เยื่อกรองแบบแน่นมากกว่าที่ เรียกว่ามีรูพrunขนาดเล็ก

2.4.5.2 ประจุหรือความมีชาร์จของเยื่อกรองจากการที่อัตราการไหลและค่า Recovery ขึ้นอยู่กับอันตราริยาระหว่างเยื่อกรองและตัวถูกละลาย ทำให้ผู้ใช้ต้องมีความเข้าใจและสามารถที่จะ เลือกเยื่อกรองให้เหมาะสมกับตัวถูกละลายที่ต้องการจะทำการแยก เช่น เชลลูโลสอะซิตेटและโพลี เอโอมิเดจะแสดงความเป็นชาร์จเล็กน้อย ในขณะที่โพลิเมอร์อื่นๆ อาจจะมีคุณสมบัติที่เป็นกลาง

2.4.5.3 ความดันสารละลายที่ประกอบด้วยสารไม่เลกุลขนาดใหญ่ที่สามารถเกิดเจลได้ ที่ความเข้มข้นสูง จะมีผลต่อความดันของฟลักซ์ คือ ฟลักซ์จะเพิ่มขึ้นกับความดันในช่วงแรกหรือก่อน การเกิดเจลและในช่วงเกิดเจล แรงดันที่เพิ่มขึ้นทำให้ชั้นเจลอัดแน่น ฟลักซ์จึงไม่เพิ่มขึ้นแต่มีแนวโน้ม คงที่ ส่วนของการกักสารจะขึ้นอยู่กับลักษณะของชั้นเจล ส่วนระบบที่ความเข้มข้นต่ำและตัวถูกละลาย ไม่สามารถเกิดเจลได้ การเพิ่มความดันทำให้ฟลักซ์เพิ่มขึ้น แต่อัตราการเพิ่มมักจะช้าลงในช่วงความดัน สูงขึ้น เนื่องจากผลของ CP

2.4.5.4 ความชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ (Hydrophilicity and Hydrophobicity) เยื่อกรอง ที่มีคุณสมบัติชอบน้ำจะให้มุมสัมผัส (Contact angle) ที่เกิดขึ้นระหว่างผิวน้ำของเยื่อกรองกับเส้น สัมผัสหยดน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 0-90 องศา โดยค่ามุมสัมผัสที่ต่ำกว่าแสดงว่าสามารถทำให้เยื่อกรอง เปียกน้ำได้มากขึ้น เยื่อกรองที่ชอบน้ำมากๆ ทำให้มีเลกุลน้ำมารวมกันเกิดเป็นชั้นน้ำบริสุทธิ์ที่ผิวน้ำ ของเยื่อกรองขณะเดียวกันจะหลักไมโครกรูลของสารอื่นให้ห่างออกไปจากผิวน้ำของเยื่อกรองจึงเกิด การถ่ายโอนเฉพาะไม่เลกุลน้ำผ่านเยื่อกรองออกไปทางรูพrun หรือในกรณีของเยื่อกรองแบบเนื้อแน่น จะเกิดการดูดซับไม่เลกุลน้ำเข้าไปในเนื้อเยื่อกรองและแพร่ผ่านเยื่อกรองออกไปอีกด้านหนึ่ง ส่วน อนุภาคที่แขวนลอยในน้ำมักมีสมบัติไม่ชอบน้ำ มีแนวโน้มชอบจับตัวกันเป็นอนุภาคคลอลอยด์ (Colloidal particle) และชอบที่จะเข้าจับติดกับผิวเยื่อกรอง ส่งผลให้สมบัติความชอบน้ำของเยื่อ กรองเสียไปทำให้เกิดการอุดตันของรูพrunบนเยื่อกรองเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า “ความสกปรกของผิว (Fouling)” (ขันทอง สุนทรภา, 2545: 26)

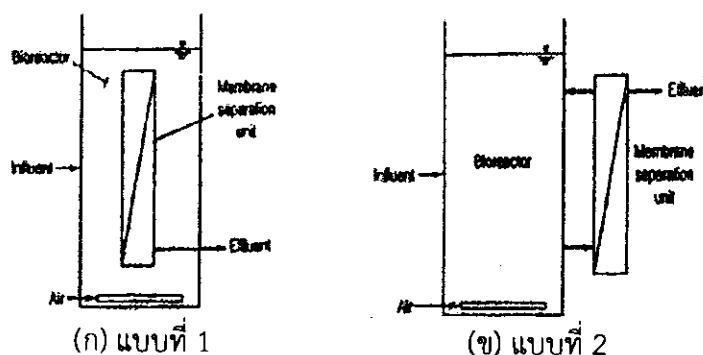
2.4.5.5 ความเข้มข้นของสารละลาย ความเข้มข้นมีผลต่อการอุดตันของเยื่อกรอง จาก การเกิด Concentration polarization ชั้นของสารที่สัมผัสผิวน้ำของเยื่อกรองคือ ชั้น Boundary Layer หากสารละลายมีความเข้มข้นมากการสะสมของสารละลาย เช่น สารอินทรีย์จะไปตกอยู่ใน ชั้นนี้ ทำให้ผิวน้ำของเยื่อกรองมีความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูงกว่าบริเวณที่ห่างจากผิวน้ำของ เยื่อกรองออกไป หากไม่มีความปั่นป่วนเกิดขึ้นบริเวณผิวน้ำของเยื่อกรอง จะทำให้เกิด Concentration polarization ได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งส่งผลต่อการอุดตันตามมาต่อไป

2.4.5.6 พีอีชและอุณหภูมิของสารละลายน การเพิ่มอุณหภูมิของน้ำแต่ละองศาในช่วง 15-30 องศาเซลเซียส ช่วยให้อัลตราการซึมผ่านเยื่อกรองมีค่ามากขึ้นตามไปด้วยประมาณ 3-5% เพราะอุณหภูมิมีผลต่อความหนืดของน้ำ ค่าพีอีชของสารอินทรีย์ธรรมชาติมีผลต่อความดัน ออสโมติกที่ค่าพีอีช 4 มีค่าต่ำกว่าที่พีอีช 7 และ 10 จึงทำให้น้ำสามารถซึมผ่านได้ด้วยอัตราที่สูงกว่า

2.4.5.7 ค่าน้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight cutoff) Molecular weight cutoff คือ ค่าน้ำหนักโมเลกุลของสารที่ถูกทดสอบที่เยื่อกรองกันให้ผ่าน 90-95% ซึ่งขนาดน้ำหนักโมเลกุล เป็นปัจจัยหนึ่งที่จะใช้ทำการศึกษาถึงการอุดตันของเยื่อกรองโดยจะสังเกตการณ์ลดลงของค่าฟลักซ์ ที่ผ่านเยื่อกรองหากสารที่นำมารองผ่านเยื่อกรองมีขนาดใหญ่กว่าพูรุนมากๆ ทำให้เกิดการอุดตันได้ ซึ่งจากการกรองผ่านเยื่อกรองแบบอัลตราพิลเตอร์ชันด้วยสารอินทรีย์ทางธรรมชาติที่มีน้ำหนักโมเลกุล ช่วง 6.5-22

## 2.5 ถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ

ถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ (Membrane Bioreactor: MBR) คือการรวมระบบพื้นฐานสองระบบ (การย่อยสลายเชิงชีวภาพ และการแยกสารด้วยเยื่อกรอง) เข้าด้วยระบบเดียวกัน โดยสาร แขวนลอยและจลินทรีย์จะทำงานที่ย่อยสลายทางชีวภาพและถูกแยกออกจากน้ำที่ต้องการบำบัดด้วย การกรองผ่านเยื่อกรอง มวลชีวภาพทั้งหมดยังคงอยู่ในระบบ รวมถึงสามารถควบคุมอายุของจลินทรีย์ ในถังปฏิกรณ์ได้อย่างดีเยี่ยม และลดปริมาณเชื้อในน้ำออก การใช้งานโดยทั่วไปมีอยู่ 2 รูปแบบ แบบแรกถังปฏิกรณ์ชีวภาพและเยื่อกรองจะทำงานร่วมกันภายใต้ รูปแบบที่ 2.11 แสดงในภาพที่ 2.11



ภาพที่ 2.11 การทำงานของ MBR ทั้ง 2 รูปแบบ

ในการณ์แรกภาพที่ 2.11 (ก) แบบที่ 1 น้ำเข้าจะไหลสู่ถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ ซึ่งจะสัมผัสถกับ มวลชีวภาพของผสมนี้จะถูกสูบจากถังปฏิกรณ์ภายใต้แรงดันไปถูกกรองผ่านเยื่อกรอง น้ำส่วนที่ผ่าน เยื่อกรองจะหลอกออกจากระบบ ในขณะที่มวลชีวภาพทั้งหมดจะถูกกลับไปสู่ถังปฏิกรณ์ ตกอน ส่วนเกินจะถูกสูบออกเพื่อควบคุมอายุตากอนให้คงที่ และเยื่อกรองจะถูกทำความสะอาดด้วยการล้าง ย้อนกลับ (Backwashing) ล้างด้วยสารเคมีหรือขัดด้วยฟองอากาศ

ในภาพที่ 2.12 (ข) แบบที่ 2 น้ำเข้าจะถูกสูบเข้าถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ เพื่อสัมผัสถกับมวล ชีวภาพและกรองด้วยเยื่อกรอง การทำความสะอาดสามารถทำได้โดยอากาศ อากาศจะถูกปล่อยเข้าไป

ทางด้านของชุดเยื่อกรอง เพื่อกำจัดสิ่งอุดตันที่ผิวน้ำของเยื่อกรอง ด้วยการยกตัวของฟองอากาศ (Airlift Effect) การใช้งานแบบกรองขนาดกับทิศทางการไหล (Cross Flow) และฟองอากาศจะช่วยป้องกันสิ่งตกค้างจากตะกอนที่อุดตันผิวน้ำของเยื่อกรอง และอากาศยังถูกใช้สำหรับการออกซิเดชันสารและการสันดาปภายในของจุลินทรีย์ น้ำที่ผ่านการทำบัดแล้วในลอดจากถังด้วยการดูดผ่านเยื่อกรอง ซึ่งในปัจจุบันการใช้เยื่อกรองทั้งไมโครพิลเตชันและอัลตราพิลเตชันจะใช้รูปแบบนี้

### 2.5.1 ข้อดีของระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ

ข้อดีของระบบนี้ คือ น้ำที่ผ่านการทำบัดจะมีคุณภาพดี เนื่องจากระบบมีขีดความสามารถในการบำบัดแบบชีวภาพ และกำจัดเชื้อโรคออกจากน้ำทิ้ง ดังต่อไปนี้

2.5.1.1 สามารถกำจัดสารแขวนลอยได้อย่างสมบูรณ์ และคุณสมบัติของน้ำผ่านการทำบัดไม่เข้ากลับเสียรภาพของตะกอน

2.5.1.2 แบคทีเรียและไวรัสจะถูกกำจัดได้ด้วยตัวของเยื่อกรองเอง โดยคุณสมบัติทางพลวัตของเยื่อกรอง (Dynamic membrane)

2.5.1.3 จุลินทรีย์ที่เจริญได้ช้าสามารถรักษาไว้ในถังปฏิกรณ์ด้วยอายุตะกอนที่นานได้

2.5.1.4 จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารพิเศษ สามารถเจริญเติบโตและดำรงชีพอยู่ได้

2.5.1.2 ด้วยปริมาณของอเม็มแอลเอสที่มากกว่า ทำให้มีขีดความสามารถในการบำบัดสูง และเกิดตะกอนส่วนเกินน้อยกว่า

### 2.5.2 ตัวแปรควบคุมในระบบเยื่อกรองในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ

สิ่งที่ควรคำนึงถึงในกระบวนการเยื่อกรองในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ คือ

2.5.2.1 ของเหลวที่ถูกแยกเป็นระบบผสมที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ สารอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลหลากหลาย และสารอินทรีย์

2.5.2.2 คุณสมบัติของผสมจะเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา เนื่องจากกิจกรรมการบริโภคของจุลินทรีย์

2.5.2.3 น้ำส่วนที่ผ่านเยื่อกรองควรจะไร้สิ่งอุดตันหรือสิ่งที่ลดประสิทธิภาพของเยื่อกรอง เช่น เชื้อรา เป็นต้น

ตัวแปรควบคุมของกระบวนการเยื่อกรอง คือ สภาพในการใช้งาน (เช่น แรงดันของการกรอง) ความเร็วไหลผ่าน (Cross-Flow Velocity) และสภาพการทำบัดทางชีวภาพ (เช่น ความเข้มข้นของจุลินทรีย์) ลักษณะของส่วนผสม และโดยเฉพาะความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์ที่ละลายน้ำ ซึ่งรวมตัวเป็นขั้นเคลื่อนผิวน้ำของเยื่อกรอง

2.5.3 การนำถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพไปประยุกต์ใช้งาน  
งานวิจัยที่เกี่ยวกับเยื่อกรองในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ ดังแสดงในตารางที่ 2.4

#### ตารางที่ 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวกับเชื้อกรองในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ

การประยุกต์ใช้งาน	ผลการศึกษา	อ้างอิง
- การบำบัดน้ำทิ้งด้วยเอนไซม์จากเชื้อรา	เชื้อราเบสติโอลิเซอร์มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งที่ความเข้มข้นเฉลี่ยร้อยละ 95.6, 43.0 และ 47.4 ตามลำดับ ภายใต้การดำเนินระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบบก geg แบบกวนสมบูรณ์และแบบເອສປີອ້າຣ	ปิยรัตน์ วัฒนาศักดิ์ (2549)
- การบำบัดคุณภาพน้ำทิ้งภายในตัวระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง	ศึกษาการกำจัดมลสารภายในตัวระบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเมมเบรนขนาดรูปrun 0.5 ไมครอนพบว่าประสิทธิภาพการบำบัดค่า COD เท่ากับ 99.79, 99.61 และ 99.54% ประสิทธิภาพการบำบัดสารแขวนลอยเท่ากับ 98.88, 98.24 และ 98.36% ตามลำดับ	พัฒพงษ์ ติชรา (2552)
- การบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง	ระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองแบบอัลตราฟิลترةชัน มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณค่า COD เท่ากับ 97% ค่า NH <sub>3</sub> -N เท่ากับ 96.2% และค่าสารแขวนลอย เท่ากับ 100%	C.H. Xing and et al. (2000)
- การกำจัดในเตรอในน้ำดื่มน้ำที่มีการปนเปื้อน	ใช้เทคโนโลยีและพัฒนาระบบทั้งปฏิกรณ์เยื่อกรองในการกำจัดในเตรอในน้ำดื่มน้ำดื่มน้ำที่มีการปนเปื้อน	E.J. McAdam and et al. (2006)
- การย่อยสลายยาปฏิชีวนะเพนนิซิลิน	เอนไซม์สามารถย่อยสลายยาเพนนิซิลินอะซิเลสได้ โดยยาเพนนิซิลินอะซิเลสถูกกัดกีบไว้มากกว่า 90% ภายใต้ระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพชนิด hollow fiber	I.G. Wenten and et al. (2002)

#### 2.6 ข้อดีของกระบวนการเยื่อกรอง

ข้อดีของกระบวนการเยื่อกรอง มีดังนี้

2.6.1 เป็นการแยกความขนาดโมเลกุล (หรือรูปร่าง หรือชนิดของประจุ) ซึ่งสามารถทำให้ดำเนินการที่อุณหภูมิปกติ (ยกเว้นการกลั่นผ่านเยื่อกรอง) จึงเหมาะสมสำหรับแยกสารที่อาจเสื่อมสภาพ เพราะความร้อนได้

2.6.2 ใช้พลังงานในการแยกค่อนข้างต่ำ เพราะสามารถแยกได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนเฟส ตัวอย่างเช่น กระบวนการแยกเกลือจากน้ำกร่อยหรือน้ำทะเล ถ้าใช้วิธีการอสโนมีส์ผันกลับหรืออิเล็กโทรอะลีซิส มีข้อได้เปรียบทางต้านพลังงานมากกว่าการกลั่นหรือการต้มระเหย

2.6.3 ไม่ก่อให้เกิดของเหลือทึ้งจากระบบ ทำให้สามารถแยกผลิตภัณฑ์ที่ต้องการได้ สามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งเพื่อขาย (ส่วนที่ผ่านเยื่อกรอง) และรีเทนเจจ (ส่วนที่ไม่ผ่านเยื่อกรอง) เช่น การผลิตน้ำสะอาดจากน้ำทะเลได้เพื่อขาย (คือ น้ำจืด ส่วนสารละลายน้ำที่ไม่ผ่านเยื่อกรอง)

ตกผลึกเพื่อผลิตเกลือ ในการบำบัดน้ำทิ้งบางชนิดที่ได้น้ำสะอาดกลับไปใช้ในกระบวนการและได้ผลิตภัณฑ์ขึ้นซึ่งใช้ประโยชน์ต่อไปได้

**2.6.4 ควบคุมการทำงานได้ง่าย** สามารถดำเนินการแบบบatch (Batch) หรือแบบต่อเนื่อง (Continuous) ตลอดจนติดตั้งระบบควบคุมการทำงานแบบอัตโนมัติได้ไม่ยาก

**2.6.5 สามารถขยายขนาดจากระดับต้นแบบ** ให้เป็นระดับอุตสาหกรรมได้ไม่ยาก เนื่องจากชุดเยื่อกรองมีลักษณะเป็นชุด (Modular) หรือน่วยงานที่เรียกว่าโมดูล คือการบรรจุหรือประกอบเยื่อกรองให้มีพื้นที่เยื่อกรองตามต้องการ และสามารถนำหน่วยย่อยๆ มาต่อ กันเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการแยก

**2.6.6 มีขนาดกะทัดรัดไม่เปลืองพื้นที่** ชุดอุปกรณ์เยื่อกรองมีการออกแบบให้พื้นที่ในการกรองต่อน่วยปริมาตรของอุปกรณ์มีค่าสูง (รัตนा จิระรัตนานนท์, 2543: 138)

## 2.7 ข้อจำกัดของกระบวนการเยื่อกรอง

**2.7.1 คอนเซนเตรชันโพลาไรต์เซลล์ (Concentration polarization: CP)** หมายถึง การสะสมของโมเลกุล/อนุภาคของตัวถูก漉ลายที่ไม่สามารถผ่านเยื่อกรองได้ ทำให้ความเข้มข้นบริเวณผิวน้ำของเยื่อกรองสูงกว่าในบริเวณที่อยู่ห่างออกไปและจะลดสมรรถนะของการแยกทั้งในแบบของฟลักซ์ และการกักอนุภาค เพราะส่งผลให้เกิดการอุดตัน (Fouling)

**2.7.2 การอุดตัน (Fouling)** การเกิดการอุดตันของเยื่อกรองหมายถึง การสะสม/อุดตันของตัวถูก漉ลายทั้งบนผิวน้ำของเยื่อกรองและภายในรูพรุน ซึ่งทำให้ฟลักซ์ลดลงและการกักโมเลกุลเปลี่ยนแปลง (อาจลดลงหรือเพิ่มขึ้น) ฟลักซ์จะลดลงหากไห้ชับช้อนขึ้นอยู่กับคุณลักษณะของเยื่อกรองและสารละลาย สิ่งสกปรกและอุดตันจะไม่สามารถล้างออกด้วยน้ำได้ ต้องล้างทำความสะอาดด้วยสารเคมีที่เหมาะสม

**2.7.3 ความคงตัวของเยื่อกรอง** เนื่องจากเยื่อกรองที่ใช้ส่วนใหญ่ผลิตจากพอลิเมอร์จึงมีความคงตัวจำกัด เช่น เยื่อกรองจำพวกเซลลูโลส (Cellulose) คงตัวช่วงพีเอช 4-8 ส่วนโพลิซัลฟอน (Polysulfone) สามารถใช้งานในช่วงกว้างกว่า คือ พีเอช 1-13 อุณหภูมิมีผลต่อเยื่อกรองบางชนิดไม่ทนต่อกลอรีน หรือตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนเยื่อกรองเซรามิกมีความคงตัวต่ออุณหภูมิและสารเคมีดีมาก สามารถข้ามเชื้อด้วยไอน้ำได้ ทนต่อจุลินทรีย์แต่ความสามารถในการแยกยังน้อยกว่าเยื่อกรองพอลิเมอร์ (รัตนा จิระรัตนานนท์, 2543: 145)

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการทดลอง

#### 3.1 วัสดุและสารเคมี

- 3.1.1 แกลบและรำ
- 3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)
- 3.1.3 สีย้อม แอกซิดบลู 80
- 3.1.4 Sodium hydroxide (NaOH)
- 3.1.5 Hydrochloric acid (HCl)
- 3.1.6 Monobasicsodium Phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )
- 3.1.7 Dibasicsodium Phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )
- 3.1.8 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS)
- 3.1.9 Acetic Acid
- 3.1.10 Trichloroacetic acid (TCA)
- 3.1.11 Bovine Serum Albumin (BSA)
- 3.1.12 Sodium Carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
- 3.1.13 Hollow Fiber Ultrafiltration

#### 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์

- 3.2.1 เครื่องแก้วเซ็น บิกเกอร์, หลอดทดลอง, ปีเปต, ขวดรูป矩มูฟ เป็นต้น
- 3.2.2 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 3.2.3 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
- 3.2.4 เครื่องกวนแบบแม่เหล็กพร้อมเตาให้ความร้อน (magnetic stirrer / hot plate )
- 3.2.5 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- 3.2.6 เครื่องเขย่าอัตโนมัติ
- 3.2.7 เครื่องปั่นหัวใจ (Centrifuge)
- 3.2.8 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- 3.2.9 เครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
- 3.2.10 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-VIS spectrophotometer) รุ่น UV mini 1240  
ยี่ห้อ SHIMADZU
- 3.2.10 เครื่องปั๊มน้ำอัตโนมัติ (Peristaltic pump) รุ่น Model 77201- 60 [Cole-Primer]  
ยี่ห้อ MasterFlex

### 3.3 เอนไซม์

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้เอนไซม์แลคเคส จากเชื้อเห็ด *Lentinus polychrous* Lev. ซึ่งได้รับการอนุเคราะห์จาก ดร.จิรภานา เพชรสม ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม โดยทำการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

#### 3.3.1 การเก็บรักษาเชื้อ *Lentinus polychrous* Lev. (Stock culture)

การเก็บรักษาเชื้อเห็ด *Lentinus polychrous* Lev. ทำขึ้นเพื่อให้เชื้อมีความบริสุทธิ์ ปราศจากการปนเปื้อนและเพื่อสอดคล้องต่อการนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งก่อนการนำมาสกัดเอาเอนไซม์ทายาบ ซึ่งวิธีการเตรียมอาหารแข็งในงานเพาะเชื้อนั้นใช้เทคนิคปลดล็อกเชื้อ สามารถทำได้ดังต่อไปนี้

##### 3.3.1.1 วิธีการเตรียม Potato Dextrose Agar (PDA)

โดยอาหาร PDA ปริมาณ 19.5 กรัม เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปให้ความร้อนโดยนำเข้าเครื่องไมโครเวฟ 10 นาที ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส จนน้ำนำไปผ่าเชื้อ ในหม้อนึ่งความดันไอน้ำอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ทั้งวิธีให้อุ่นสักพักแล้วเทอาหารลงในแพะเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิคปลดล็อกเชื้อ

##### 3.3.1.2 วิธีการเชี่ยวเชื้อ

ใช้เข็มเชี่ยวเชื้อที่ปลดล็อกเชื้อ ตัดชิ้นวุ้นเชื้อจากงานเพาะเชื้อให้ได้ขนาดประมาณ 5x5 มิลลิเมตร แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมไว้ โดยใส่เชือลงไป 1 ชิ้นวุ้นต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 จาน และหุ้มรอบงานด้วยพาราฟิล์ม เก็บในที่มีดี อุณหภูมิห้องนาน 14 วัน

#### 3.3.2 การเพาะเชื้อเห็ด *Lentinus polychrous* Lev. บนอาหารแข็ง

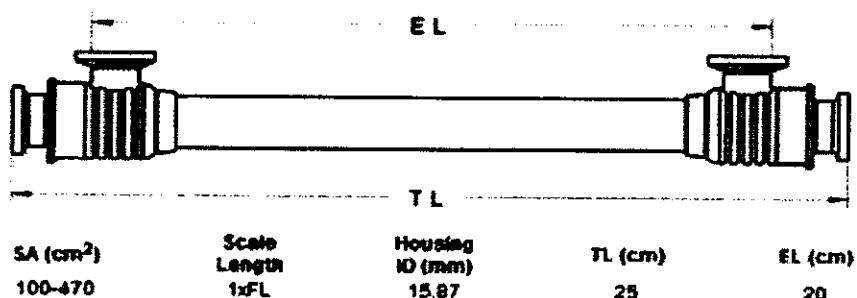
เตรียมอาหารแข็งแกลบกับรำสำหรับเพาะเชื้อเห็ดบด ในอัตราส่วนแกลบท่อรำ เท่ากับ 1:2 ลงในชุดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร โดยที่ปริมาตรรวม 110 กรัม จะประกอบด้วยแกลบ 20 กรัม รำ 40 กรัม และน้ำ 50 มิลลิลิตรผสมกัน ปิดฝาให้สนิท นำไปผ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันไอน้ำอุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ใช้เทคนิคปลดล็อกเชื้อเชี่ยวเชื้อเห็ดบดลงในชุดอาหารด้วยวิธีการเช่นเดียวกับการเชี่ยวเชื้อลงบนงานเลี้ยงเชื้อ โดยใส่เชื้อเห็ดบดลงไป 2-3 ชิ้นต่ออาหาร 1 ชุด เก็บที่อุณหภูมิห้องและในที่มีด เป็นเวลา 2 สัปดาห์

#### 3.3.3 การสกัดเอนไซม์ทายาบ

เมื่อเลี้ยงเชื้อเห็ดบดในอาหารแข็งครบ 14 วัน นำมาซึ่ง แล้วเติมน้ำในอัตราส่วน 1: 3 ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องกวนแบบแบมเม่หลักเป็นเวลา 45 นาที จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง นำไป秤 ให้ได้ 6,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ส่วนใส่ที่ได้จากการปั่นให้ว่าง เรียกว่า เอนไซม์แลคเคส ทายาบเก็บไว้เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

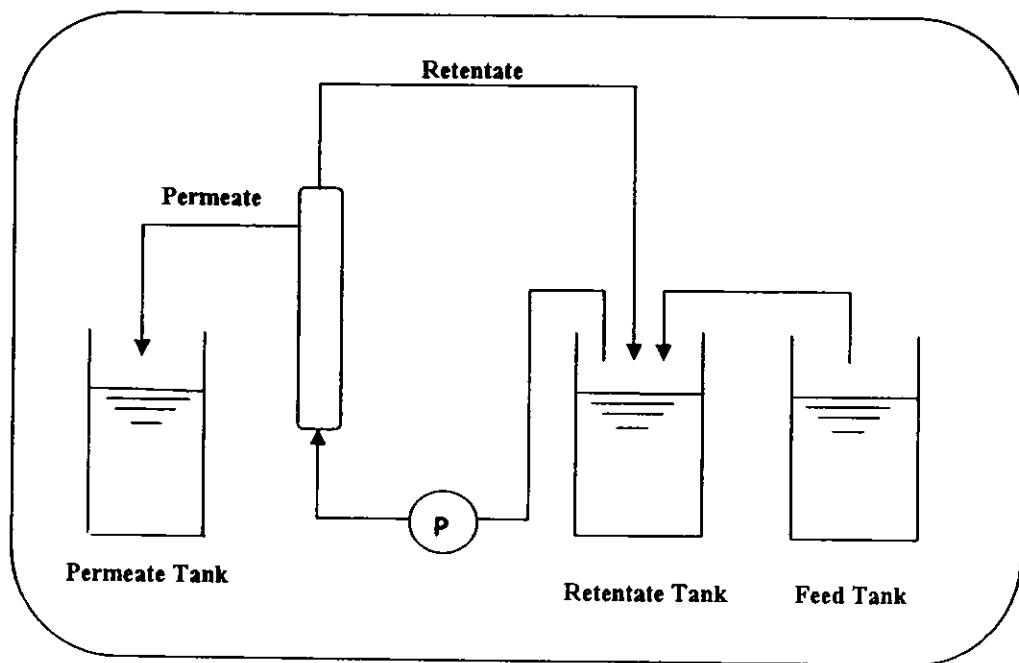
### 3.4 ชุดเยื่อกรองอัลตราไฟลเตอร์ชั้น

เยื่อกรองอัลตราไฟลเตอร์ชั้น รุ่น MiniKros<sup>®</sup> Sampler Filter Modules Part No. S02-S010-05-P ของบริษัท SPECTRUM LABS ประเทศสหรัฐอเมริกา ผลิตจากโพลีซัลโฟน (Polysulphone) พื้นที่หน้าตัด 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร ( $\text{cm}^3$ ) ขนาด molecular weight cut-off (MWCO) 10 กิโลดالتัน (kDa) โมดูลแบบสแตนเลส (ภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 เยื่อกรองแบบอัลตราฟิลเตอร์ชั้นรุ่น MiniKros® Sampler Filter Modules  
Part No. S02-S010-05-P

### 3.5 ระบบถังปฏิกิริณ์เยื่อกรอง



ภาพที่ 3.2 ระบบถังปฏิกิริณ์เยื่อกรองชีวภาพ

จากภาพที่ 3.2 แสดงระบบถังปฏิกิริณ์เยื่อกรอง ซึ่งประกอบด้วย เยื่อกรองแบบอัลตราฟิลเตอร์ชั้นรุ่น MiniKros® Sampler Filter Modules Part No. S02-S010-05-P ของบริษัท SPECTRUM LABS ถังเพ้มิเจ (Permeate Tank) ถังป้อนสาร (Feed Tank) ถังปฏิกิริยา (Reaction Tank) และเครื่องปั๊มในการทำงานของระบบ เริ่มจากเมื่อเปิดเครื่อง เครื่องปั๊มจะสูบสารละลายที่อยู่ในถังป้อนสาร ผสมกับสารที่อยู่ในถังปฏิกิริยาผ่านเยื่อกรองอัลตราฟิลเตอร์ชั้น ซึ่งสารละลายที่ผ่านเยื่อกรองเรียกว่า เพ้มิเจ (Permeate) ส่วนสารละลายที่ไม่ผ่านเยื่อกรองเรียกว่า รีเทนแทต (Retentate) และสารละลายที่ไม่ผ่านเยื่อกรองจะหลงสูญในถังปฏิกิริยาและจะวนในระบบอีกครั้ง

### 3.5.1 การทำงานของชุดทดสอบระบบถังปฏิกิริณ์เยื่อกรอง

#### 3.5.1.1 ก่อนการใช้งาน (ตรวจสอบการรั่วของตัวอย่างออกจากระบบ)

ใช้ตัวหนึบล็อกสายเพอมิเตอร์และสายรีเทนเทจเพื่อไม่ให้สายละลายในหล่อสำนักน้ำเปิดเครื่องเพื่อเดินระบบ ปรับการทำงานของระบบให้วันตามเข็มนาฬิกา แล้วปรับอัตราการไหลของสารป้อนระบบประมาณ 2 มิลลิลิตร/นาที เมื่อความดันของระบบถึงประมาณ 5 ปอนด์ต่อตารางนิวตัน (psi) ให้กดหยุดการทำงานของระบบ จากนั้นให้สังเกตความดันของระบบ เมื่อลดลงไม่เกิน 0.5 psi หมายถึงไม่มีการรั่วไหลของสารละลายตัวอย่างออกจากระบบ และเริ่มการใช้งานได้

#### 3.5.1.2 การดำเนินระบบใช้งาน

เปิดตัวหนึบล็อกสายเพอมิเตอร์และสายรีเทนเทจ ปรับอัตราการไหลของสารป้อนระบบตามต้องการศึกษา สังเกตดูความดันของระบบต้องไม่เกิน 10 psi เพราะถ้าความดันเกินเครื่องจะหยุดทำงาน

#### 3.5.1.3 หลังการใช้งาน (ໄລ່ອາກະສອກຈາກຮັບ)

ปรับการทำงานของระบบให้วันวนเข็มนาฬิกาแล้วปรับอัตราการไหลของสารป้อนระบบประมาณ 1 มิลลิลิตร/นาที แล้วสังเกตดูสรุลละลายในสายยาง เมื่อไม่มีแล้วให้กดหยุดการทำงานของระบบและปิดเครื่อง

### 3.5.2 การทำความสะอาดชุดเยื่อกรองอัลตราฟิลเตอร์ชันในระบบถังปฏิกิริณ์เยื่อกรอง

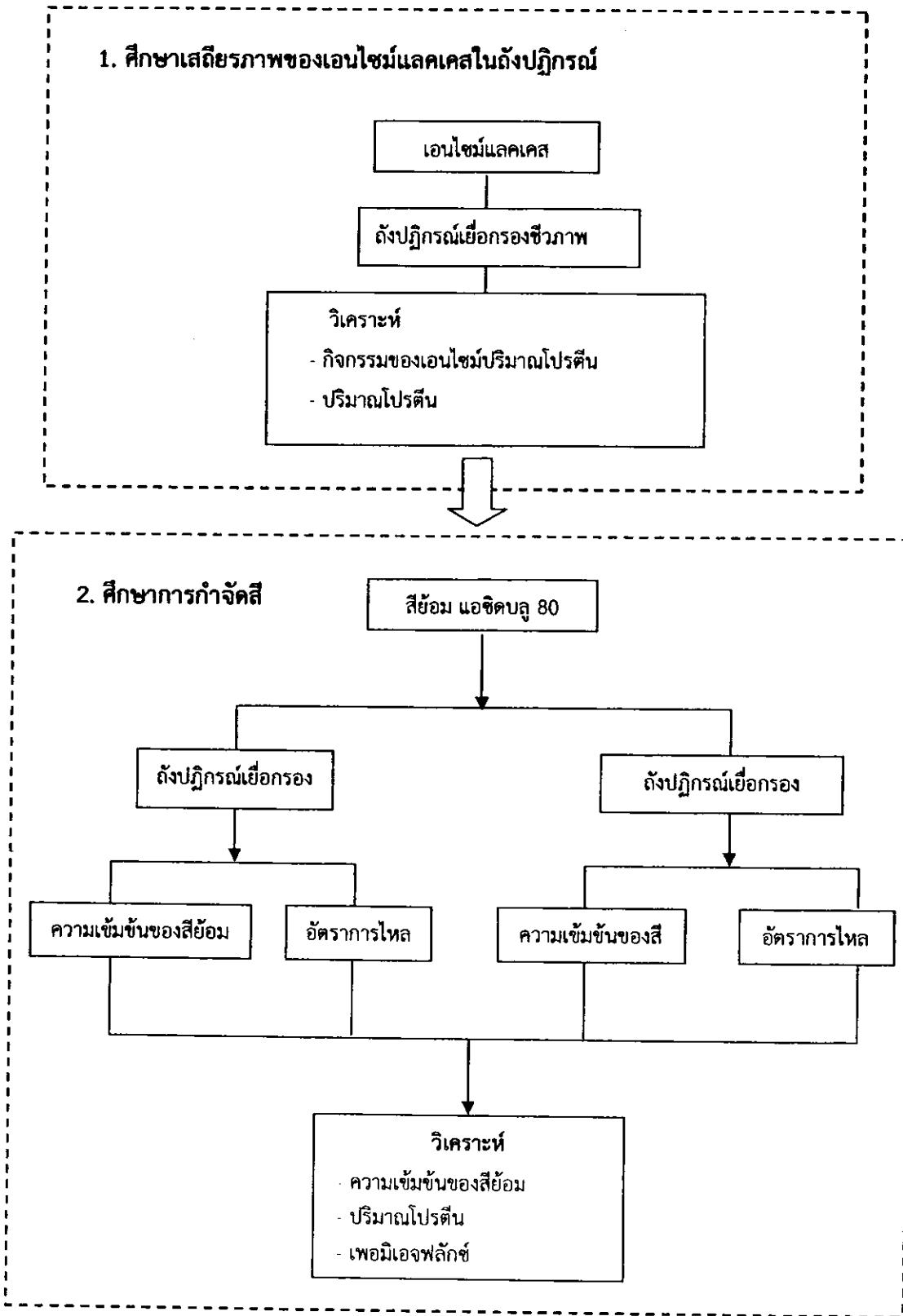
ติดตั้งในชุดการทดลองเยื่อกรองแล้วดำเนินระบบด้วยการผ่านด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.0001 M ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 10 เวลา 30 นาที แล้วนำมาล้างออกโดยการผ่านด้วยน้ำปราศจากประจุ จากนั้นผ่านสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.0001 M ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4 เวลา 30 นาที แล้วนำมาล้างออกด้วยน้ำปราศจากประจุอีกครั้งก่อนการนำไปใช้ในระบบถังปฏิกิริณ์เยื่อกรอง ทดสอบค่าฟลักซ์ด้วยการดำเนินระบบด้วยน้ำปราศจากประจุก่อนและหลังการใช้งานทุกครั้ง หลังการทำความสะอาดเยื่อกรองแล้ว เติมน้ำปราศจากประจุในเยื่อกรองและนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

## 3.6 สีย้อม

สีย้อมสังเคราะห์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นสีในกลุ่มสีแอนทรากวีโนน Anthraquinone คือ สีแอซิดบลู 80 และทำการศึกษาการกำจัดสีย้อมชนิดนี้ด้วยระบบถังปฏิกิริณ์เยื่อกรองและระบบถังปฏิกิริณ์เยื่อกรองชีวภาพภายใต้สภาวะ คือ การศึกษาผลของความเข้มข้นของสีย้อม และการศึกษาผลของอัตราการไหลระบบ

## 3.7 กรอบแนวคิดงานวิจัย

ในการศึกษาผลของความเข้มข้นสีย้อมและอัตราการไหลของระบบต่อการกำจัดสีย้อม แอซิดบลู 80 ด้วยแลคเคสในถังปฏิกิริณ์เยื่อกรองชีวภาพ มีวิธีการดำเนินการวิจัย แสดงกรอบแนวคิดดังภาพที่ 3.3 ซึ่งแบ่งออกเป็น 5 ขั้นตอน ดังนี้



ภาพที่ 3.3 กรอบแนวคิดงานวิจัย

### สามารถอธิบายกรอบแนวคิด ก้าพที่ 3.3 ซึ่งแบ่งออกเป็น 5 ขั้นตอน ดังนี้

3.7.1 ศึกษาสถิติรภาพของเงินไขม์แลคเคลสในถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง โดยเงินไขม์จะถูกปั๊มเข้าสู่เยื่อกรองพร้อมด้วยน้ำปราศจากประจุ เก็บตัวอย่างสารละลายในส่วนของเพอมิเจจและรีเทนเจจ มหาวิเคราะห์ค่ากิจกรรมการทำงานของเงินไขม์และปริมาณโปรดติน

3.7.2 ศึกษาการกำจัดสีย้อม แอชิดบลู 80 ในถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อม เก็บตัวอย่างสารละลายวิเคราะห์ความเข้มข้นของสีย้อมและเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมที่เวลาต่างๆ

3.7.3 ศึกษาการกำจัดสีย้อม แอชิดบลู 80 ในถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของระบบ เก็บตัวอย่างสารละลายวิเคราะห์ความเข้มข้นของสีย้อมและเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมที่เวลาต่างๆ

3.7.4 ศึกษาการกำจัดสีย้อม แอชิดบลู 80 ด้วยแลคเคลสในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อม เก็บตัวอย่างสารละลายวิเคราะห์ความเข้มข้นของสีย้อม ปริมาณของโปรดตินและเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมที่เวลาต่างๆ

3.7.5 ศึกษาการกำจัดสีย้อม แอชิดบลู 80 ด้วยแลคเคลสในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของระบบ เก็บตัวอย่างสารละลายวิเคราะห์ความเข้มข้นของสีย้อม ปริมาณของโปรดตินและเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมที่เวลาต่างๆ

### 3.8 วิธีดำเนินการศึกษา

#### 3.8.1 การศึกษาสถิติรภาพของเงินไขม์ในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง

เตรียมเงินไขม์หลาย นำไปผ่านเขาระบบทั้งปฏิกรณ์เยื่อกรองที่อัตราการไหล 300, 400 และ 500 มิลลิลิตรต่อนาที เก็บตัวอย่างทุก 30 นาที ครบ 4 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ กิจกรรมการทำงานของเงินไขม์และปริมาณโปรดตินทั้งในส่วนเพอมิเจจและรีเทนเจจ เมื่อเสร็จสิ้น การทดลองแต่ละครั้งล้างทำความสะอาดชุดเยื่อกรองตามวิธีที่แสดงในข้อ 3.5.2

#### 3.8.2 การกำจัดสีย้อมด้วยระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง

##### 3.8.2.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นของสีย้อม

เตรียมสารละลายสีย้อมความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7 เติมลงในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองตามลำดับ ทำการเดินระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง ปรับอัตราการไหลของระบบ 300 มิลลิลิตรต่อนาที เก็บตัวอย่างทุกๆ 30 นาที เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของสีย้อม เมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง แต่ละครั้งล้างทำความสะอาดชุดเยื่อกรอง ตามวิธีที่แสดงในข้อ 3.5.2 วิเคราะห์ค่าเพอมิเจจฟลักซ์ก่อน และหลังการล้างที่เวลาต่างๆ

##### 3.8.2.2 การศึกษาผลของอัตราการไหลระบบ

เตรียมสารละลายสีย้อมความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7 เติมลงในถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง ทำการเดินระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง ปรับอัตราการไหลของระบบ 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ เก็บตัวอย่างทุกๆ 30 นาที ครบ 4 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของสีย้อม เมื่อเสร็จสิ้น

การทดลองแต่ละครั้งล้างทำความสะอาดดูดเยื่อกรอง ตามวิธีที่แสดงในข้อ 3.5.2 วิเคราะห์ค่าเพอมิเจฟลักซ์ก่อนและหลังการล้างที่เวลาต่างๆ

### 3.8.3 การกำจัดสีย้อมด้วยเอนไซม์แลคเคสในระบบถังปฏิกิริยayeื่อกรองชีวภาพ

#### 3.8.3.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นของสีย้อม

เตรียมสารละลายสีย้อมความเข้มข้น 30, 40, 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7 เดิมลงในถังปฏิกิริยayeื่อกรองตามลำดับพร้อมเอนไซม์แลคเคส ทำการเดินระบบถังปฏิกิริยayeื่อกรอง ปรับอัตราการไหลของระบบ 300 มิลลิลิตรต่อนาที เก็บตัวอย่างทุก 30 นาที ครบ 4 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของสีย้อมและปริมาณ蛋白质ในส่วนเพอมิเจฟและรีเทนเจ เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองแต่ละครั้งล้างทำความสะอาดดูดเยื่อกรองตามวิธีที่แสดงในข้อ 3.5.2 วิเคราะห์ค่าเพอมิเจฟลักซ์ก่อนและหลังการล้างที่เวลาต่างๆ

#### 3.8.3.2 การศึกษาผลของอัตราการไหลระบบ

เตรียมสารละลายสีย้อมความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7 เดิมลงในถังปฏิกิริยayeื่อกรองพร้อมเอนไซม์แลคเคส ทำการเดินระบบถังปฏิกิริยayeื่อกรอง ปรับอัตราการไหลของระบบ 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ เก็บตัวอย่างทุก 30 นาที ครบ 4 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของสีย้อมและปริมาณ蛋白质ในส่วนเพอมิเจฟและรีเทนเจ เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองแต่ละครั้งล้างทำความสะอาดดูดเยื่อกรองตามวิธีที่แสดงในข้อ 3.5.2 วิเคราะห์ค่าเพอมิเจฟลักซ์ก่อนและหลังการล้างที่เวลาต่างๆ

## 3.9 วิธีการวิเคราะห์ผล

### 3.9.1 การวัดค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์แลคเคส

กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์แลคเคสสามารถตรวจวัดได้โดยการวัดการออกซิไดซ์ ABTS ในปฏิกิริยา 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วยสารละลายตัวอย่างเอนไซม์ 50 ไมโครลิตร เดิม 0.1 M sodium acetate buffer pH 4.5 ปริมาตร 940 ไมโครลิตร และสารละลาย 10 มิลลิโนล ABTS ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วย TCA (80 %w/v) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร นำผลตรวจวัดที่ได้มาคำนวณค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ดังสมการ

$$\text{Enzyme Activity (U/ml)} = \frac{(A_{420})(0.001 \times 10^{-4})(D)}{(\varepsilon)(V)(t)} \quad (3.1)$$

เมื่อ  $A_{420}$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

$D$  = Dilution factor

$\varepsilon$  = ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร  
เท่ากับ  $3.6 \times 10^4$

$V$  = ปริมาตรของ enzyme ที่ใช้ทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)

$t$  = เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา (นาที)  
 Enzyme Activity มีหน่วยเป็นยูนิตต่อมิลลิลิตร

### 3.9.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีแบลดฟอร์ด โดยใช้สารละลายตัวอย่างทำปฏิกิริยา กับ Bradford Reagenr สำเร็จรูปของบริษัท SIGMA-ALDRICH ประเทศเยอรมันนี นำไปวัดค่าการดูดกลืน แสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ซึ่งขึ้นตอนการทำปริมาณ โปรตีนได้แสดงอย่างละเอียดไว้ในภาคผนวก ก.2

### 3.9.3 การวิเคราะห์สารละลายสีย้อม

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสีย้อมใช้หลักการวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 626 นาโนเมตร และนำผลไปเทียบกับเส้นกราฟสีย้อม มาตรฐาน (วิธีการเตรียมและกราฟมาตรฐานแสดงในภาคผนวก ก.3)

## 3.10 การคำนวณผล

### 3.10.1 การคำนวณเพอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อม (%Dye Removal) ดังสมการที่ 3.2 ดังนี้ สูตรการคำนวณ :

$$\% \text{ Dye Removal} = \frac{C_0 - C_p}{C_0} \times 100 \quad (3.2)$$

เมื่อ  $C_0$  = ความเข้มข้นของสีย้อมเริ่มต้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)  
 $C_p$  = ความเข้มข้นของสีย้อมในเพอร์มิเอก (มิลลิกรัมต่อลิตร)

### 3.10.2 ปริมาณเอนไซม์

การคำนวณปริมาณเอนไซม์ที่อยู่ในรีเทนเจลและที่หลุดออกจากระบบ สามารถ คำนวณโดยใช้สมการที่ 3.3 และ 3.4 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณเอนไซม์แสดงในรูปของค่ากิจกรรมการ ทำงานของเอนไซม์

$$\% \text{ Remaining Activity} = \frac{A_R}{A_0} \times 100 \quad (3.3)$$

$$\% \text{ Remaining Activity} = \frac{A_p}{A_0} \times 100 \quad (3.4)$$

เมื่อ  $A_R$  = ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ในรีเทนเจล  
 $A_p$  = ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ในเพอร์มิเอก  
 $A_0$  = ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) เริ่มต้น

สำหรับการคำนวณหาปริมาณโปรตีนที่อยู่ในรีเทนเจลและที่หลุดออกจากระบบทำเช่นเดียวกัน จะใช้ค่าความเข้มข้นของโปรตีนที่วัดได้มาแทนลงในสมการที่ 3.3 และ 3.4 ตามลำดับ

### 3.10.3 เพอเมิโอจฟลักซ์

การคำนวณค่าเพอเมิโอจฟลักซ์แสดงในสมการที่ 3.5 ดังนี้

$$\text{Flux} = \frac{Q}{A} \quad (3.5)$$

เมื่อ  $Q$  = อัตราการไหลผ่านเยื่อกรองของสาร (มิลลิลิตรต่อนาที)

$A$  = พื้นที่ผิวของเยื่อกรอง (ตารางเซนติเมตร)

ค่าฟลักซ์ มีหน่วย เป็น ลิตรต่อตารางเมตรชั่วโมง ( $L/m^2 \cdot hr$ )

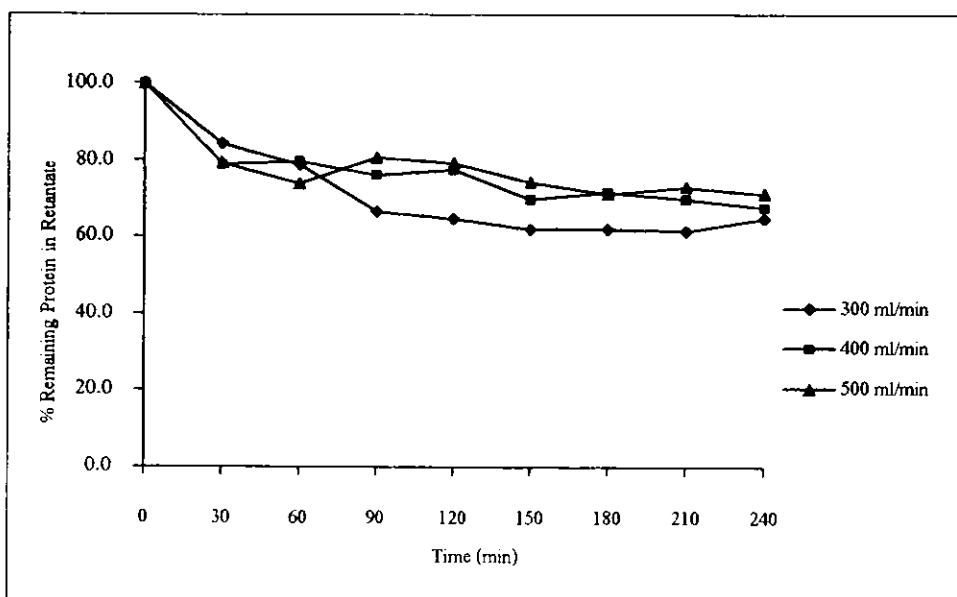
## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

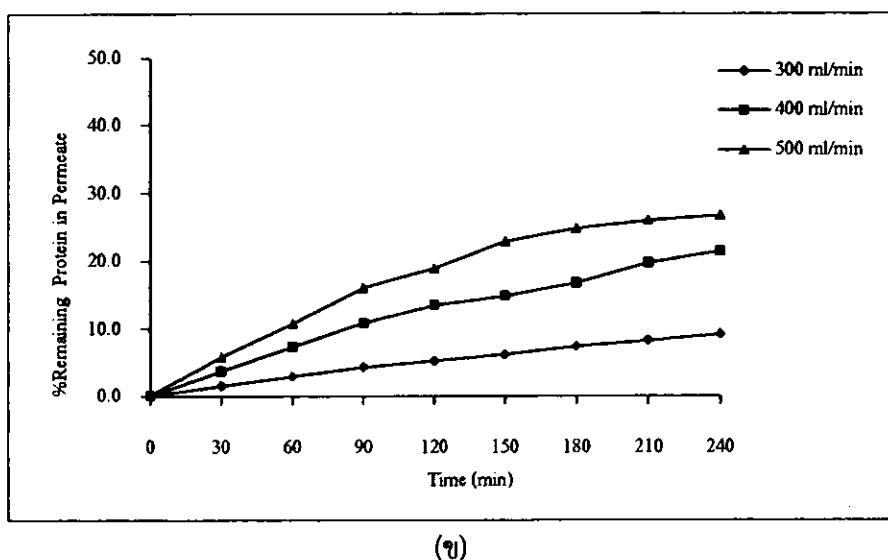
การศึกษาการกำจัดสีเย็นของชีดบูล 80 ด้วยเอนไซม์แลคเคสจาก *Lentinus polychrous* ในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพครั้งนี้ แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน คือ การศึกษาเสถียรภาพของเอนไซม์แลคเคสในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง การกำจัดสีเย็นด้วยของระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง และการกำจัดสีเย็นด้วยระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ โดยความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ใช้ในการทดลองถูกควบคุมที่ 0.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายเท่ากับ 7 และทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิในการศึกษาอยู่ที่  $28 \pm 3$  องศาเซลเซียส ผลการศึกษาแสดงได้ดังต่อไปนี้

#### 4.1 การศึกษาเสถียรภาพของเอนไซม์ในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง

การศึกษาเสถียรภาพของเอนไซม์ในครั้งนี้ใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 0.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร มีปริมาณโปรตีน 49.55 มิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรที่ใช้ 270 มิลลิลิตร โดยอัตราการไหลของสารที่ผ่านเยื่อกรองมีค่าเท่ากับ 300, 400 และ 500 มิลลิลิตรต่อนาที ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 4.1 และภาพที่ 4.2



(ก)



ภาพที่ 4.1 เปรอร์เซ็นต์โปรตีนที่เหลืออยู่ที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสารที่เข้าระบบ 300, 400 และ 500 มิลลิลิตรต่อนาที (ก) ในรีเทนเจจ (ข) ในเพอมิเอจ

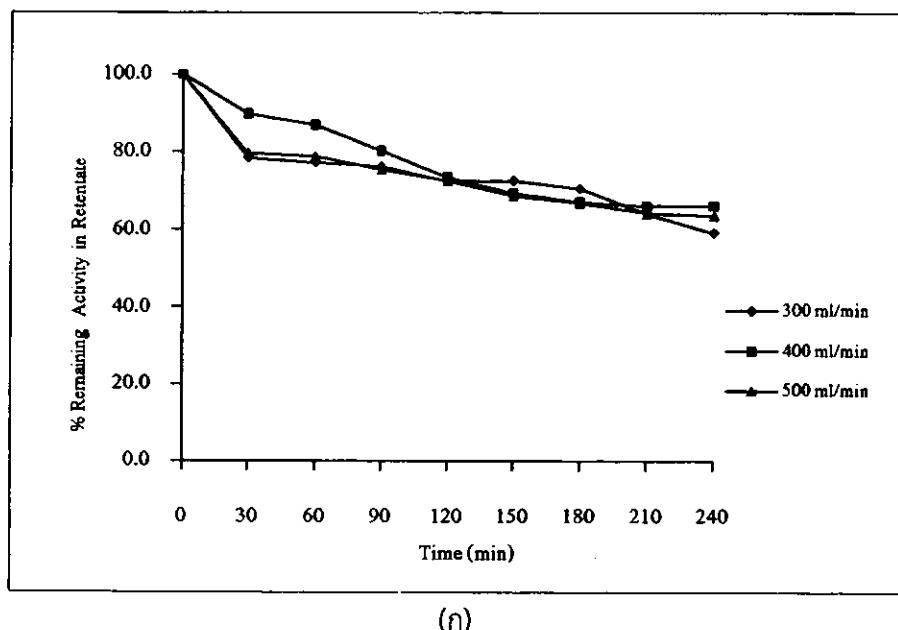
จากภาพที่ 4.1 แสดงถึงเปอร์เซ็นต์ปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ในส่วนของรีเทนเจจ (ภาพที่ 4.1 (ก)) และในเพอมิเอจ (ภาพที่ 4.1 (ข)) จะเห็นว่าเมื่อเวลาในการดำเนินระบบมากขึ้น ปริมาณโปรตีนในส่วนของรีเทนเจจมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่โปรตีนในเพอมิเอจสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่ามีโปรตีนบางส่วนหลุดออกจากระบบและเมื่อพิจารณาถึงอัตราการไหลต่อปริมาณโปรตีนที่เหลืออยู่ พบร่วมกันที่เวลา 240 นาที ปริมาณโปรตีนที่เหลือในรีเทนเจจเป็น 64.68, 67.43 และ 71.70% ส่วนปริมาณโปรตีนในเพอมิเอจเป็น 9.24, 21.45 และ 26.73% ที่อัตราการไหล 300, 400 และ 500 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ

จากการศึกษาจะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลส่งผลต่อการคงอยู่ของโปรตีนในระบบเป็นอย่างยิ่ง โดยเมื่อเพิ่มอัตราการไหลจะทำให้โปรตีนหลุดออกจากระบบเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ปริมาณของโปรตีนที่เหลือในรีเทนเจจมีค่าใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าโปรตีนที่หายไปบางส่วนอาจถูกดูดซับที่บริเวณผิวน้ำของแผ่นเยื่อกรอง

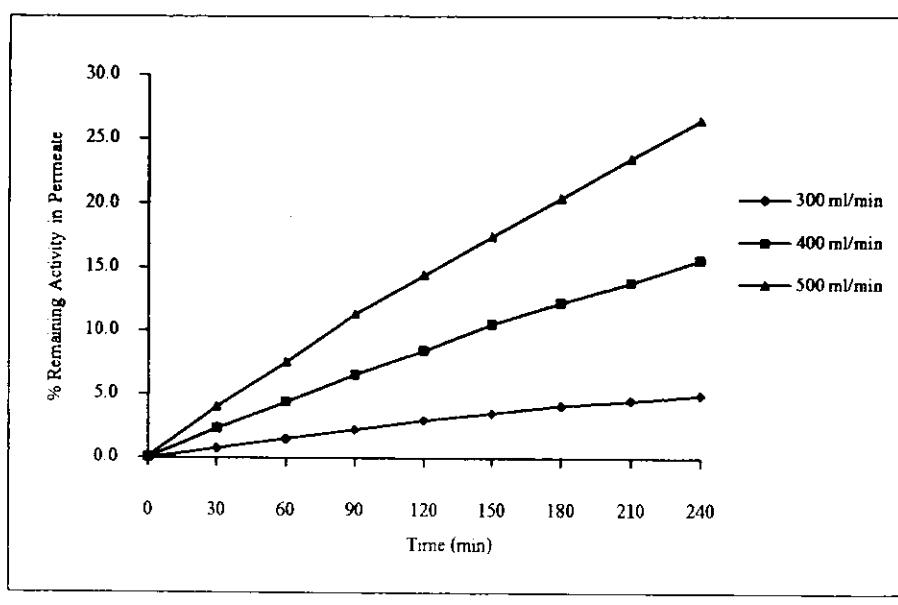
ในขณะเดียวกันเมื่อพิจารณาในรูปของค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ ในส่วนของรีเทนเจจ (ภาพที่ 4.2 (ก)) และส่วนของเพอมิเอจ (ภาพที่ 4.2 (ข)) พบร่วมโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณโปรตีน คือเมื่อเวลาในการดำเนินระบบมากขึ้น ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ในส่วนของรีเทนเจจมีแนวโน้มลดลง โดยพบว่าที่เวลา 240 นาที ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ที่เหลือในรีเทนเจจเป็น 59.20, 66.20 และ 63.66 % ส่วนค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ในเพอมิเอจเป็น 4.96, 15.61 และ 26.42 % ที่อัตราการไหล 300, 400 และ 500 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาที่อัตราการไหล 300 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณโปรตีนที่เหลือในรีเทนเจจเป็น 64.68% และในเพอมิเอจเป็น 9.24% ค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ที่เหลือในรีเทนเจจเป็น 59.20% และในเพอมิเอจเป็น 4.96% จะเห็นว่าปริมาณโปรตีนและเอนไซม์ในรีเทนเจจและเพอมิเอจหายไป ทั้งนี้อาจจะถูกดูดซับที่บริเวณผิวน้ำของแผ่นเยื่อกรอง และยังพบว่าปริมาณโปรตีนที่หลุด

ออกมาในเพอเมจมีค่ามากกว่าค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ โดยในงานวิจัยของ Luong N. Nguyen *et al.* (2011: 149) พบว่าเอนไซม์แลคเคสมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 56 กิโลดาลตัน (kDa) ซึ่งขนาดของเอนไซม์มีขนาดใหญ่กว่าขนาดรูพรุนของแผ่นเยื่อกรองที่มีขนาด 10 กิโลดาลตัน (10 kDa) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าปริมาณโปรตีนที่พบร่วมกับเอนไซม์แลคเคสส่วนหนึ่งอาจเป็นโปรตีนหรือเอนไซม์ชนิดอื่นที่ปนในสารละลายเอนไซม์นี้



(ก)



(ข)

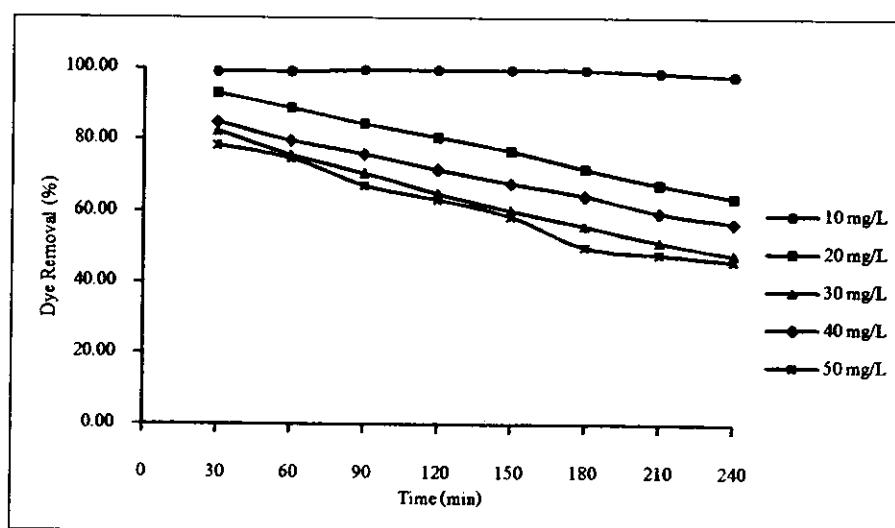
ภาพที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ที่เหลืออยู่ที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสารที่เข้าระบบเป็น 300, 400 และ 500 มิลลิลิตรต่อนาที (ก) ในรีเทนเจจ (ข) ในเพอเมจ

#### 4.2 การกำจัดสีเย้อมด้วยระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง

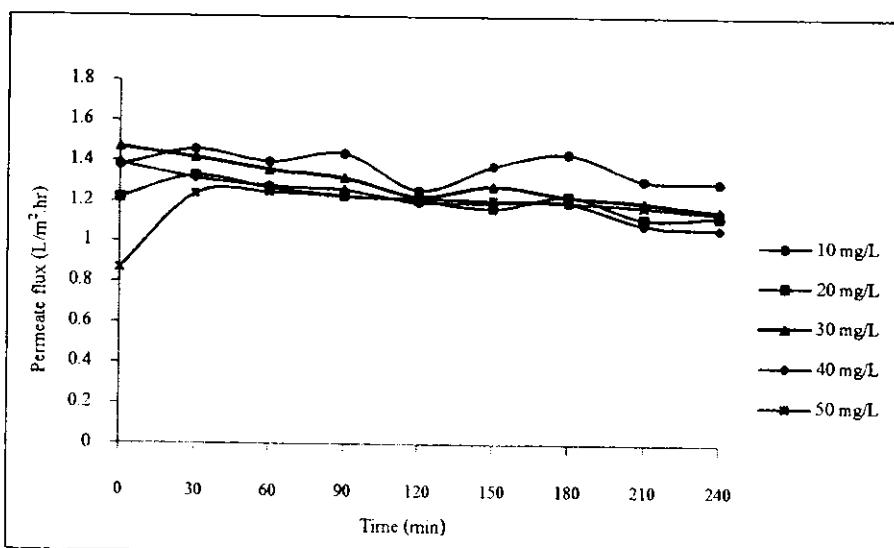
การศึกษาการกำจัดสีเย้อมแอดซิดบลู 80 ด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ปัจจัย คือ การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีเย้อมและอัตราการไหลของสีเย้อมที่เข้าสู่เยื่อกรอง เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายสีเย้อมเท่ากัน 7

##### 4.2.1 ผลของความเข้มข้นของสีเย้อมต่อการกำจัดด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง

การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสีเย้อมแอดซิดบลู 80 ด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองในครั้งนี้ ใช้อัตราการไหลของสีเยอมที่เข้าสู่เยื่อกรอง 300 มิลลิลิตรต่อนาที โดยความเข้มข้นของสีเยอม มีค่าเท่ากับ 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.3 และภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีเย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีเย้อมเป็น 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร



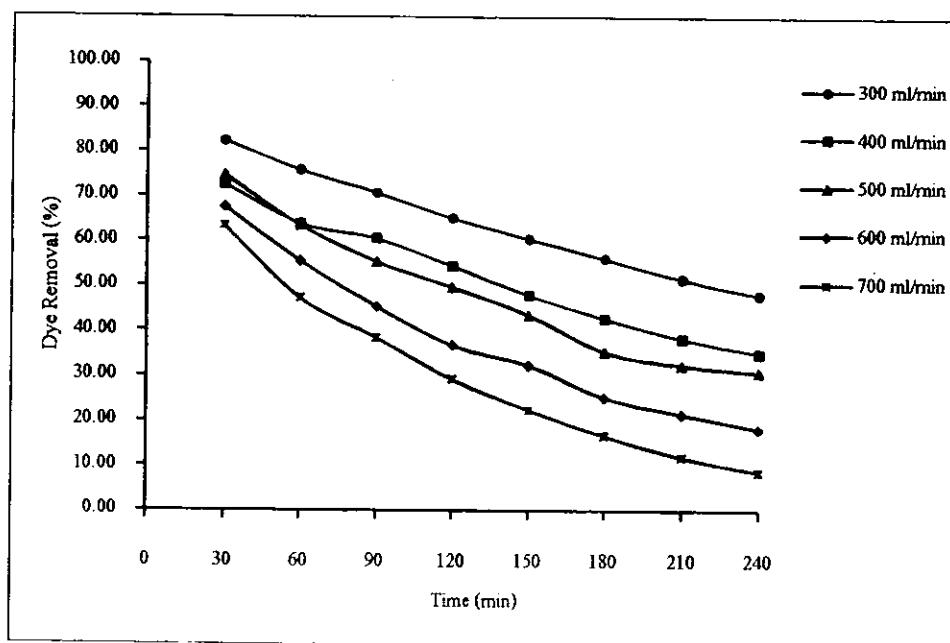
ภาพที่ 4.4 เพื่อmini-eject plungerที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีเย้อมเป็น 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากภาพที่ 4.3 พบว่าเมื่อเวลาในการดำเนินระบบมากขึ้นเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมมีค่าลดลง แสดงให้เห็นว่าสารละลายสีย้อมหลุดออกนอกรอบโดยผ่านเยื่อกรองได้มากขึ้น และเมื่อพิจารณาถึง ความเข้มข้นของสีย้อมต่อการกำจัดสีย้อมในเพอโนเจ พบว่าที่เวลา 240 นาที การกำจัดสีย้อมที่พบ ในเพอโนเจเป็น 97.87, 63.79, 47.87, 56.78 และ 46.12% ที่ความเข้มข้นของสีย้อม 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

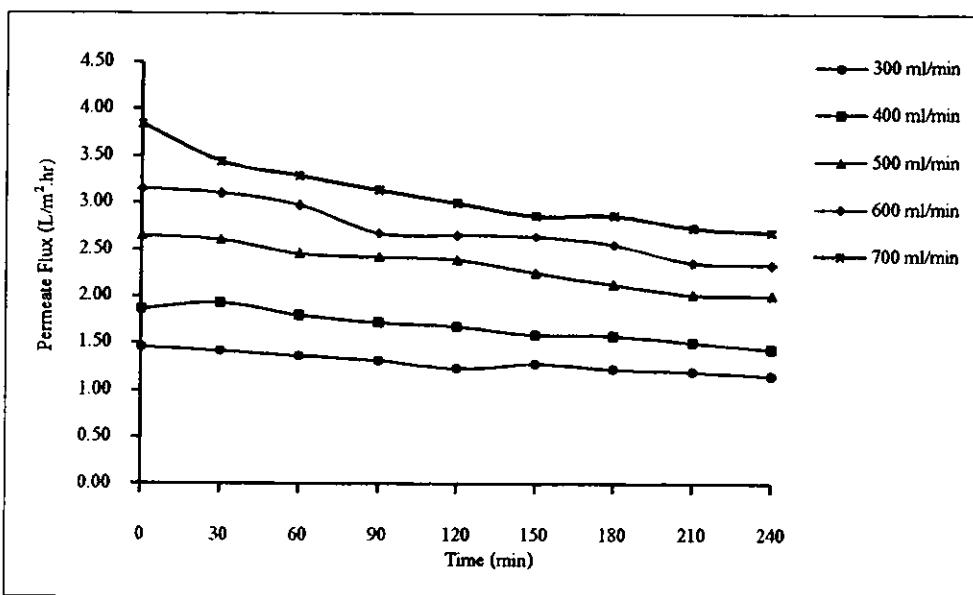
จากการศึกษาจะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อมส่งผลต่อการกำจัดสีย้อม โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสีย้อมจะทำให้สารละลายสีย้อมถูกกำจัดด้วยแผ่นเยื่อกรองได้น้อยลง ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมในเพอโนเจลดลง ในขณะเดียวกันเมื่อพิจารณาค่าเพอโนเจฟลักซ์ ซึ่งแสดงในภาพที่ 4.4 พบว่าความเข้มข้นของสีย้อมเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าเพอโนเจฟลักซ์ลดลง เนื่องจาก การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นสีย้อม ส่งผลต่อการสะสมของอนุภาคสีย้อมที่บริเวณผิวเยื่อกรอง ทำให้ ค่าเพอโนเจฟลักซ์ลดลง (อรชิรา เพ็ชร์ช้อย, 2552: 251)

#### 4.2.2 ผลกระทบอัตราการไหลต่อการกำจัดด้วยถังปฏิกิริย์เยื่อกรอง

ผลการศึกษาอัตราการไหลของสารที่เข้าสู่ระบบต่อการกำจัดสีย้อมแอชิดบูล 80 ด้วยถังปฏิกิริย์เยื่อกรอง ที่อัตราการไหล 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิลิตรต่อนาที ดังในภาพที่ 4.5 และภาพที่ 4.6 โดยความเข้มข้นของสีย้อมถูกควบคุมที่ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกิริย์เยื่อกรองที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสีย้อมเข้าระบบเป็น เท่ากับ 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิลิตรต่อนาที



ภาพที่ 4.6 เพื่อมอเจฟลักซ์ที่เวลาต่างๆเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสีย้อมเข้าระบบเท่ากับ 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิตรต่อนาที

เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมของถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง (ภาพที่ 4.5) พบว่าเมื่อเวลาในการเดินระบบเพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมมีแนวโน้มลดลง และเมื่อเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสารเข้าระบบทำให้เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมเปลี่ยนแปลงเดียวกัน โดยที่เวลา 240 นาที เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมเท่ากับ 47.87, 34.83, 30.76, 18.09 และ 8.68% ที่อัตราการไหล 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิตรต่อนาที ตามลำดับ เมื่อศึกษาค่าเพื่อมอเจฟลักซ์ (ภาพที่ 4.6) พบว่า อัตราการไหลที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าเพื่อมอเจฟลักซ์เพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มอัตราการไหลอาจเกิดการสะสมของอนุภาคสีย้อมในลักษณะแผ่นพิล์มที่ผิวเยื่อกรองและเมื่อเวลามากขึ้นจะเกิดการสะสมที่ผิวเยื่อกรองมากขึ้น ทำให้เกิดการแพร่ของสีย้อมบริเวณผิวแผ่นกรองไปยังเพื่อมอเจฟ ทำให้เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมลดลง (เสาวนีย์ เลิศวิไลยศ, 2545: 251)

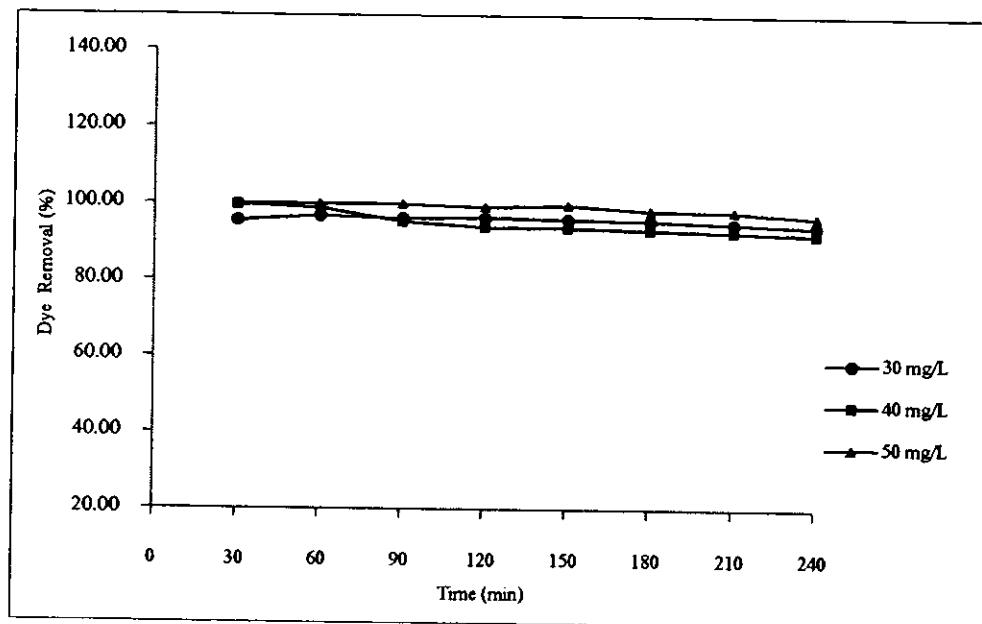
### 4.3 การกำจัดสีย้อมด้วยเอนไซม์แลคเคลสในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ

การศึกษาประสิทธิภาพของถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพที่มีต่อการกำจัดสีย้อมแอชิดบูล 80 แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ปัจจัย คือการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อมและอัตราการไหลของสีย้อมที่เข้าสู่ระบบเยื่อกรองโดยการศึกษาครั้งนี้ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายสีย้อมเท่ากับ 7 และความเข้มข้นของเอนไซม์ เท่ากับ 0.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

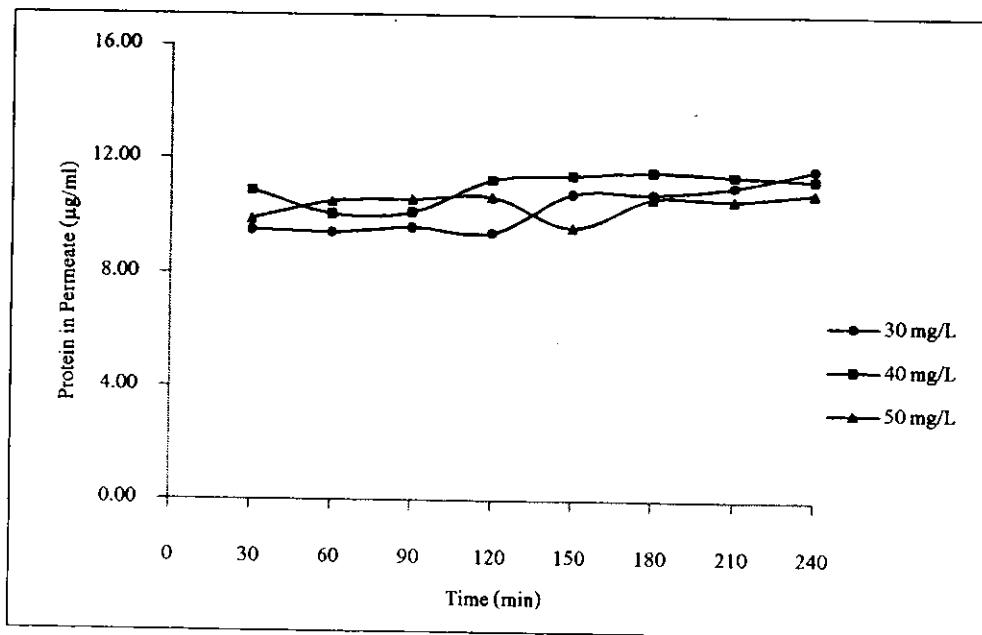
#### 4.3.1 ผลของความเข้มข้นของสีย้อมต่อการกำจัดในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ

ความเข้มข้นของสีย้อมที่ใช้ในการศึกษากำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพนี้ เลือกใช้ความเข้มข้นของสีย้อมที่ 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากผลการกำจัดสีย้อมของความเข้มข้นสีย้อมที่ 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง (ดังแสดงในหัวข้อ 4.2.1) ให้ผลการกำจัดค่อนข้างดี จึงไม่นำค่าความเข้มข้นของสีย้อมทั้งสองค่านี้มาศึกษาในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ สำหรับอัตราการไหลของสีย้อมเข้าสู่ระบบถูกควบคุมที่

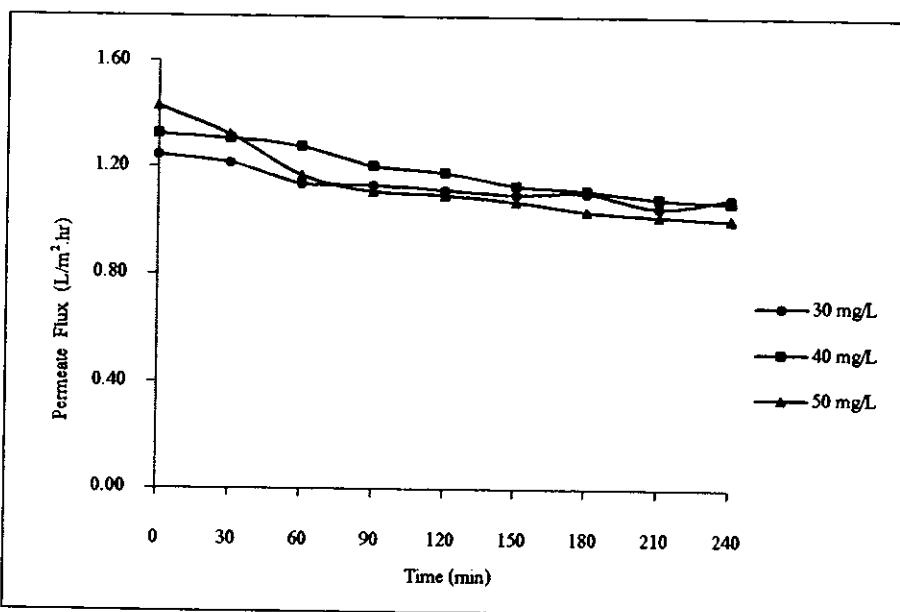
300 มิลลิลิตรต่อนาที ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ผลการศึกษาแสดงในภาพที่ 4.7 ถึงภาพที่ 4.9



ภาพที่ 4.7 เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อมเป็น 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4.8 ปริมาณโปรตีนที่พบริเวณนิเอจที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อมเป็น 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร



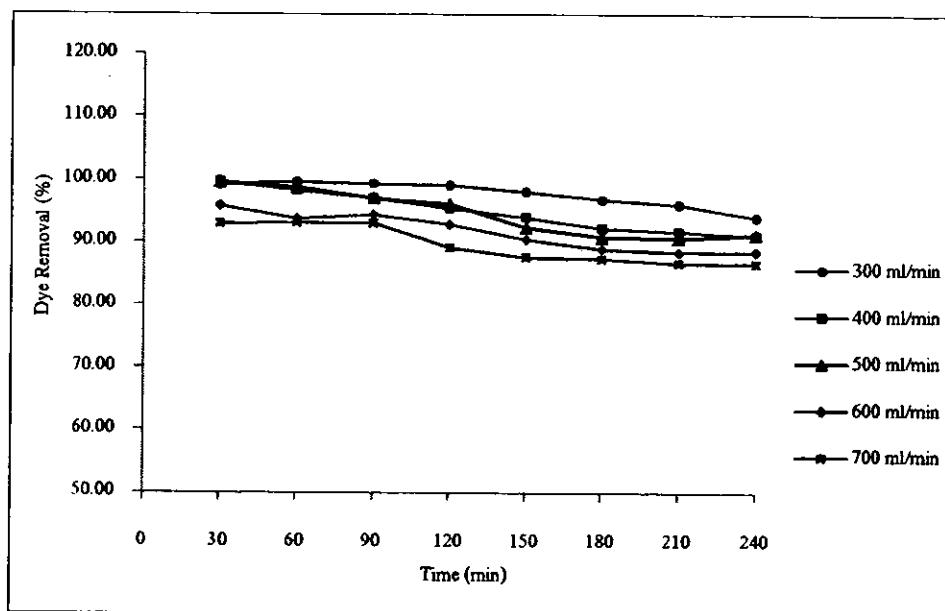
ภาพที่ 4.9 เพอเมิเอจฟลักร์ที่เวลาต่างๆเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อมเป็น 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการที่ 4.7 แสดงเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อม พบร่วมกับการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีย้อมในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพที่มีการเติมเอนไซม์แลคเคลส 0.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเดินระบบเป็นเวลา 240 นาที สามารถกำจัดสีย้อมได้ถึง 94.25, 92.12 และ 96.69% ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อม 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ค่าการกำจัดสีย้อมที่ได้พบว่าไม่แตกต่างกันมาก เนื่องจากเอนไซม์มีปริมาณมากพอที่จะเข้าทำปฏิกิริยา กับสีย้อมในระบบ นอกจากนี้ผลการศึกษา ยังแสดงให้เห็นว่าอย่างชัดเจนว่าการกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพสามารถกำจัดสีย้อมได้มากกว่า 90% ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์แลคเคลสในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายอนุภาคของสีย้อมได้ (เลอลักษณ์ จิตรดอน, 2551, 47)

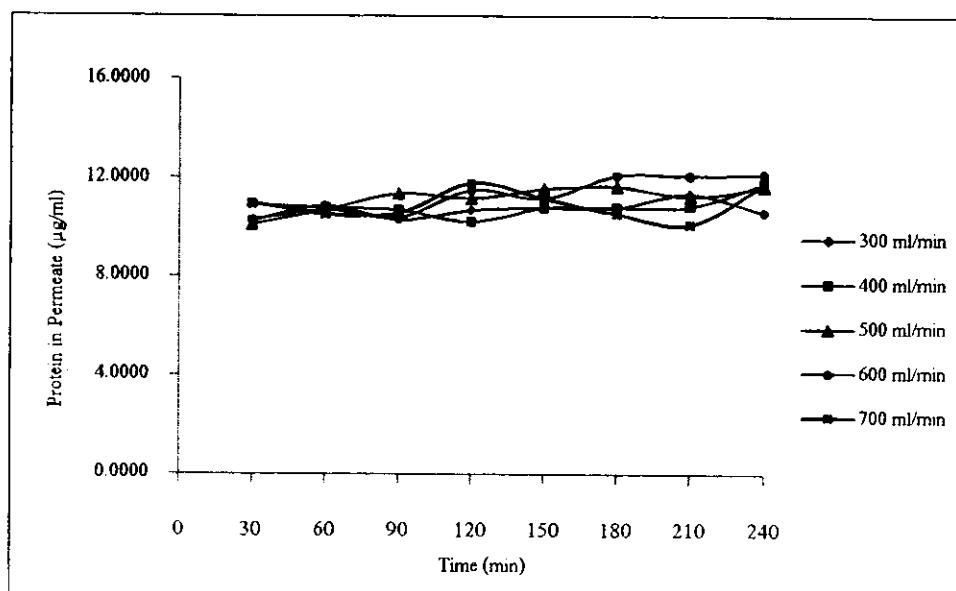
เมื่อพิจารณาปริมาณของเอนไซม์ที่หลุดออกจากระบบในรูปของปริมาณโปรตีนที่พบในเพอเมิเอจ ที่ความเข้มข้นของสีย้อมต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 4.8 พบร่วมปริมาณโปรตีนที่หลุดออกมามีใช้สีย้อมที่ความเข้มข้น 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าใกล้เคียงกัน คือ 11.66, 11.64 และ 10.80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสีย้อมไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณการหลุดของเอนไซม์ออกจากระบบ ปริมาณของเอนไซม์ในระบบยังคงใกล้เคียงกัน ส่งผลให้ค่าการกำจัดสีย้อมที่ได้ไม่แตกต่างกันมากด้วย สำหรับค่าเพอเมิเอจฟลักร์ที่ความเข้มข้นสีย้อมต่างๆ (ภาพที่ 4.9) ถึงแม้ว่าเห็นการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ชัดเจนเนื่องจากความเข้มข้นของสีย้อมที่ใช้ไม่ต่างกันมาก แต่แนวโน้มที่พบคือความเข้มข้นของสีย้อมเพิ่มขึ้นค่าเพอเมิเอจฟลักร์ลดลงทั้งนี้อาจเกิดจาก การสะสมของอนุภาคสีย้อมที่มากขึ้นบริเวณผิวเยื่อกรอง และเมื่อเปรียบเทียบเพอเมิเอจฟลักร์ของถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง (ภาพที่ 4.4) และถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ (ภาพที่ 4.9) มีค่าไม่ต่างกันมาก เนื่องจากปริมาณเอนไซม์ที่ใช้มีไม่มากทำให้การสะสมตัวของเอนไซม์บริเวณผิวเยื่อกรองที่จะส่งผลต่อค่าฟลักร์น้อย

#### 4.3.2 ผลของอัตราการไหลต่อการกำจัดในถังปฏิกิริยาระบบชีวภาพ

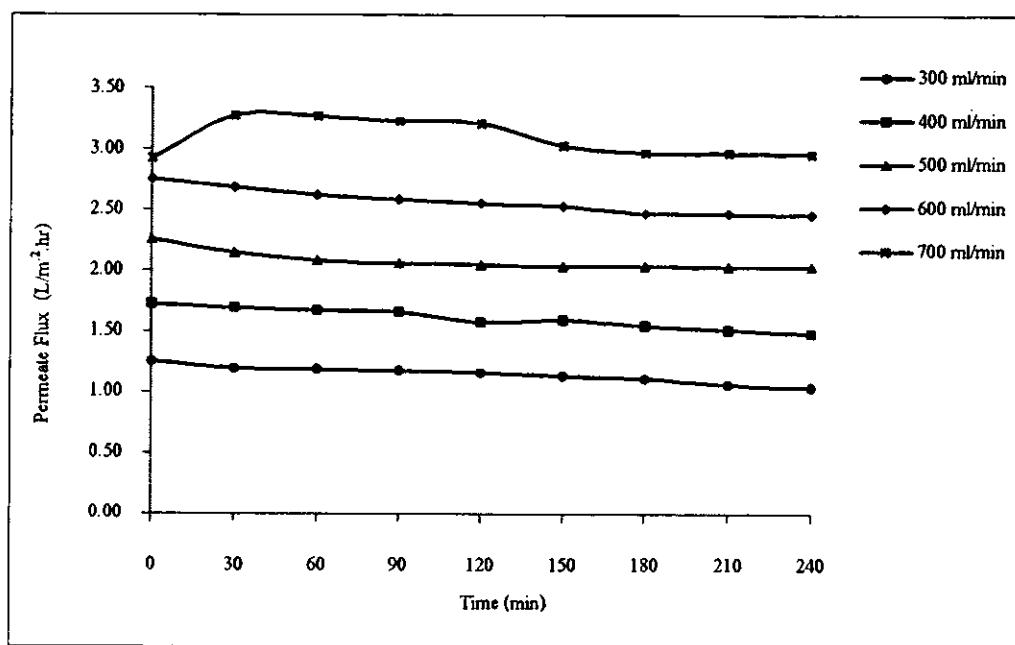
การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อมแอดิบลู 80 ด้วยถังปฏิกิริยาระบบชีวภาพ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสีย้อมเข้าระบบครั้งนี้ เลือกใช้ความเข้มข้นของสีย้อมที่ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ผลการศึกษาแสดงดังนี้



ภาพที่ 4.10 เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกิริยาระบบชีวภาพที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสีย้อมเข้าระบบเป็น 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4.11 ปริมาณโปรตีนที่พบร่วมกันในเพลเมจที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสีย้อมเข้าระบบเป็น 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4.12 เพอเมิโอเจฟลักซ์ที่เวลาต่างๆ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสีย้อมเข้าระบบ เป็น 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากภาพที่ 4.10 แสดงการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสารเข้าระบบถังปฏิกิริณ์ เมื่อกรองชีวภาพต่อค่าการกำจัดสีย้อม พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสารทำให้การกำจัดสีย้อม มีแนวโน้มลดลง โดยเมื่อเวลาเดินระบบผ่านไป 240 นาที สามารถกำจัดสีย้อมได้ 94.00, 91.04, 91.20, 88.57 และ 86.59% ที่อัตราการไหล 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาปริมาณของเอนไซม์ที่หลุดออกจากระบบในรูปของปริมาณโปรตีนที่พบ ในเพอเมิโอเจที่อัตราการไหลต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 4.11 พบร่วปริมาณโปรตีนที่หลุดออกมากในเพอเมิโอเจที่อัตราการไหล 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิลิตรต่อนาที มีค่าใกล้เคียงกัน คือ 11.66, 11.79, 11.66, 12.16 และ 11.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลในครั้งนี้ส่งผลต่อปริมาณเอนไซม์ที่หลุดออกจากระบบไม่มีต่างกันแต่ค่าการกำจัดสีย้อมที่ต่างกันน่าจะเป็นผลจากการระยะเวลาสัมผัสของเอนไซม์กับสีย้อมมากน้อยต่างกัน โดยที่อัตราการไหลของสารน้อยจะทำให้ระยะเวลาสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับสีย้อมนานขึ้นเกิดการทำปฏิกิริยาได้มาก สีย้อมจึงถูกกำจัดได้เพิ่มขึ้น สำหรับค่าเพอเมิโอเจฟลักซ์ที่เกิดขึ้นเมื่อเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสารเข้าระบบ (ภาพที่ 4.12) มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการไหลสูงขึ้นเช่นกัน

#### 4.4 การเปรียบเทียบการกำจัดสีย้อมด้วยระบบถังปฏิกิริณ์เมื่อกรองและระบบถังปฏิกิริณ์เมื่อกรองชีวภาพ

เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมเฉลี่ดบลู 80 ด้วยถังปฏิกิริณ์เมื่อกรองและถังปฏิกิริณ์เมื่อกรองชีวภาพ ถูกนำมาเปรียบเทียบและแสดงในตารางที่ 4.1 และตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 การกำจัดสีเย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองและถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ ที่เวลา 240 นาที เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีเย้อม

ความเข้มข้นสีเย้อม (mg/L)	การกำจัดสีเย้อม (%)	
	ระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง	ระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ
30	47.87%	94.25%
40	56.78%	92.12%
50	46.12%	96.69%

ตารางที่ 4.2 การกำจัดสีเย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองและถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ ที่เวลา 240 นาที เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสีเย้อมเข้าสู่ระบบ

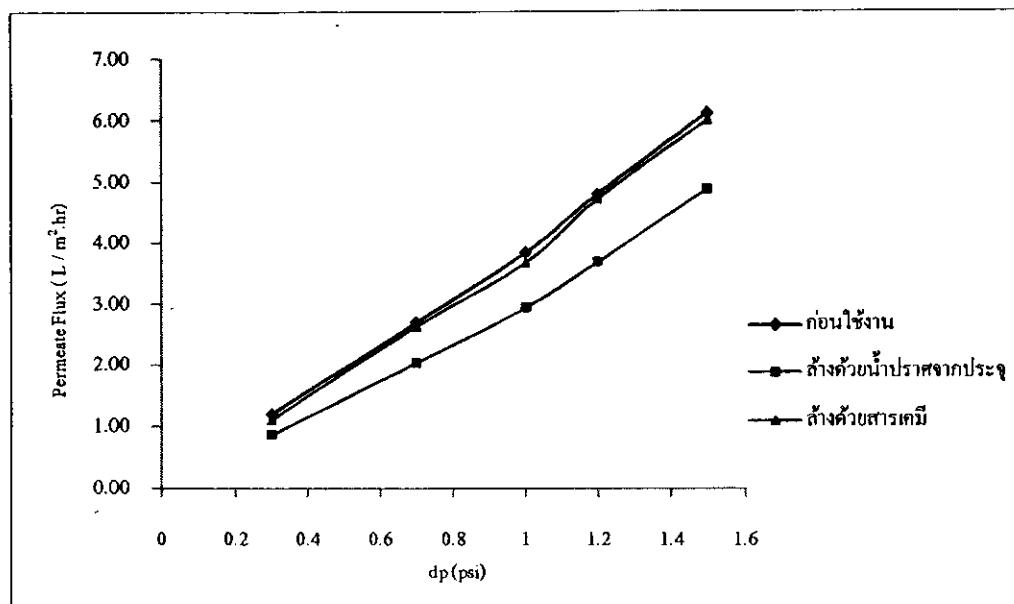
อัตราการไหล (mL/min)	การกำจัดสีเย้อม (%)	
	ระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง	ระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ
300	47.87%	94.00%
400	34.83%	91.04%
500	30.76%	91.20%
600	18.09%	88.57%
700	8.68%	86.59%

จากตารางที่ 4.1 แสดงผลการเปรียบเทียบการกำจัดสีเย้อมในเพอเมิเจด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง และถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ ที่เวลา 240 นาที เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสีเย้อม พบว่าเมื่อมีการเติมเอนไซม์แลคเคลสลงไปในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพส่งผลให้การกำจัดสีเย้อมเพิ่มขึ้นเป็น 1.96, 1.62 และ 2.09 เท่า จากการกำจัดสีเย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง ที่ความเข้มข้นสีเย้อมเพิ่มขึ้น เป็น 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการใช้ถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพมีการเติมเอนไซม์แลคเคลสลงไปในระบบสามารถกำจัดสีเย้อมได้เป็นอย่างดีเมื่อเทียบกับการกำจัดโดยใช้เยื่อกรองเพียงอย่างเดียว ส่วนค่าเพอเมิเจฟลักซ์ที่ได้จากทั้งสองระบบไม่มีความแตกต่างกันมาก ตั้งนี้อาจกล่าวได้ว่าปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ส่งผลต่อการอุดตันบนแผ่นเยื่อกรองน้อยมาก

เมื่อเปรียบเทียบการกำจัดสีย้อมในเพื่อมิเอกจด้วยถังปฏิกิริณเยื่อกรองชีวภาพกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสารเข้าระบบ (ตารางที่ 4.2) พบว่าการกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกิริณเยื่อกรองชีวภาพที่มีการเติมเอนไซม์แลคเคสเพิ่มขึ้นเป็น 1.96, 2.61, 2.96, 4.08 และ 9.97 เท่า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการไหล 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ จะเห็นว่าอัตราการไหลของระบบส่งผลการกำจัดสีย้อม โดยการกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกิริณเยื่อกรองมีค่าลดลงอย่างมาก เนื่องจากที่อัตราการไหลสูงทำให้ปริมาณสีย้อมผ่านระบบมากขึ้น ก็เกิดกระบวนการบริเวณผิวน้ำมากขึ้น เมื่อความเข้มข้นบริเวณดังกล่าวมีค่ามากจะทำให้เกิดการแพร่ของสารไปยังเพื่อมิเอกจได้มากขึ้นด้วย ในขณะที่การกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกิริณเยื่อกรองชีวภาพมีค่าต่างกันไม่มากเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์แลคเคส

#### 4.5 การล้างระบบถังปฏิกิริณเยื่อกรองชีวภาพ

การล้างระบบถังปฏิกิริณเยื่อกรองชีวภาพนี้ แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ การล้างเยื่อกรองก่อนใช้งาน การล้างเยื่อกรองหลังใช้งานด้วยน้ำปราศจากประจุและล้างด้วยสารเคมี หลังจากล้างแล้ว ทดสอบค่าเพื่อมิเอกฟลักซ์ที่ความดันของระบบต่างกัน (psi) ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 4.13



ภาพที่ 4.13 เพื่อมิเอกฟลักซ์ที่ความดันต่างๆ เมื่อเดินระบบด้วยน้ำปราศจากประจุก่อนการใช้งาน และหลังการใช้งาน และด้วยสารเคมี

จากภาพที่ 4.13 พบว่าค่าเพื่อมิเอกฟลักซ์เพิ่มขึ้น เมื่อความดันของระบบสูงขึ้น โดยหลังจากนำชุดเยื่อกรองที่ใช้งานในระบบถังปฏิกิริณแล้วมาล้างด้วยน้ำปราศจากประจุ พบว่าค่าเพื่อมิเอกฟลักซ์ลดลง โดยจะลดลงจากค่าเดิมในการล้างก่อนการใช้งาน แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำปราศจากประจุล้างเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอต่อการทำความสะอาดเยื่อกรอง แต่เมื่อล้างชุดเยื่อกรองด้วยสารเคมี ส่งผลทำให้ค่าเพื่อมิเอกฟลักซ์มีค่าเพิ่มสูงขึ้นในระดับที่ใกล้เคียงกับชุดเยื่อกรองก่อนการใช้งาน ผล

การศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการล้างด้วยสารเคมีเป็นวิธีการทำความสะอาดชุดเยื่อกรองที่ทำให้คุณสมบัติของเยื่อกรองกลับมาอยู่ในสภาพที่เหมือนเดิมได้เมื่อเปรียบเทียบกับการล้างด้วยน้ำปราศจากประจุเพียงอย่างเดียว

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาการกำจัดสีีย้อมแอดิบูล 80 ด้วยเอนไซม์แลคเคสจาก *Lentinus polychrous* ในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น การศึกษาสถิติรากของเอนไซม์แลคเคสในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง การกำจัดสีีย้อมด้วยของระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง และการกำจัดสีีย้อมด้วยระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ โดยควบคุมความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ 0.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายเท่ากับ 7 และทดลองในระดับห้องปฏิบัติการอุณหภูมิในการศึกษาอยู่ที่  $28 \pm 3$  องศาเซลเซียส สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังต่อไปนี้

##### 5.1.1 การศึกษาสถิติรากของเอนไซม์ในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง

การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสารส่งผลต่อการคงอยู่ของเอนไซม์ในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองโดยมีอัตราการไหลเป็น 300, 400 และ 500 มิลลิลิตรต่อนาที ที่เวลาดำเนินระบบ 240 นาที พบร่วมค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ที่เหลือในระบบคือ 59.20, 66.20 และ 63.66% ในขณะที่เอนไซม์ในส่วนเพอเมเจพ 4.96, 15.61 และ 26.42% ตามลำดับ สำหรับเอนไซม์ที่หายไปน่าจะเกิดการสะสมตัวบริเวณแผ่นเยื่อกรอง ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์แลคเคสสามารถถูกกักไว้ในระบบเยื่อกรองได้มากกว่า 70%

##### 5.1.2 การกำจัดสีีย้อมด้วยระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรอง

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีีย้อมแอดิบูลที่มีต่อการกำจัดสีีย้อมด้วยระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองโดยควบคุมอัตราการไหลของสารเข้าระบบที่ 300 มิลลิลิตรต่อนาที พบร่วมความเข้มข้นของสีีย้อมทำให้เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีีย้อมลดลง โดยที่ความเข้มข้นของสีีย้อม 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร การกำจัดสีีย้อมเป็น 97.87, 63.79, 47.87, 56.78 และ 46.12% ตามลำดับ ที่เวลา 240 นาที และค่าเพอเมเจฟลักซ์มีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของสีีย้อมเพิ่มขึ้น เมื่อเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสารเข้าระบบโดยควบคุมความเข้มข้นของสีีย้อมที่ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าการกำจัดสีีย้อมลดลงอย่างชัดเจนเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้น ซึ่งเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีีย้อมที่ 240 นาที เท่ากับ 47.87, 34.83, 30.76, 18.09 และ 8.68% ที่อัตราการไหล 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิลิตรต่อนาที สำหรับค่าเพอเมเจฟลักซ์จะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้น

##### 5.1.3 การกำจัดสีีย้อมด้วยเอนไซม์แลคเคสในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ

การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสีีย้อมในถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพที่มีการเติมเอนไซม์แลคเคส 0.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร อัตราการไหลของสีีย้อมเข้าสู่ระบบถูกควบคุมที่ 300 มิลลิลิตรต่อนาที เมื่อเดินระบบเป็นเวลา 240 นาที สามารถกำจัดสีีย้อมได้ถึง 94.25, 92.12 และ 96.69% ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีีย้อม 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองค่าการกำจัดเพิ่มขึ้นเป็น 1.96, 1.62 และ 2.09 เท่า ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การใช้ถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพที่มีการเติมเอนไซม์แลคเคสลงไปในระบบสามารถกำจัดสีีย้อมได้เป็น

อย่างตีเมื่อเทียบกับการกำจัดโดยใช้เยื่อกรองเพียงอย่างเดียว ส่วนค่าเพอมิเจฟลักซ์ที่ได้จากห้องระบบไม่มีความแตกต่างกันมาก

การเปลี่ยนแปลงอัตราการไหลของสารเข้าระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพต่อค่าการกำจัดสีย้อม พบร่วมกันที่เพิ่มอัตราการไหลของสารทำให้การกำจัดสีย้อมมีแนวโน้มลดลง โดยที่เวลา 240 นาที สามารถกำจัดสีย้อมได้ 94.00, 91.04, 91.20, 88.57 และ 86.59% เมื่ออัตราการไหลเป็น 300, 400, 500, 600 และ 700 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบการกำจัดสีย้อมในเพอมิเจฟลักซ์ที่ถังปฏิกรณ์เยื่อกรองและถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพที่อัตราการไหลต่างๆ ค่าการกำจัดเพิ่มขึ้นเป็น 1.96, 2.61, 2.96, 4.08 และ 9.97 เท่า ตามลำดับ ผลที่เกิดขึ้นแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าค่าการกำจัดสีย้อมส่วนใหญ่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์แลคเคลสที่อยู่ในสลายสีย้อมในระบบ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

- 5.2.1 การทำการทดลองกับตัวอย่างน้ำเสียจากแหล่งน้ำธรรมชาติ
- 5.2.2 การทำการศึกษาโดยใช้เอนไซม์ที่สกัดจากเชื้อราชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในกลุ่ม oxidoreductase เพื่อเปรียบประสมสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมของระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ
- 5.2.3 การทำการศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมชนิดอื่นๆ เช่น สีย้อมในกลุ่มอะโซ่ กลุ่มเบสิก และกลุ่มอินดิกอยด์ เป็นต้น เพื่อเปรียบเทียบกับสีที่ใช้ในการทดลอง
- 5.2.4 การทำการศึกษาปัจจัยอื่นๆ ที่ส่งผลต่อการกำจัดสีย้อมในระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ เช่น ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ ค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายสีย้อม อุณหภูมิที่ใช้ในระบบ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

## เอกสารอ้างอิง

- ข้อมูลกฎหมายไทย. “ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ.2539) เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบาดน้ำทึ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม”, กฎหมาย. <http://law.longdo.com/law/587/sub41976#>. 22 กรกฎาคม, 2556.
- ขันทอง สุนทรภava. เทคโนโลยีเยื่อกรองการแยกด้วยเมมเบรน. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2545.
- ทักษิณ ฤกษ์สำราญ. การศึกษาชนิดและขนาดของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและสารอาหารที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ย่อยลิกินินของ *Pleurotus ostreatus* DOA10 เพื่อใช้การจัดสีย้อม. การค้นคว้าอิสระปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2552.
- ปิยรัตน์ วัฒนศักดิ์. การลดความเข้มสีย้อมนิเคราะห์ออกทิฟของน้ำเสียสังเคราะห์โดยใช้เชื้อราเบสิคไม่ใช้คีโนถั่งปฏิกรณ์ชีวภาพแบบมีเยื่อกรองละเอียดจนตัว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2549.
- พัฒนาพงษ์ ติชรา. การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ความเข้มข้นสูงโดยระบบถั่งปฏิกรณ์ชีวภาพแบบใช้เมมเบรน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2552.
- พิชิตพล เจริญทรัพยานันท์. “เอนไซม์: เทคโนโลยีชีวภาพ”. วิทยานิพนธ์ปริญญาอุตสาหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร, 2550. อ้างอิงจาก Sharma and et al. In vivo enzymatic digestion, in vitro xylanase digestion, metabolic analogues, surfactants and polyethylene glycol ameliorate laccase production from *Ganoderma* sp. kk-02. Kurukshetra: Kurukshetra University, 2005
- \_\_\_\_\_\_. เอนไซม์: เทคโนโลยีชีวภาพ. วิทยานิพนธ์ปริญญาอุตสาหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร, 2550. อ้างอิงจาก Shin and et al. Purification and Characterization of a Laccase from the White-Rot Fungus *Trametes multicolor*. Vienna: University of Agricultural Sciences, 2001.
- \_\_\_\_\_\_. เอนไซม์: เทคโนโลยีชีวภาพ. วิทยานิพนธ์ปริญญาอุตสาหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร, 2550. อ้างอิงจาก Novozyme. Laccase from *Myceliophthora Thermophila* expressed in *Aspergillus Oryzae*. Bilthoven: National Institute for Public Health and the Environment, 1996.

### เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- \_\_\_\_\_ เอนไซม์: เทคโนโลยีชีวภาพ. วิทยานิพนธ์ปริญญาอุตสาหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร, 2550. อ้างอิงจาก Campos and et al. **Decolorization of textile dyes and their effluents using white rot fungi.** Tamil Nadu: University of Madras, 2001.
- \_\_\_\_\_ เอนไซม์: เทคโนโลยีชีวภาพ. วิทยานิพนธ์ปริญญาอุตสาหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร, 2550. อ้างอิงจาก Setti and et al. **Laccase: Properties and Applications.** Mumbai: University Institute of Chemical Technology, 1993.
- \_\_\_\_\_ เอนไซม์: เทคโนโลยีชีวภาพ. วิทยานิพนธ์ปริญญาอุตสาหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร, 2550. อ้างอิงจาก Mustafa and et al. **Phenolic colorants obtained by enzymatic synthesis using a fungal laccase in a hydro-organic biphasic system.** Damascus: Al-Baath University, 2005.
- รัตนा จิระรัตนานนท์. กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่นสังเคราะห์. พิมพ์ครั้งที่ 2.  
กรุงเทพมหานคร: ไทยเลิศ, 2543.
- เดอลักษณ์ จิตรดอน และชุภกาน ธีระภัทรสกุล. “ความสำเร็จในการใช้เอนไซม์ย่อยลิกนินชนิดใหม่”,  
นิตยสารประชาคมวิจัย. 15(132): 118-119; ตุลาคม, 2551.
- สุดสายชล หอมทอง และสุบันทิต นิมรัตน. “การพัฒนาระบบบำบัดสีกุ่มอะโซดด้วยวิธี  
ผสมผสาน”, วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี. 1(1): 101-112; เมษายน,  
2551.
- เสาวนีย์ เลิศวิไลยศ และคณะ. “อิทธิพลของขนาดรูพรุนและประจุของแผ่นเยื่อกรองอัลตร้าฟิลเตอร์ชั้น  
ที่มีต่อค่าไฟลักซ์และการกักกัน”, วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. 25(2) 167-184;  
เมษายน- มิถุนายน, 2545.
- อรชีรา เพ็ชร์ช้อย และคณะ. “การย่อยสลายทางชีวภาพของสีรีแอกทิฟโดยเชื้อราเส้นใยสีขาว  
*Datronia* sp. KAPI0039”, ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย  
เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. น. 245-252. กรุงเทพมหานคร, 2552.
- Arica and et.al. “Immobilization of laccase onto poly (glycidylmethacrylate) brush  
grafted poly (hydroxyethylmethacrylate) films: enzymatic oxidation  
of phenolic Compounds”, Materials Science and Engineering. C29:  
1990-1997; August, 2009.
- C.H. Xing and et.al. “Ultrafiltration membrane bioreactor for urban wastewater  
Reclamation”, Journal of Membrane Science. 177(1-2): 73-82; August,  
2000.

### ເອກສາຮ້າງອົງ (ຕ່ອ)

- Claus, H. "Laccases and their occurrence in prokaryotes", *Archives of Microbiology*. 179(3): 145-150; February, 2004.
- Debendra K. Sahoo and Rimpay Gupta. "Evaluation of ligninolytic microorganisms for efficient decolorization of a small pulp and paper mill effluent", *Process Biochemistry*. 40(5): 1573–1578; April, 2005.
- Dedeyan R, Klonowska and et al. "Biochemical Decline during Protein Microfiltration", *Journal of Membrane Science*. 119(2): 153-165; October, 2000.
- Dooley et.al. "Purification and characterization of a secreted laccase of Gaeumannomyces graminis var. tritici. *Appl Environ Microbiol*. 65(7): 3071-3074; July, 1999.
- E.J. McAdam and et al. "A review of membrane bioreactor potential for nitrate removal from drinking water", *Desalination*. 196(1-3): 135–148; September, 2006.
- Fernandez- Fernandez M. and et al. "Recent developments and applications of immobilized laccase", *Biotechnology Advances*. 31(8): 1808-1825; December, 1996.
- I.G. Wenten and et al. "Enzymatic hollow fiber membrane bioreactor for penicillin Hydrolysis", *Desalination*. 149(1-3): 279–285; April, 2002.
- Korsten , P.J. and et al. "Comparison if lignin peroxidase, horse-radish-peroxidase and laccaseb in the oxidation of methoxybenzenes", *Biochemical Journal*. 268(1): 475-480; June, 1990.
- Kovasin. "Modeling Ultrafiltration and Filtration Phenomena Applied in Chemical Pulping Processes", *Filtration & Separation*. 25(1): 42-45; February, 2002.
- Levine, W.G. "Metabolism of azo dyes: implication for detoxification and activation", *Drug Metabolism Review*. 23(3-4): 253-309; February, 1991.
- Luong N. Nguyen. and et al. "Removal of micropollutants by an enzymatic membrane Reactor", *Journal of Membrane Science*. 383(1): 144-151; February, 2011.
- Maria Fernandez and et.al. "Recent developments and applications of immobilized Laccase", *Biotechnology Advances*. 31(8): 1808-1825; December, 2011.
- Osamu, O. "ProcessOrganic waste water treatment by activated sludge process using integrated type membrane separation", *Biotechnology Advances*. 98(1-3): 17-25; September, 2001.

### เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Palneri and et al. "A novel white laccase from *Pleurotus ostreatus*", *Journal of Biological Chemistry*. 272(50): 31301-31317; December, 1997.
- Ryde. and et. al. "Quantum chemical geometry optimizations in proteins using Crystallographic raw data", *Journal of Computational Chemistry*. 23(11): 1058–1070; August, 2007.
- Riva S. "Laccases: blue enzymes for green chemistry", *Trends in Biotechnology*. 24(5): 219-226; May, 2006.
- Saito. "Purification and characterization of an extracellular laccase of a fungus (family Chaetomiaceae) isolated from soil", *Enzyme and Microbial Technology*. 33(4): 520–526; September, 2003.
- Thurston .CF. "The structure and function of fungal laccases", *Microbiology*. 140(1): 19-26; January, 1994.
- Xinsheng Luu. and et al "Synergic adsorption of acid blue 80 and heavy metal ions ( $Cu^{2+}/Ni^{2+}$ ) onto activated carbon and its mechanisms", *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 27(3): 164-174; January, 2015.
- Xu, F. "Applications of oxidoreductases, recent progress", *Industrial Biotechnology*. 1(1): 38-50; March, 1996.
- Zoolinger, H. "Color chemistry-syntheses, properties and applications of organic dyes and pigments", *Color Chemistry*. 67(3): 385-386; January, 1987.

**ภาคผนวก**

ภาคผนวก ก  
การเตรียมสารละลาย

## ก.1 การหาค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme Activity)

### 1. การเตรียมสาร

1.1 การเตรียมสารละลายน้ำโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ (ตามวิธีของ Stoll and Blanchard, 1990)

สารละลาย ก : 0.2 M acetic acid (11.55 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 1 ลิตร) ปีเปตรา 28 มิลลิลิตร

สารละลาย ข : 0.2 M sodium acetate ( $C_2H_3O_2Na$  16.4 กรัม ละลายน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร) ปีเปตรา 22 มิลลิลิตร

เตรียมโดยผสมสารละลาย ก และ ข ตามสัดส่วนข้างต้น ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร และปรับค่า pH ให้เป็น 4.5

### 1.2 การเตรียมสารละลาย ABTS

เนื่องจากต้องการเตรียมสารละลาย ABTS ที่ความเข้มข้น 10 mM โดยต้องการเตรียม 2 มิลลิลิตร และน้ำหนักโมเลกุลของ ABTS เท่ากับ 514.62 จึงซึ่ง ABTS มา 0.0103 กรัม รวมกับน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร

### 1.3 การเตรียมสารละลาย TCA

เนื่องจากต้องการเตรียมสารละลาย TCA ที่ความเข้มข้น 80% w/w โดยต้องการเตรียม 5 มิลลิลิตร จึงซึ่ง TCA มา 4 กรัม รวมกับน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร

### 2. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

สารละลายตัวอย่างเอนไซม์ 50 ไมโครลิตร เดิมโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ ปริมาตร 940 ไมโครลิตร และ เดิม ABTS ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม 80% w/v TCA ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เพื่อยุดปฏิกิริยานำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร และบันทึกผลการทดลองนำมาคำนวณค่ากิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ดังสมการที่ (1)

$$\text{Enzyme Activity} = \frac{(A_{420})(0.001 \times 10^4)(D)}{(\varepsilon)(V)(t)} \quad (\text{ก.1})$$

เมื่อ  $A_{420}$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm.

$D$  = Dilution factor

$\varepsilon$  = ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420nm. เท่ากับ  $3.6 \times 10^4$

$V$  = ปริมาตรของ enzyme ที่ใช้ทำปฏิกิริยา (ml)

$t$  = เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา (min.)

Enzyme Activity มีหน่วยเป็น unit/ml

## ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford

### 1. การเตรียมสาร Bradford reagent

1.1 ละลาย Coomassie brilliant blue G250 ปริมาตร 50 มิลลิกรัม ลงในเอทานอลเข้มข้น 95% ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

1.2 เติมสารละลาย phosphoric acid เข้มข้น 85% (w/v) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร

1.3 นำสารละลายมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เก็บสารละลายไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  ใช้ได้ 1 เดือน

### 2. การเตรียมกราฟมาตรฐานโปรตีน

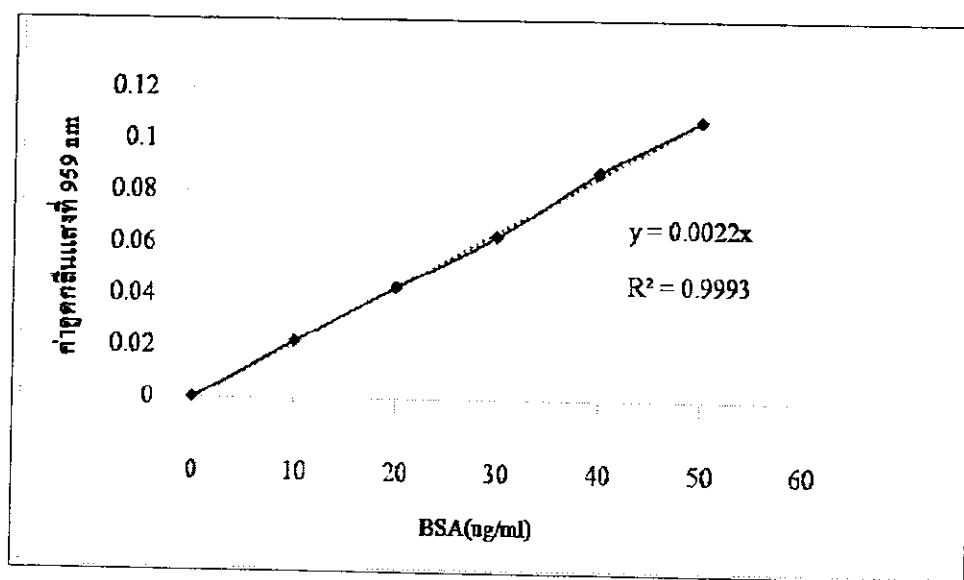
2.1 เตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน (Stock) ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยชั้งสาร BSA (Bovine Serum Albumin) มาก 0.1 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

2.2 ปีเปตสารละลาย BSA (Bovine Serum Albumin) ที่ความเข้มข้น 200-1000 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร มาก 40 ไมโครลิตร

2.3 เติม Bradford reagent ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

### 3. วิธีวิเคราะห์

ปีเปตสารละลายตัวอย่างมาก 40 ไมโครลิตร เติมสาร Bradford reagent 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และนำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร



ภาพที่ ก.1 กราฟมาตรฐานโปรตีน

### ก.3 การเตรียมสารละลายน้ำสีเย้อม แอซิดบลู 80

#### 1. การเตรียมสีเย้อม (Stock Dye)

- ความเข้มข้นของสีเย้อมที่ใช้คือ 10 mg/l, 20 mg/l, 30 mg/l, 40 mg/l, 50 mg/l ดังนั้น
- 1.1 ทำการเตรียมสีเย้อม (stock dye) 2 mg/ml โดยชั่งสาร 0.002 กรัม ละลายในน้ำ 1ml
  - 1.2 ปฏิกริยาร่วมทั้งหมด คือ 2 ml เตรียมความเข้มข้นของสีเย้อมโดยการปีเปต stock dye ในปริมาตรสามารถคำนวณจาก

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (\text{ก.2})$$

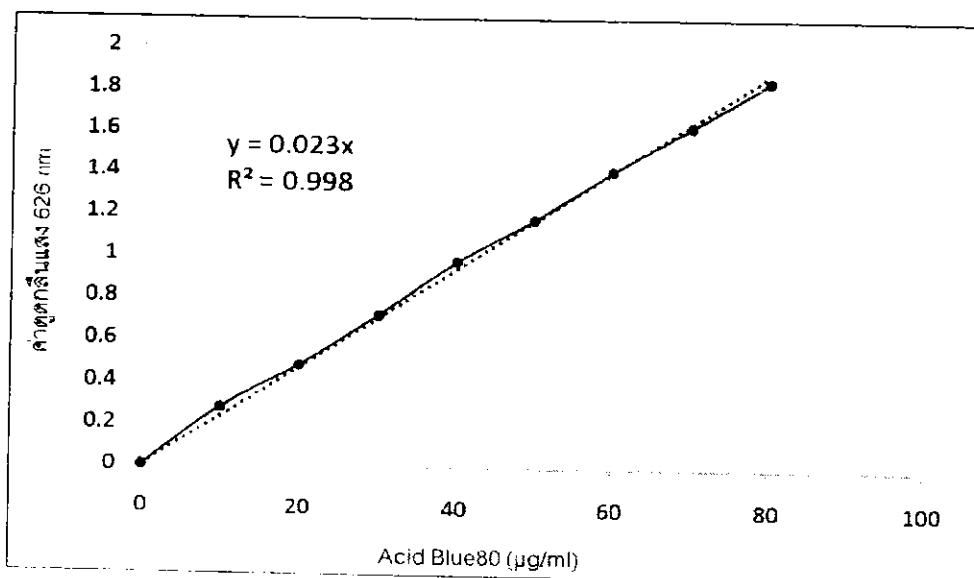
ตัวอย่างการคำนวณเช่นที่ความเข้มข้นของสีเย้อม 10 mg/l สามารถคำนวณปริมาตรสีเย้อม Stock dye ได้ ดังนี้

$$2 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \times V_1 = 10 \frac{\text{mg}}{\text{l}} \times 2\text{ml} \times \frac{\text{l}}{1000\text{ml}} \quad (\text{ก.3})$$

เพราะจะนั้น  $V_1=0.01 \text{ ml} = 10 \mu\text{l}$

เจือจางกับสารละลายโซเดียมอะซิตอเบบบเฟอร์ ในปริมาณต่างๆ ดังนี้

ความเข้มข้น	10 mg/l	ใช้ stock dye 10 $\mu\text{l}$
ความเข้มข้น	20 mg/l	ใช้ stock dye 20 $\mu\text{l}$
ความเข้มข้น	30 mg/l	ใช้ stock dye 30 $\mu\text{l}$
ความเข้มข้น	40 mg/l	ใช้ stock dye 40 $\mu\text{l}$
ความเข้มข้น	50 mg/l	ใช้ stock dye 50 $\mu\text{l}$



ภาพที่ ก.2 กราฟมาตรฐานสีเย้อมแอซิดบลู 80

ภาคผนวก ข  
ผลการทดลอง

1. เส้นรากพอกในระบบถังปฏิกรณ์เมื่อการซึม

ตารางที่ บ.1 ร่องรอยของอนามัยในระบบถังปฏิกรณ์เมื่อการซึมที่อัตราการไหลของระบบ 300, 400 และ 500 mL/min

Time	Flow Rate (mL/min)											
	300		400		500							
	% Retentate	% Permeate	Activity	Protein	Activity	Protein	% Retentate	% Permeate	Activity	Protein	Activity	Protein
0	98.11	88.07	0.04	0.07	97.09	89.45	0.08	0.14	92.63	84.86	0.16	0.23
30	78.51	84.40	0.78	1.59	89.78	78.90	2.33	3.73	79.67	79.36	4.05	5.86
60	77.24	78.90	1.52	2.97	86.94	79.82	4.42	7.41	78.88	73.85	7.52	10.84
90	76.28	66.51	2.25	4.35	80.29	76.15	6.55	10.88	75.49	80.73	11.30	16.11
120	72.51	64.68	2.99	5.25	73.50	77.52	8.44	13.55	72.64	79.36	14.43	18.92
150	72.68	61.93	3.55	6.20	69.52	69.72	10.54	14.87	68.84	74.31	17.47	22.87
180	70.59	61.93	4.13	7.37	67.19	71.56	12.26	16.76	66.88	71.10	20.43	24.77
210	64.14	61.47	4.52	8.29	66.06	69.72	13.83	19.74	64.21	72.94	23.46	25.97
240	59.20	64.68	4.96	9.24	66.20	67.43	15.61	21.45	63.66	71.10	26.42	26.73

2. การกำจัดสีออกน้ำด้วยระบบปั๊มน้ำปฏิกิริยายน้ำออกของ

2.1 ผลของการกำจัดสีออกน้ำด้วยการนำตัวยั่งปั๊มน้ำปฏิกิริยายน้ำออกของ

ตารางที่ บ.2 ข้อมูลผลการกำจัดสีออกน้ำด้วยการนำตัวยั่งปั๊มน้ำปฏิกิริยายน้ำออกของ

Time (min)	Concentration (mg/L)						50 mg/L
	10 mg/L	20 mg/L	30 mg/L	40 mg/L	50 mg/L		
% Dye Removal	Flux (L/m <sup>2</sup> .hr)	% Dye Removal	Flux (L/m <sup>2</sup> .hr)	% Dye Removal	Flux (L/m <sup>2</sup> .hr)	% Dye Removal	Flux (L/m <sup>2</sup> .hr)
0	98.72	1.38	96.42	1.22	96.84	1.46	96.21
30	99.15	1.46	93.05	1.34	82.30	1.42	84.86
60	99.15	1.40	88.84	1.27	75.72	1.37	79.71
90	99.57	1.44	84.42	1.24	70.64	1.32	75.92
120	99.57	1.26	80.63	1.21	65.02	1.24	71.71
150	99.57	1.38	76.84	1.18	60.36	1.28	67.82
180	99.57	1.44	71.79	1.23	55.97	1.23	64.35
210	98.72	1.31	67.37	1.12	51.44	1.20	59.62
240	97.87	1.30	63.79	1.13	47.87	1.16	56.78
						1.07	46.12
						1.16	1.16

## 2.2 ผลของอัตราการไฟล์ต่อการกำจัดตัวยังดับปฏิกรัณเยื่อกรอง

ตารางที่ ๖.๓ ข้อมูลการกำจัดสีย้อมตัวยังดับปฏิกรัณเยื่อกรอง ที่อัตราการไฟล์ของเสื้อผ้าระบบต่างๆ

Time (min)	Flow rate (m³/min)						%Dye Removal			
	300 m³/min		400 m³/min		500 m³/min		600 m³/min		700 m³/min	
	%Dye Removal	Flux (L/m <sup>2</sup> .hr)	%Dye Removal	Flux (L/m <sup>2</sup> .hr)	%Dye Removal	Flux (L/m <sup>2</sup> .hr)	%Dye Removal	Flux (L/m <sup>2</sup> .hr)	%Dye Removal	
0	96.84	1.46	93.71	1.87	92.84	2.65	91.73	3.15	90.48	3.84
30	82.30	1.42	72.59	1.93	74.58	2.61	67.60	3.10	63.31	3.44
60	75.72	1.37	63.78	1.80	63.34	2.46	55.40	2.98	47.20	3.29
90	70.64	1.32	60.42	1.72	55.20	2.42	45.30	2.68	38.38	3.14
120	65.02	1.24	54.27	1.68	49.58	2.39	36.75	2.65	29.27	3.00
150	60.36	1.28	47.83	1.59	43.40	2.26	32.26	2.64	22.41	2.86
180	55.97	1.23	42.66	1.58	35.25	2.13	25.11	2.55	16.67	2.86
210	51.44	1.20	38.18	1.51	32.30	2.02	21.46	2.36	11.90	2.74
240	47.87	1.16	34.83	1.44	30.76	2.01	18.09	2.33	8.68	2.69

3. การกำจัดสีเม็ดสีของน้ำเสียโดยการใช้เคมีเคมีในระบบปฏิกรณ์เยื่ออาระอ่องซีวภาพ  
 3.1 ผลของการขจัดสีเม็ดสีของน้ำเสียด้วยการกำจัดในระบบปฏิกรณ์เยื่ออาระอ่องซีวภาพ

ตารางที่ 9.4 ข้อมูลผลการกำจัดสีเม็ดสีของน้ำเสียด้วยการกำจัดในระบบปฏิกรณ์เยื่ออาระอ่องซีวภาพ ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Time (min)	Concentration (mg/mL)						50 mg/L	
	30 mg/L			40 mg/L				
%Dye Removal	Activity (U/mL)	Protein (μg/mL)	%Dye Removal	Activity (U/mL)	Protein (μg/mL)	%Dye Removal	Activity (U/mL)	Protein (μg/mL)
0	92.74	0.007	8.900	95.02	0.0089	10.8700	92.53	0.088
30	95.62	0.008	9.520	99.79	0.0082	10.06	99.32	0.008
60	96.85	0.008	9.440	98.96	0.0083	10.1200	100.00	0.000
90	96.16	0.008	9.610	95.33	0.0092	11.2500	100.00	0.000
120	95.48	0.008	9.440	93.98	0.0093	11.4100	100.00	0.000
150	96.03	0.009	10.770	93.78	0.0094	11.5500	99.83	0.002
180	95.75	0.009	10.770	93.26	0.0093	11.4100	98.39	0.019
210	95.07	0.009	11.050	92.84	0.0092	11.2800	98.13	0.022
240	94.25	0.010	11.660	92.12	0.0095	11.6400	96.69	0.039
							10.8000	

### 3.2 ผลของอัตราการไฟลต์ของการกำจัดในทั้งปฏิกรณ์เยื่อกรองศีรษะ

ตารางที่ 7.5 ข้อมูลผลการดำเนินตัวอยู่อีกครั้งหนึ่งของการทดสอบที่ต้องการว่า แหล่งของเสียงมีความบันท่าง

ตารางที่ ช.5 ข้อมูลผลการกำจัดสีเย้อมด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ ที่อัตราการไหลของสีเย้อมเข้าระบบต่างๆ (ต่อ)

Time (min)	Flow Rate (ml/min)		
	700 ml/min		
	%Dye Removal	Activity (U/ml)	Protein (μg/ml)
0	65.52	0.270	10.930
30	92.98	0.055	10.990
60	93.10	0.054	10.510
90	94.25	0.045	10.560
120	89.14	0.085	11.800
150	87.61	0.097	11.180
180	87.36	0.099	10.530
210	86.72	0.104	10.090
240	86.59	0.105	11.750

#### 4. การล้างระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพ

ตารางที่ ช.6 ข้อมูลของ การล้างระบบถังปฏิกรณ์เยื่อกรองชีวภาพด้วยน้ำปราศจากประจุก่อน การใช้งานและหลังการใช้งานและสารเคมี

Flow Rate	dP (psi)	เริ่มนั่น	DI	สารเคมี
		J (L/m <sup>2</sup> .hr)	J (L/m <sup>2</sup> .hr)	J (L/m <sup>2</sup> .hr)
300	0.3	1.2	0.87	1.104
500	0.7	2.7	2.034	2.628
700	1	3.84	2.94	3.672
900	1.2	4.8	3.684	4.716
1100	1.5	6.12	4.878	6

### ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นางสาวนริศา ทวีชัย
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2549 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสตรีนาร จังหวัดสุรินทร์
	พ.ศ. 2554 ปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวุฒิวิทยา มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ตำแหน่ง	นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	สำนักงานทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมจังหวัดสุรินทร์

