บทที่ 5
อภิปรายผลการทดลอง

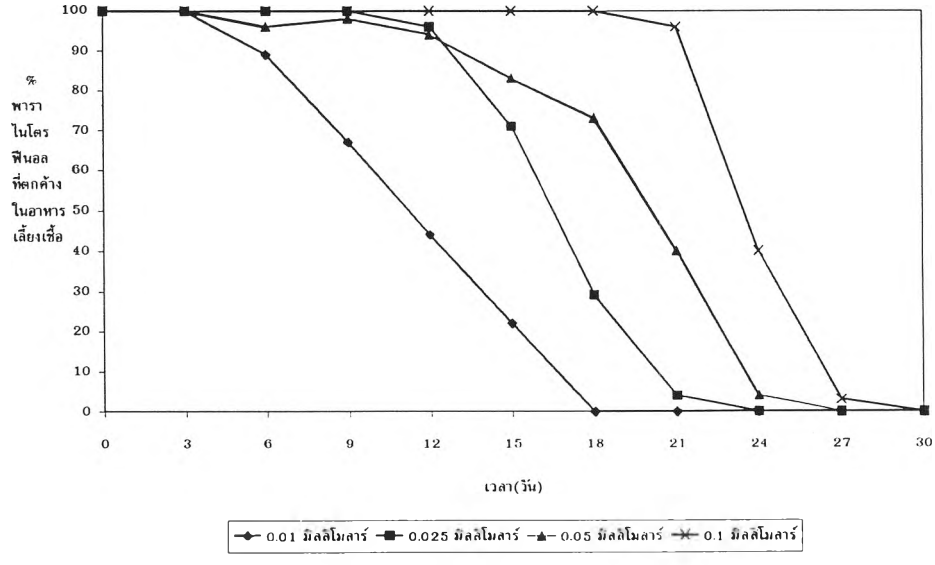
เป็นที่ทราบกันแล้วว่าน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมและโรงงานฟอกหนังเป็นน้ำเสียที่มีความสกปรกตามพารามิเตอร์ต่าง ๆ เช่น ค่าซีโอดี ค่าบีโอดี ในระดับความเข้มข้นสูง นอกจากนี้ น้ำเสียของโรงงานทั้งสองประเภทยังมีสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิตปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียด้วย โรงงานฟอกย้อมและโรงงานฟอกหนังที่เลือกสำหรับเก็บตัวอย่างน้ำและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อทำการแยกแบคทีเรียสำหรับการทดลองในครั้งนี้ก็นับได้ว่าเป็นโรงงานที่ก่อให้เกิดน้ำเสียที่มีความสกปรกในระดับสูงเช่นเดียวกัน เมื่อพิจารณาจากผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียและหลังจากผ่านการบำบัดแล้ว พบว่า ค่าซีโอดีของน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้วของโรงงานฟอกย้อมต่ำกว่าค่ามาตรฐานน้ำทิ้งอุตสาหกรรม ที่กำหนดโดยกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ซึ่งกำหนดว่าค่าซีโอดีจากโรงงานฟอกย้อมต้องมีค่าไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อลิตรและน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกหนังที่ทำการเก็บตัวอย่าง มีค่ามาตรฐานน้ำทิ้งอุตสาหกรรม ที่กำหนดโดยกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ซึ่งกำหนดว่าค่าซีโอดีจากโรงงานฟอกหนังต้องมีค่าไม่เกิน 120 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ช) อย่างไรก็ตาม ระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานทั้งสองแห่งมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียได้ดี โดยระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานฟอกย้อมมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีได้ร้อยละ 87 และระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานฟอกหนังมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีได้ร้อยละ 84 แต่ถึงกระนั้น การบำบัดน้ำทิ้งให้ได้มาตรฐานที่กำหนดโดยหน่วยงานด้านสิ่งแวดล้อมทั้งในประเทศและต่างประเทศยังคงเป็นเรื่องที่ยากในการปฏิบัติสำหรับโรงงานอุตสาหกรรม น้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมเกิดจากกระบวนการลอกแป้ง ล้างเตรียมผ้า และน้ำเสียจากกระบวนการฟอกย้อมซึ่งมีสารเคมีสำหรับการฟอกผ้าและสีย้อมผ้าที่หลงเหลือมาจากกระบวนการดังกล่าวรวมเป็นน้ำเสียเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย(กรมควบคุมมลพิษ, 2539) น้ำเสียจากโรงงานฟอกหนังเกิดจากกระบวนการผลิตในแต่ละสายการผลิตที่มีสารปนเปื้อนแตกต่างกันมาก โดยโรงงานยังคงไม่สามารถบำบัดน้ำเสียให้ผ่านระดับเกณฑ์มาตรฐานได้ เนื่องจากความล้มเหลวในการจัดการน้ำเสีย โรงงานส่วนใหญ่ไม่มีระบบบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นในแต่ละสายการผลิต ทำให้น้ำเสียที่รวบรวมเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียมีความเข้มข้นสูงมากเกินไป อีกทั้ง สารเคมีบางประเภทที่ปนเปื้อนมากับน้ำเสียจากบางสายการผลิต ยังก่อให้เกิดพิษต่อจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในระบบบำบัดน้ำเสียแบบชีวภาพที่โรงงานฟอกหนังส่วนใหญ่ติดตั้งไว้ ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งของโรงงานทั้งสองแห่ง ตรวจพบพาราไนโตรฟีนอลตกค้างในน้ำเสียของโรงงานทั้งสองแห่ง พาราไนโตรฟีนอลนับได้ว่าเป็นหนึ่งในสารที่อาจยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย

ได้ ปริมาณพาราไนโตรฟีนอลในน้ำทิ้งของโรงงานทั้งสองแห่งก่อนและหลังออกจากระบบบำบัดน้ำเสีย แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งของโรงงานฟอกย้อมและโรงงานฟอกหนังแห่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดพาราไนโตรฟีนอลได้ร้อยละ 9 และร้อยละ 19 ตามลำดับ สอดคล้องตามที่ Matsui(1996) กล่าวไว้ว่า พาราไนโตรฟีนอลเป็นสารประกอบที่ย่อยสลายด้วยวิธีทางชีวภาพได้ยาก ซึ่งในภาวะที่จุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียมีแหล่งอาหารอื่นสำหรับให้อาหารและพลังงานเพื่อการเจริญเติบโต จุลินทรีย์จะเลือกใช้แหล่งอาหารอื่น ๆ ที่ง่ายต่อการดึงสารอาหารมาใช้ประโยชน์มาใช้ก่อน เป็นเหตุให้สารที่ย่อยสลายยากตกค้างในสิ่งแวดล้อม(สุรพล สายพานิช, 2538)

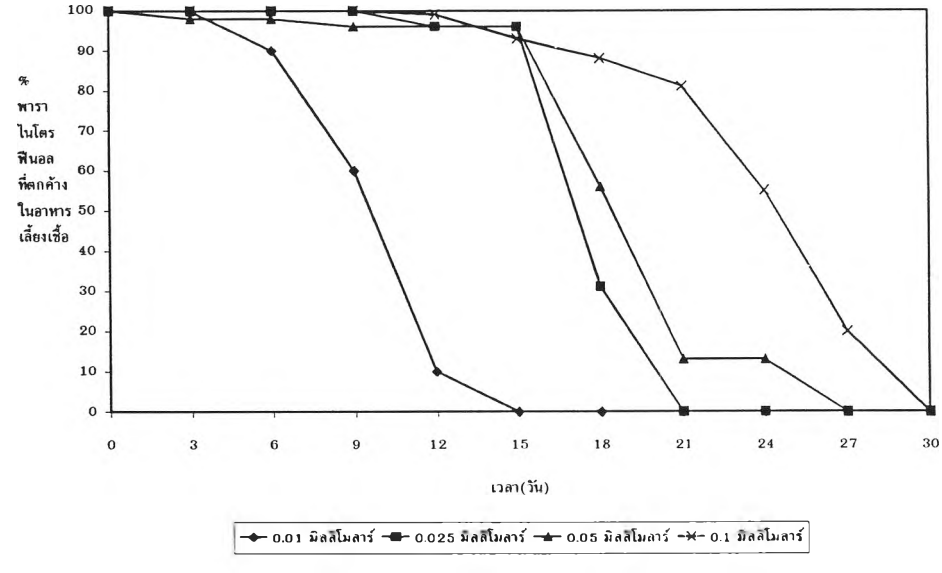
การศึกษาเบื้องต้นของการแยกแบคทีเรีย ทำการเลี้ยงแบคทีเรียจากตัวอย่างตะกอนและน้ำเสียของโรงงานฟอกย้อมและโรงงานฟอกหนังในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีเบรน ฮาร์ท อินฟิวชั่นเป็นแหล่งคาร์บอนหลัก โดยเติมพาราไนโตรฟีนอลลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อร่วมเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย สังเกตพบว่ามีการเจริญของแบคทีเรียแสดงให้ทราบว่ามีแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยแบคทีเรียเหล่านั้น สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแรกสามารถใช้พาราไนโตรฟีนอลเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนเป็นสารอาหารในการเจริญ กลุ่มที่สองเป็นกลุ่มที่ไม่สามารถย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลได้โดยตรง แต่เป็นพวกที่เจริญได้ด้วยแหล่งคาร์บอน แหล่งพลังงานและสารอาหารอื่น ๆ ที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และกลุ่มสุดท้ายเป็นแบคทีเรียพวกที่สามารถใช้ประโยชน์จากสารซึ่งเป็นผลที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลโดยแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลได้(Alexander, 1994) เมื่อทดสอบการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลโดยแบคทีเรียทั้ง 27 สายพันธุ์ โดยเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MBH ผสมเบรน ฮาร์ท อินฟิวชั่น ผสมพาราไนโตรฟีนอลปริมาณความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ พบว่ามีเพียง 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ AS101 และสายพันธุ์ AS107 ที่แยกจากตะกอนและน้ำของระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานฟอกย้อม และ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ AS201, สายพันธุ์ AS202 และ สายพันธุ์ AS217 ที่แยกได้จากตะกอนและน้ำของระบบบำบัดน้ำเสียโรงงานฟอกหนัง ทำให้สีเหลืองของอาหารเลี้ยงเชื้อจางลงจนกระทั่งไม่มีสี มีลักษณะคล้ายคลึงกับการทดลองของ Herman และ Corterton (1992) ที่สามารถแยกแอคติโนไมซีส (Actimomycetes) จากตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสียชุมชนได้ด้วยวิธีเดียวกันกับที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ มีการเปลี่ยนสีอาหารเลี้ยงเชื้อจากสีเหลืองเป็นไม่มีสี ซึ่งสรุปได้ว่าแบคทีเรียนี้สามารถใช้พาราไนโตรฟีนอลเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนร่วมกับคาร์บอนและไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว

ผลจากการทดลองการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MBH ผสมเบรน ฮาร์ท อินฟิวชั่น ปรากฏว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และสายพันธุ์ AS217 เป็นสายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลได้ในทั้ง 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.01, 0.025, 0.05 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ และจากการทดลอง ยังพบว่าแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ ต้องใช้เวลาระยะหนึ่งเพื่อปรับตัวให้สามารถดึงคาร์บอนและไนโตรเจนจากพาราไนโตรฟีนอลไปใช้ประโยชน์ได้ โดยสายพันธุ์ AS107 ใช้เวลาประมาณ 3 วัน ถึง 21 วัน และสายพันธุ์ AS217 ใช้เวลาประมาณ 3 วันถึง15 วันในการปรับตัว รูปที่ 22 และรูปที่ 23 แสดงระยะปรับตัวก่อนการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และสายพันธุ์ AS217 เห็นได้ว่า ระยะเวลาที่แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ใช้ในการปรับตัวเพื่อการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของพาราไนโตรฟีนอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มปริมาณขึ้น ข้อเท็จจริงที่ได้จากการทดลองนี้ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Munneck และ Hsich (1974) ซึ่งได้ศึกษาการย่อยสลายพาราไธออนและพาราไนโตรฟีนอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยนำแบคทีเรียที่แยกจากน้ำเสียและจากดินมาใช้ในการทดลอง โดยแปรผันความเข้มข้นของพาราไธออนและพาราไนโตรฟีนอล พบว่า พาราไธออนและพาราไนโตรฟีนอลมีความเข้มข้นในระดับสูง สารเคมีดังกล่าวจะตกค้างในอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณคงเดิมเป็นระยะเวลานานขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียไม่สามารถผลิตเอนไซม์สำหรับการย่อยสลายสารดังกล่าว หรือแบคทีเรียอาจกลายพันธุ์เกิดเป็นสายพันธุ์ใหม่ที่สามารถย่อยสลายสารที่ตกค้างนั้นได้ นอกจากนี้ เหตุผลอีกประการหนึ่งที่ทำให้พาราไนโตรฟีนอลตกค้างในสิ่งแวดล้อม อาจเป็นเพราะแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารปนเปื้อนได้ ยังมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะย่อยสลายสารปนเปื้อนนั้น ๆ เมื่อเวลาผ่านไป แบคทีเรียเจริญขึ้นจนมีปริมาณที่พอเหมาะ ก็จะสามารถดึงธาตุอาหารจากสารปนเปื้อนนั้นมาใช้ในหมดไปได้อย่างรวดเร็ว (Spain, Pritchard and Bourguin, 1987) ในระยะเวลาที่แบคทีเรียตกค้างอยู่นี้ หากมีการเติมสารอินดิวเซอร์บางอย่างลงไป เช่น ไฮโดรควิโนน จะทำให้แบคทีเรียย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลได้เร็วขึ้น(Nishino and Spain, 1993) ระยะเวลาที่แบคทีเรียใช้ในการปรับตัวในการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลในการทดลองของนักวิทยาศาสตร์หลาย ๆ ท่าน แสดงให้เห็นว่า ระยะเวลาในการปรับตัวโดยจุลินทรีย์เพื่อให้เกิดการย่อยสลายสารปนเปื้อนมีความหลากหลายมาก เช่น Spain และคณะ(1984) รายงานว่าพาราไนโตรฟีนอลปริมาณ 200 ส่วนในพันล้านส่วนตกค้างในปริมาณเท่าเดิมเป็นเวลา 6 วันในบึงแห่งหนึ่ง หลังจากนั้นกลุ่มจุลินทรีย์ในบึง จึงย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลให้หมดไปอย่างรวดเร็ว Aelian, Swindoll และ Pfaender(1987) รายงานว่าแบคทีเรียในดินใช้เวลา 7-42 วัน ในการปรับตัวก่อนการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลที่ระดับความเข้มข้น 31 ถึง 529 ส่วนในพันล้านส่วน จึงเห็นได้ว่า เป็นการยากที่จะเปรียบเทียบความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลในสภาวะแวดล้อมและความเข้มข้นของพาราไนโตรฟีนอลที่ต่างกัน ตัวอย่างของปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการย่อยสลายสารปนเปื้อนโดยจุลินทรีย์ ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณ

ออกซิเจนที่แบคทีเรียได้รับในระหว่างการย่อยสลาย(Alexander, 1994) อย่างไรก็ตาม ที่ภาวะการปนเปื้อน ซึ่งความเข้มข้นของพาราไนโตรฟีนอลมีระดับต่ำมาก การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์อาจเกิดขึ้นได้ทันที โดยไม่ต้องมีระยะเวลาในการปรับตัว(Spain and Van Veld, 1983)



รูปที่ 22 ระยะเวลาที่แบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 ใช้ในการปรับตัวสำหรับการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอล ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

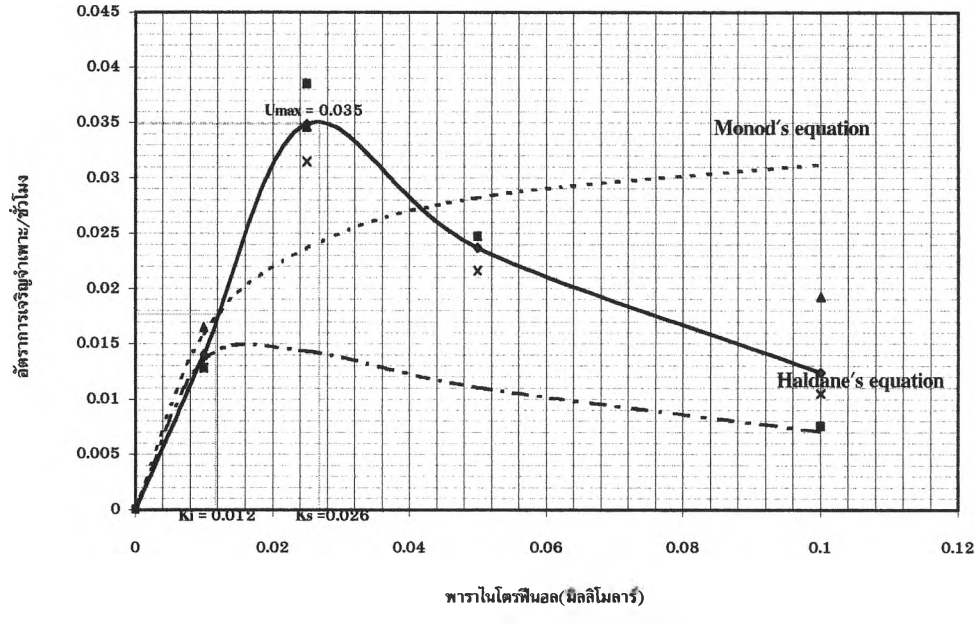


รูปที่ 23 ระยะเวลาที่แบคทีเรียสายพันธุ์ AS217 ใช้ในการปรับตัวสำหรับการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอล ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

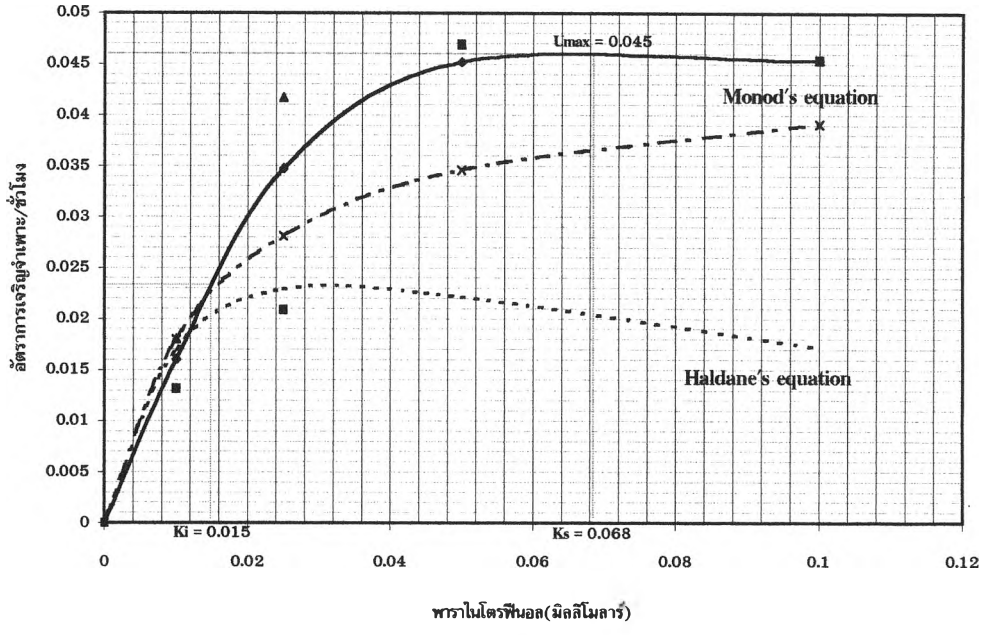
จากการติดตามการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และสายพันธุ์ AS217 ในระหว่างที่มีการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอล ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของเชื้อที่การย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลในระดับต่าง ๆ นั้น สามารถอธิบายได้ด้วยสมการไคเนติกส์แบบโมโนดและฮาลเดน ทั้งนี้ รูปแบบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้นของพาราไนโตรฟีนอลที่ระดับ 0.01, 0.025, 0.05 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ แสดงในภาคผนวก ช

การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 ในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมพาราไนโตรฟีนอลที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.025, 0.05 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ มีลักษณะใกล้เคียงกับแบบจำลองซึ่งได้จากสมการไคเนติกส์แบบฮาลเดน(รูปที่ 24) โดยเมื่อพาราไนโตรฟีนอลในอาหารเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นในระดับที่สูงขึ้น จะมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 ค่า Ki ที่ได้จากการทดลองมีค่า 0.026 ซึ่งค่า Ki นี้แสดงระดับที่เป็นพิษของพาราไนโตรฟีนอลต่อแบคทีเรีย สายพันธุ์ AS107 โดยในภาวะที่แบคทีเรียสายพันธุ์นี้อาศัยอยู่ในสภาพที่ปนเปื้อนด้วยพาราไนโตรฟีนอลเกิน 0.026 มิลลิโมลาร์ อัตราการเจริญจะลดลง ในขณะที่ผลการทดลองที่ได้สำหรับแบคทีเรียสายพันธุ์ AS217 มีผลในทางตรงกันข้าม กล่าวคือ ความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลกับการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS217 สอดคล้องกับสมการของ โมโนด(รูปที่ 25) เมื่อพาราไนโตรฟีนอลมีระดับความเข้มข้นสูงขึ้น โดยพิจารณาเฉพาะในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01 ถึง 0.1 มิลลิโมลาร์ แบคทีเรียสายพันธุ์นี้จะมีอัตราการเจริญที่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ค่า Ks ที่ได้จากการทดลองของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และสายพันธุ์ AS217 มีค่าใกล้เคียงกัน คือ 0.012 และ 0.015 ตามลำดับ ค่า Ks นี้เป็นค่าที่แสดงถึงระดับความเข้มข้นของพาราไนโตรฟีนอลที่ทำให้อัตราการเจริญของแบคทีเรียเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญสูงสุด จึงกล่าวได้ว่าแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีในภาวะที่มีการปนเปื้อนของพาราไนโตรฟีนอล โดยสามารถใช้พาราไนโตรฟีนอลร่วมกับแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจนและสารอาหารอื่น ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ที่ระดับความเข้มข้นของพาราไนโตรฟีนอลในการทดสอบเป็น 0.01 มิลลิโมลาร์ การลดลงของพาราไนโตรฟีนอลต่อระยะเวลาที่ผ่านไป โดยแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ มีลักษณะเป็นแบบ “โมโนดที่มีการเจริญของเชื้อ” ซึ่งอัตราการเจริญของเชื้อไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของพาราไนโตรฟีนอลแต่เพียงอย่างเดียว แต่มีปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายด้วย ลักษณะการย่อยสลายเช่นนี้ ยากต่อการคาดหมายปริมาณพาราไนโตรฟีนอลที่ระยะเวลาต่าง ๆ ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของพาราไนโตรฟีนอลเป็น 0.025, 0.05 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ การย่อยสลายเป็นแบบ“ลอกาลิทึมมิก” อัตราการเจริญของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ในภาวะเช่นนี้ ขึ้นอยู่กับปริมาณความสมบูรณ์ของอาหารเลี้ยงเชื้อนอกเหนือไปจากพาราไนโตรฟีนอล เมื่อแบคทีเรียบริโภคอาหารจากแหล่งอื่น ๆ จนหมดไปแล้ว แบคทีเรียจึงเริ่มย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอล (รูปที่ 8) ค่า Ks ที่อยู่ในระดับต่ำ แสดงว่าแบคทีเรียมีความคุ้นเคยและสามารถย่อยสลายสารปนเปื้อนนั้นได้ดี(Aleaxander, 1994)

แต่ทั้งนี้ ค่า Ks ที่อยู่ในระดับต่ำ ยังแสดงถึงความสามารถของแบคทีเรียในการเจริญในสภาพที่มีการปนเปื้อนของพาราไนโตรฟีนอล โดยไม่ได้มีส่วนในการการย่อยสลายสารดังกล่าว ดังกรณีของ Matsui และคณะ(1995) ที่ทำการติดตามการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลโดยกลุ่มแบคทีเรียในตะกอนเร่ง (activated sludge)ที่มีการปรับสภาพให้คุ้นเคยกับการปนเปื้อนสารพาราไนโตรฟีนอลโดยการเติมพาราไนโตรฟีนอลลงในในตะกอนตลอดเวลา ก่อนนำมาทดสอบการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอล ผลการทดสอบ พบว่าลักษณะการย่อยสลายอธิบายได้ด้วยสมการแบบฮาลเดน ค่า Ks มีค่าต่ำมากคือ 0.003 มิลลิโมลาร์ ซึ่งแสดงว่ากลุ่มแบคทีเรียในชุดทดลองมีความคุ้นเคยต่อการปนเปื้อนของพาราไนโตรฟีนอลและเป็นชนิดที่ทนต่อการปนเปื้อน ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แต่มีความสามารถย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลในระดับต่ำ ถึงแม้ว่าจะคุ้นเคยกับภาวะที่มีการปนเปื้อนพาราไนโตรฟีนอลอยู่เป็นเวลานานก็ตาม



รูปที่ 24 อัตราการเจริญจำเพาะของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 ในภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีพาราไนโตรฟีนอลความเข้มข้นต่าง ๆ



รูปที่ 25 อัตราการเจริญจำเพาะของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS217 ในภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีพาราไนโตรฟีนอลความเข้มข้นต่าง ๆ

การย่อยสลายสารประกอบอะโรมาติกโดยจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่มักเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายโดยอินดิวซิเบิล เอนไซม์ (Bayle and Barbour, 1984) ซึ่งการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และสายพันธุ์ AS 217 ก็เป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้เช่นเดียวกัน จากการทดสอบการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลโดยใช้เซลล์แบคทีเรียที่เติมพาราไนโตรฟีนอลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในระยะบ่มเชื้อ(ชุด ก) เปรียบเทียบกับชุดทดลองที่ใช้เซลล์ที่ไม่ได้เติมพาราไนโตรฟีนอลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในระหว่างบ่มเชื้อ(ชุด ข) ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ AS107 และสายพันธุ์ AS217 ที่ได้มาจากการเตรียมเซลล์แบบชุด ก มีการย่อยสลายพาราไนโตฟีนอลได้ดีกว่าการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน คือ 0.1 มิลลิโมลาร์ โดยแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ที่เตรียมเซลล์แบบชุด ข สายพันธุ์ AS107(ก) ย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลจนกระทั่งไม่มีตกค้างในอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้เวลาสั้นกว่าสายพันธุ์ AS107(ข) ถึง 7 วัน ส่วนสายพันธุ์ AS217(ก) ย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลได้เร็วกว่าสายพันธุ์ AS217(ข) โดยกำจัดพาราไนโตรฟีนอลที่ตกค้างในอาหารเลี้ยงเชื้อให้หมดไปได้ก่อนสายพันธุ์ AS217(ข) 2 วัน การเปลี่ยนแปลงสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ จากสีเหลืองเป็นไม่มีสีในการทดสอบการย่อยสลาย แสดงในภาคผนวก ง สอดคล้องกับการทดลองของ Spain และ Gibson (1991) และสอดคล้องกับการทดลองของ Hanne และคณะ(1993) ที่ทำการศึกษาในแบคทีเรียพวก *Arthrobacter sp.*, *Nocardia sp.* และ

Moraxella sp โดยรายงานว่าแบคทีเรียย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลได้เร็วขึ้นในสภาพที่แบคทีเรียเคยมีการปนเปื้อนของพาราไนโตรฟีนอลมาก่อน

นอกเหนือจากแบคทีเรียที่กล่าวถึงข้างต้น ยังมีแบคทีเรียอีกหลายชนิดที่มีความสามารถในการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอล อาทิ *Flavobacterium* (Nelson, 1982), *Arthrobacter* (Raymond and Alexander, 1971), *Bacillus* (Spain and Gibson, 1991) และ *Pseudomonas* (Heitkamp et al., 1990) ในการทดลองครั้งนี้ เมื่อทำการจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง ด้วยหลักการจำแนกของ Bergy's Manual of Systematic Bacteriology จำแนกได้ว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และสายพันธุ์ AS217 เป็นแบคทีเรียพวก *Pseudomonas* sp. โดยทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญได้ในสภาพความเป็นกรดด่างตั้งแต่ช่วง 5 ถึง 7 และอุณหภูมิตั้งแต่ 20 ถึง 40 องศาเซลเซียส โดยชั่วโมงที่ 48 ของการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์มีการเจริญสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ค่าความเป็นกรดด่าง เป็น 7 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แบคทีเรียพวก *Pseudomonas* sp. ที่สามารถย่อยพาราไนโตรฟีนอลได้ มักเป็นสายพันธุ์ที่แยกมาจากน้ำและตะกอนจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมและระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน(Munnecke and Hsieh, 1974; Heitkamp et al., 1990) ในการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลโดยแบคทีเรีย อาจเกิดเป็นคาทีโคลซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น(Raymond and Alcaxander, 1971) โดยคาทีโคลที่เกิดขึ้นเป็นสารที่ถูกย่อยสลายในลำดับต่อไปได้ไม่ยาก และในที่สุดการย่อยสลายในลำดับสุดท้าย เกิดเป็นคาร์บอนไดออกไซด์โดยคะตาบอลิค เอนไซม์ของแบคทีเรีย(Cemiglia and Heitkamp, 1989) และไนไตร์ถูกปล่อยออกมาจากอะโรมาติกริง (Nishino and Spain, 1993)

การทดลองนำแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107, สายพันธุ์ AS217, และแบคทีเรียผสมสองสายพันธุ์ ได้แก่ AS107 และ AS217 เติมลงในน้ำทิ้งของโรงงานฟอกย้อม (รูปแสดงในภาคผนวก ง) โดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง ค่าซีโอดีและปริมาณพาราไนโตรฟีนอลที่ตกค้างในน้ำทิ้ง ซึ่งผลที่ได้ พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่างและค่าซีโอดีในแต่ละชุดทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาคผนวก ฉ) ในขณะที่ปริมาณพาราไนโตรฟีนอลที่ตกค้างในน้ำทิ้งในชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียผสมสองสายพันธุ์ลงไป ปริมาณพาราไนโตรฟีนอลลดลงอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และสายพันธุ์ AS217 ร่วมกันย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลได้ โดยการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลเริ่มต้นขึ้นในวันที่ 10 และย่อยสลายได้หมดไปในวันที่ 13 ของการทดลอง เป็นไปได้ว่า แหล่งอาหารและพลังงานอื่น ๆ ซึ่งไม่ใช่พาราไนโตรฟีนอล ที่อยู่ในน้ำทิ้ง ถูกแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ รวมทั้งแบคทีเรียอื่น ๆ ที่อยู่ในน้ำเสีย ย่อยสลายได้ง่ายและนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญไปจนหมดในเวลาที่รวดเร็ว จากนั้นแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์จึงดึง

คาร์บอนและไนโตรเจนจากพาราไนโตรฟีนอลที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำมาใช้ในการเจริญเป็นลำดับต่อไป ทำให้พาราไนโตรฟีนอลในชุดทดลองชุดนี้ลดลงรวดเร็วกว่าชุดทดลองอื่น ๆ นอกจากนี้ การย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลโดยแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ อาจเกิดขึ้น โดยแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่ง ในจำนวนสองสายพันธุ์นี้ย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลแล้วได้ผลผลิตเป็นสารบางชนิด เช่น ไฮโดรควิโนน ซึ่งเป็นสารที่กระตุ้นให้แบคทีเรียอีกสายพันธุ์หนึ่งย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลได้เร็วขึ้นต่อไป อย่างไรก็ตาม ในทุกชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และแบคทีเรียสายพันธุ์ AS217 ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลลงไป ก็ส่งผลให้ปริมาณพาราไนโตรฟีนอลในน้ำทิ้งลดลงด้วยเช่นกัน แสดงให้ทราบว่าปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ในน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมที่นำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้ ไม่มีผลในการยับยั้งการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลโดยแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ เมื่อเปรียบกับการทดลองการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับการปนเปื้อนของพาราไนโตรฟีนอลเป็น 0.01 มิลลิโมลาร์ ซึ่งเป็นระดับที่ใกล้เคียงกับปริมาณพาราไนโตรฟีนอลที่ปนเปื้อนในน้ำทิ้งที่นำมาทดสอบ พบว่าแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์สามารถการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลในน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมให้หมดไปได้รวดเร็วกว่าการย่อยสลายในอาหารเลี้ยงเชื้อ น่าจะเป็นเพราะปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และสายพันธุ์ AS217 ที่ใช้เติมลงในชุดทดลองการย่อยสลาย พาราไนโตรฟีนอลในน้ำทิ้งมีปริมาณมากและอยู่ในระยะเจริญพันธุ์ (Log phase)ซึ่งต้องการสารอาหารในการใช้ประโยชน์สำหรับการเจริญ ในขณะที่การทดลองการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นการทดลองโดยใช้เซลล์แบคทีเรียในปริมาณไม่มาก เพื่อติดตามการเจริญในระหว่างที่มีการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอล ซึ่งแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ ต้องใช้เวลาระยะหนึ่งจึงมีปริมาณแบคทีเรียที่พอเหมาะต่อการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Wiggins et.al, 1987)

กระบวนการทางชีววิทยาที่เกิดขึ้นโดยแบคทีเรียต่าง ๆ ที่อยู่ในน้ำทิ้งที่ใช้ในการทดลองเกิดขึ้น โดยมีแบคทีเรียทั้งสายพันธุ์ที่เติมลงไปและแบคทีเรียที่มีอยู่เดิมในน้ำทิ้งมีบทบาทสำคัญในการย่อย ทำลาย ดูดซับมลสารต่าง ๆ ทำให้น้ำเสียลดความสกปรกลง (สุรพล สายพานิช, 2538) ผลจากการทดลอง พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และสายพันธุ์ AS217 ที่เติมลงไปในน้ำทิ้ง นอกจากจะมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลแล้ว ยังร่วมกับแบคทีเรียในน้ำทิ้ง ช่วยลดค่าซีโอดีลงด้วย แสดงว่าแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ นอกจากจะสามารถใช้คาร์บอนและไนโตรเจนจากพาราไนโตรฟีนอลเป็นแหล่งอาหารในการเจริญแล้ว ยังสามารถใช้สารอาหารอื่น ๆ ที่มีอยู่ในน้ำทิ้งสำหรับการเจริญได้อีกด้วย ทั้งนี้ ชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 สามารถลดค่าซีโอดีได้มากที่สุด