

การลดสีของน้ำเสียจากโรงงานเยื่อกระดาษด้วยวิธีการตรึงเซลล์  
*Phanerochaete chrysosporium* ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด  
2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม



นางสาวชยพร สงวนทรัพย์ากร

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีเทคนิค ภาควิชาเคมีเทคนิค


คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-03-0996-8

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DECOLORIZATION OF PULP MILL WASTEWATER BY CELL IMMOBILIZATION  
OF *Phanerochaete chrysosporium* IN TWO FLUIDIZED BED BIOREACTORS  
CONNECTING IN SERIES



Miss Chayaporn Sagwansupyakorn

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Chemical Technology

Department of Chemical Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2001

ISBN 974-03-0996-8



ชยพร สงวนทรัพย์ากร : การลดสีของน้ำเสียจากโรงงานเยื่อกระดาษด้วยวิธีการตรึงเซลล์ *Phanerochaete chrysosporium* ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไรซ์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม

(DECOLORIZATION OF PULP MILL WASTEWATER BY CELL IMMOBILIZATION OF *Phanerochaete chrysosporium* IN TWO FLUIDIZED BED BIOREACTORS CONNECTING IN SERIES) อ. ที่ปรึกษา : ศ.ดร.สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์, 135 หน้า. ISBN 974-03-0996-8

การลดสีของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตเยื่อกระดาษด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* ตรึงในเม็ดวุ้นแคลเซียมอัลจิเนต ที่บรรจุในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไรซ์ 3 สถานะ หอปฏิกรณ์สร้างด้วยพลาสติกใสรูปทรงกระบอก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร และสูง 1 เมตร 2 เครื่องที่ต่อกันแบบอนุกรม อากาศจากเครื่องอัดอากาศถูกป้อนเข้าทางด้านล่างของหอปฏิกรณ์ผ่านตัวกระจายอากาศด้วยอัตรา 0.075 ลบ.ม./ชั่วโมง บรรจุเม็ดเซลล์ตรึงที่มีอัตราส่วนเซลล์เชื้อรา 60 กรัมต่อสารละลายโซเดียมอัลจิเนต 1,000 มิลลิลิตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ปริมาตร 0.5 ลิตร ลงในหอปฏิกรณ์ โดยที่เม็ดเซลล์ตรึงจะถูกฟลูอิดไรซ์ด้วยน้ำเสียและอากาศ น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองมีค่าหน่วยสีตั้งแต่ 979 ถึง 1,795 หน่วยสี ในหน่วยแพลทินัม-โคบอลต์ โดยจะถูกสูบเข้าหอปฏิกรณ์ ด้วยอัตรา 0.012-0.036 ลบ.ม./ชั่วโมง สารที่มีสีที่อยู่ในน้ำเสียจะถูกทำให้ลดลงโดยเชื้อราที่อยู่ในเม็ดเซลล์ตรึงตลอดความสูงของหอปฏิกรณ์ ภาวะการทำงานที่เหมาะสมสำหรับเครื่องปฏิกรณ์นี้ ได้แก่ อัตราการไหลของน้ำเสีย 0.030 ลบ.ม./ชั่วโมง อัตราการเติมอากาศ 0.075 ลบ.ม./ชั่วโมง และอุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ซึ่งจะให้ประสิทธิภาพการลดสี เท่ากับ 34.8 เปอร์เซ็นต์ ในแต่ละคอลัมน์ และยิ่งสีของน้ำเสียจางลงเท่าไร อัตราการไหลของน้ำเสียจะต้องต่ำลงเพื่อให้ น้ำเสียอยู่ในคอลัมน์ได้นานที่สุด โอกาสที่จะสัมผัสกับเอนไซม์จะมากขึ้นตามไปด้วย

ภาควิชา	เคมีเทคนิค	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา	เคมีเทคนิค	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ปีการศึกษา	2544	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

## 4372243423 : MAJOR CHEMICAL TECHNOLOGY

KEY WORD: DECOLORIZATION / THREE PHASE FLUIDIZED BED BIOREACTOR / PULP MILL WASTEWATER / *Phanerochaete chrysosporium* / IMMOBILIZATION

CHAYAPORN SAGWANSUPYAKORN: DECOLORIZATION OF PULP MILL WASTEWATER BY CELL IMMOBILIZATION OF *Phanerochaete chrysosporium* IN TWO FLUIDIZED BED BIOREACTORS CONNECTING IN SERIES. (THESIS TITLE)  
THESIS ADVISOR : PROF.DR. SOMSAK DAMRONGLERD, THESIS COADVISOR : ASSIST PROF.DR. HUNSA PUNNAPAYAK, 135 pp. ISBN 974-03-0996-8

Decolorization of pulp mill wastewater was investigated by immobilization of *Phanerochaete chrysosporium* in calcium - alginate beads in three - phase fluidized bed bioreactor. The reactor column was fabricated by using a transparency plastic cylinder with diameter 100 mm and height 1 meters. Two of column were connecting in series. Air from an air-compressor was fed at the bottom of the column under the distributor with flow rate from 0.075 m<sup>3</sup>/hr. The immobilized gel bead had diameter of 3 mm and consisted of the fungus mycelia at 60 grams per 1,000 ml of sodium alginate solution. Half litre of the beads was poured into the reactor and they were fluidized by wastewater and air. Wastewater containing color substances from 979 units to 1,795 units (Pt.Co unit) was pumped into the reactor above the air - distributor with flow rate from 0.012 m<sup>3</sup>/hr to 0.036 m<sup>3</sup>/hr. The color substances were reduced by the fungus immobilized in the gel beads along the height of the column. The optimum condition for this reactor were wastewater flow rate 0.030 m<sup>3</sup>/hr, air flow rate 0.075 m<sup>3</sup>/hr, temperature 38 °C for the reduction of color substance 34.8 %

ภาควิชา เคมีเทคนิค  
สาขาวิชา เคมีเทคนิค  
ปีการศึกษา 2544

ลายมือชื่อนิสิต  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณา และความช่วยเหลือจากบุคคลหลายๆฝ่าย ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ھرรษา ปุณณะพยัคฆ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ซึ่งท่านได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆของการวิจัย ตลอดจนได้กรุณาปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ อาจารย์ และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาเคมีเทคนิค และภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ในการทำงานวิจัย และช่วยซ่อมแซมอุปกรณ์ในการทำงานวิจัย จนสามารถดำเนินงานวิจัยได้ดีมาตลอด และขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ภาควิชาเคมีเทคนิค และภาควิชาพฤกษศาสตร์ ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อและให้ความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด

ขอขอบคุณ บริษัทอุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด ที่ให้การอนุเคราะห์น้ำเสียที่ใช้ในการศึกษาวิจัย

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่แผนงานควบคุมสิ่งแวดล้อม บริษัทอุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บน้ำเสียที่ใช้ในการวิจัย และให้ความสะดวกในการใช้สถานที่ ห้องปฏิบัติการ และอุปกรณ์ในการทำงานวิจัย ตลอดจนช่วยซ่อมแซมอุปกรณ์ในการทำการวิจัย

ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา ที่เป็นกำลังใจ และสนับสนุนในด้านการเงิน แก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฎ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 อุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ.....	5
2.1.1 กรรมวิธีการผลิตเยื่อกระดาษ.....	5
2.1.2 การแบ่งประเภทของเยื่อตามความยาวของเส้นใย.....	6
2.1.3 กรรมวิธีการผลิตเยื่อ-โดยย่อ.....	6
2.1.4 ขั้นตอนการผลิตเยื่อ.....	7
2.1.5 กระบวนการผลิตเยื่อด้วยกรรมวิธีทางเคมี.....	8
2.1.6 กระบวนการซัลไฟต์.....	10
2.1.7 กระบวนการด่าง.....	12
2.1.8 การฟอกเยื่อ.....	16
2.2 ลิกนิน.....	17
2.2.1 โครงสร้างและลักษณะเฉพาะของลิกนิน.....	17
2.2.2 แหล่งของน้ำเสียที่มีลิกนินเจือปนอยู่.....	20
2.3 เชื้อรา <i>Phanerochaete chrysosporium</i> .....	21
2.4 การตรึงเซลล์.....	22
2.4.1 ความหมายของการตรึงเซลล์.....	22
2.4.2 กระบวนการตรึงเซลล์.....	23
2.4.3 วิธีการกักขังเซลล์ในแคลเซียมอัลจิเนต.....	25
2.5 การประยุกต์ใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด ในการบำบัดน้ำเสีย.....	28
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	31



## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3. วิธีดำเนินงานวิจัย.....	35
3.1 น้ำเสียที่ใช้ในการวิจัย.....	35
3.2 เชื้อราและการเก็บรักษา.....	35
3.3 วิธีการทำเมล็ดเชื้อรา.....	37
3.4 วิธีการทดลองในระดับขวดเขย่า.....	37
3.5 วิธีการทดลองในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด 2 เครื่อง ที่ต่อแบบอนุกรม.....	37
3.6 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	39
3.7 อุปกรณ์และครุภัณฑ์.....	39
3.8 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	40
4. ผลการทดลอง.....	45
4.1 ผลการศึกษาการเจริญของเชื้อรา.....	45
4.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ.....	46
4.3 ผลการศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เชื้อรา <i>Phanerochaete chrysosporium</i> ในการลดสีของน้ำเสียในระดับขวดเขย่า...47	
4.4 ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการลดสีของน้ำเสียโดยการ ใช้เชื้อรา <i>P. chrysosporium</i> ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด.....	49
4.5 ผลการศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เชื้อรา <i>P. chrysosporium</i> ในการลดสีของน้ำเสียในระดับขวดเขย่าเมื่อ จำลองแบบ 2 คอลัมน์.....	50
4.6 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เมล็ดเชื้อรา <i>P. chrysosporium</i> สามารถทำงานต่อเนื่องได้นานที่สุดในระดับขวดเขย่า.....	52
4.7 ผลการศึกษารีดสีน้ำเสียและระยะเวลาที่เมล็ดเชื้อราสามารถ ทำงานได้ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม...54	
4.8 ผลการศึกษากาลพลศาสตร์ของการลดสีของน้ำเสียด้วยเชื้อรา <i>P. chrysosporium</i> .....	59
4.9 ผลการศึกษารีดสีน้ำเสียที่เมล็ดเชื้อราสามารถทำงานได้ใน เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม.....	62



สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	66
สรุปผลการทดลอง.....	66
ข้อเสนอแนะ.....	68
รายการอ้างอิง.....	69
ภาคผนวก	
ก.....	73
ข.....	74
ค.....	76
ง.....	90
จ.....	92
ฉ.....	94
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	135

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
ตาราง 2.1	จำแนกกระบวนการผลิตเยื่อแสดงผลตามปริมาณเยื่อที่ได้.....	9
ตาราง 2.2	ปริมาณเยื่อที่ผลิตโดยกระบวนการซัลไฟต์และต่าง ในสหรัฐอเมริกาและแคนาดา ระหว่างปี ค.ศ. 1935-1976.....	10
ตาราง 2.3	ขั้นตอนการฟอกเยื่อและสารเคมีที่ใช้.....	15
ตาราง 2.4	สารอนุพันธ์ของลิกนินจากกระบวนการผลิตเยื่อและการฟอกเยื่อ.....	20
ตาราง 2.5	วิธีกักขังเซลล์ด้วยการทำให้เกิดเจลโดยพอลิเมอร์ของสารอินทรีย์.....	25
ตาราง 2.6	ตัวอย่างการใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไธซ์เบดในงาน ด้านการบำบัดน้ำเสีย.....	31
ตาราง 3.1	วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งก่อนทำการทดลอง.....	41
ตาราง 4.1	คุณภาพน้ำเสียจากกระบวนการผลิตเยื่อ เฉลี่ยระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2544 ถึง กุมภาพันธ์ 2545 บริษัทอุตสาหกรรม กระดาษคราฟท์ไทย จำกัด.....	46
ตาราง ค-1	การเลือกขนาดตัวอย่างและอัตราเจือจางสำหรับช่วงปีไอดีต่างๆ.....	82
ตาราง ค-2	การเจือจางและชนิดตัวอย่างน้ำ.....	84
ตาราง ง-1	ข้อมูลเทียบมาตรฐานของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์เพื่อใช้ในการ คำนวณค่าหน่วยสี (Color unit , Pt.Co unit).....	89
ตาราง ฉ-1	ข้อมูลการทดลองการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> ในอาหารเหลว PDB.....	93
ตาราง ฉ-2	ข้อมูลคุณภาพน้ำเสีย บริษัทอุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด .....	94
ตาราง ฉ-3	ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> ในการลดสีของน้ำเสียในระดับขวดเขย่า.....	106
ตาราง ฉ-4	ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> ในการลดสีของน้ำเสียในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ฟลูอิดไธซ์เบด.....	106

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
ตาราง ฉ-5	ข้อมูลการทดลองเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> ในการลดสีน้ำเสียในระดับขวดเขย่าเมื่อจำลองแบบ 2 คอลัมน์.....107
ตาราง ฉ-6	ข้อมูลการศึกษาระยะเวลาที่เม็ดเซลล์ตรึงเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> สามารถทำงานต่อเนื่องได้นานที่สุดในระดับขวดเขย่า.....108
ตาราง ฉ-7	ข้อมูลการศึกษาระยะเวลาที่เม็ดเซลล์ตรึงเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> สามารถทำงานต่อเนื่องได้นานที่สุดในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด.....110
ตาราง ฉ-8	ผลการศึกษาความสามารถในการลดสีน้ำเสียและระยะเวลาที่เซลล์ตรึงเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> สามารถทำงานได้ในระดับขวดเขย่าแยกศึกษาน้ำเสีย 2 จุด.....112
ตาราง ฉ-9	ผลการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการลดสีน้ำเสีย.....114
ตาราง ฉ-10	ผลการศึกษาการลดสีน้ำเสียที่เม็ดเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม อัตราการไหลน้ำเสีย 0.030ลบ.ม.ต่อชั่วโมง.....126
ตาราง ฉ-11	ผลการศึกษาการลดสีน้ำเสียที่เม็ดเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม อัตราการไหลน้ำเสีย 0.020ลบ.ม.ต่อชั่วโมง.....131
ตาราง ฉ-12	ผลการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการไหลของน้ำเสีย 0.012 0.020 0.025 0.030 และ 0.036 ลบ.ม.ต่อชั่วโมง ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม.....132

## สารบัญรูป

รูป		หน้า
รูป 2.1	แผนผังกระบวนการซัลไฟต์.....	11
รูป 2.2	แผนผังกระบวนการคราฟท์.....	14
รูป 2.3	กระบวนการผลิตเยื่อและกระดาษ.....	15
รูป 2.4	โครงสร้างของ Phenylpropane unit.....	17
รูป 2.5	สารตั้งต้นของโครงสร้างลิกนิน.....	18
รูป 2.6	โครงสร้างโมเลกุลของลิกนิน.....	19
รูป 2.7	เส้นใยเชื้อรา <i>Phanerochaete chrysosporium</i> .....	22
รูป 2.8	โครงสร้างทางเคมีของอัลจินเต.....	26
รูป 2.9	การรวมตัวของสายโซ่โดยการเกิด complex formation กับ แคลเซียมไอออน ( $Ca^{2+}$ ).....	27
รูป 2.10	ลักษณะของฟลูอิดไอเซน 3 สถานะ.....	30
รูป 3.1	จุดเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ ของบริษัท อุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด.....	36
รูป 3.2	เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไอเซน 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม.....	38
รูป 3.3	แผนผังการทำงานของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไอเซน 2 เครื่อง ที่ต่อแบบอนุกรม.....	38
รูป 4.1	การเจริญของเชื้อรา <i>Phanerochaete chrysosporium</i> ในอาหาร เหลว Potato dextrose broth (PDB).....	45
รูป 4.2	เปรียบเทียบสีเมื่อทดลองด้วยเชื้อราที่ตรึงเซลล์และไม่ได้ตรึงเซลล์.....	48
รูป 4.3	เวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา <i>Phanerochaete chrysosporium</i> ในการลดสีของน้ำเสียในระดับขวดเขย่า.....	48
รูป 4.4	เวลาที่เหมาะสมในการลดสีของน้ำเสียโดยการใช้เซลล์ตรึง <i>P.chrysosporium</i> ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไอเซน.....	49
รูป 4.5	เปอร์เซ็นต์สีที่ลดลงในระดับขวดเขย่าเมื่อทดลองเลียนแบบ 2 คอลัมน์ กับน้ำเสีย 2 ชนิด.....	50
รูป 4.6	เวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> ในการลดสีของน้ำเสีย ในระดับขวดเขย่าเมื่อจำลองแบบ 2 คอลัมน์.....	51

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูป	หน้า
รูป 4.7	ระยะเวลาที่เม็ดเซลล์ตรึงเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> สามารถทำงานต่อเนื่องได้นานที่สุด ในระดับขวดเขย่า.....52
รูป 4.8	เปรียบเทียบสีที่ลดลงในระหว่างการทดลองเมื่อศึกษาน้ำเสีย 2 ชนิด ในระดับขวดเขย่า.....53
รูป 4.9	เปรียบเทียบ Enzyme activities ในระหว่างการทดลอง เมื่อศึกษาน้ำเสีย 2 ชนิด ในระดับขวดเขย่า.....53
รูป 4.10	สีที่ลดลงเมื่อทดลองในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไธเบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม เมื่อทดลองน้ำเสีย 2 ชนิด.....54
รูป 4.11	เปอร์เซ็นต์สีที่ลดลงจากคอลัมน์ 1 ไป คอลัมน์ 2 .....55
รูป 4.12	สีที่ลดลงเมื่อผ่านคอลัมน์ 1 และ คอลัมน์ 2 ตามลำดับ ของน้ำเสีย 2 ชนิด.....55
รูป 4.13	ศึกษาการลดสีน้ำเสียที่เม็ดเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้ ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไธเบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม.....56
รูป 4.14	สีของน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดในคอลัมน์ 1 และ คอลัมน์ 2.....57
รูป 4.15	เปอร์เซ็นต์สีที่ลดลงในแต่ละคอลัมน์เมื่อทดลองใน เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไธเบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม.....57
รูป 4.16	เปอร์เซ็นต์การเพิ่มเอนไซม์และเปอร์เซ็นต์สีที่ลดลง เมื่อทดลองต่อเนื่อง 31 วัน.....58
รูป 4.17	จลนพลศาสตร์ของการลดสีของน้ำเสียด้วยเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> เมื่อพิจารณาเป็นปฏิริยาอันดับหนึ่ง.....59
รูป 4.18	จลนพลศาสตร์ของการลดสีของน้ำเสียด้วยเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> เมื่อพิจารณาเป็นปฏิริยาอันดับศูนย์.....60
รูป 4.19	จลนพลศาสตร์ของการลดสีของน้ำเสียด้วยเชื้อรา <i>P.chrysosporium</i> เมื่อพิจารณาเป็นปฏิริยาอันดับสอง.....61
รูป 4.20	เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไธเบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม.....62

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูป	หน้า
รูป 4.21	ผลการศึกษการลดสีที่เม็ดเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้ในเครื่อง ปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม อัตราการไหล น้ำเสีย 0.030 ลบ.ม.ต่อชั่วโมง.....63
รูป 4.22	ผลการศึกษการลดสีที่เม็ดเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้ในเครื่อง ปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม อัตราการไหล น้ำเสีย 0.020 ลบ.ม.ต่อชั่วโมง.....64
รูป 4.23	ผลการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการไหลของน้ำเสีย 0.012 0.020 0.025 0.030 และ 0.036 ลบ.ม.ต่อชั่วโมง ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ ฟลูอิด์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม.....65

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อุตสาหกรรมกระดาษเป็นอุตสาหกรรมสำคัญ ที่มีความเกี่ยวข้องกับชีวิตมนุษย์และยังมีความเจริญก้าวหน้ามีมากขึ้นเพียงใด อุตสาหกรรมกระดาษก็ยิ่งทวีความสำคัญมากยิ่งขึ้น ทั้งนี้เพราะกระดาษมีความจำเป็นสำหรับการใช้ชีวิตในปัจจุบันนี้อย่างมาก ทั้งในด้านการศึกษา การสื่อสาร การโฆษณา ที่ใช้กระดาษพิมพ์เขียน หรือ การบรรจุหีบห่อสำหรับเครื่องอุปโภคบริโภคที่ต้องใช้กระดาษกราฟ ดังนั้นความต้องการกระดาษจึงมีมากขึ้นตามการเติบโตของประชากร

โรงงานกระดาษต้องการน้ำในปริมาณมากในการฟอกเยื่อ ซึ่งในแต่ละระบบการฟอกเยื่ออาจมีความต้องการใช้น้ำมากถึง 200-800 ลบ.ม.ต่อ เยื่อกระดาษ 1 ตัน โดยโรงงานผลิตเยื่อกระดาษส่วนใหญ่พยายามที่จะลดปริมาณน้ำที่ใช้โดยการนำกลับมาใช้ใหม่จากกระบวนการหนึ่งนำไปใช้ในอีกกระบวนการหนึ่ง ซึ่งสามารถลดการใช้น้ำไปได้ประมาณ 26.5 ลบ.ม.ต่อเยื่อกระดาษ 1 ตัน<sup>1</sup>

การจะนำน้ำที่ผ่านการฟอกเยื่อแล้วกลับมาใช้ใหม่ ต้องนำน้ำมาผ่านกระบวนการระเหยก่อนเพราะมีการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ ประมาณ 4 กก./ลบ.ม. ต่อน้ำ 26.5 ลบ.ม. ซึ่งแม้จะเป็นปริมาณน้อย แต่ก็ต้องใช้พลังงานความร้อนปริมาณมาก เป็นการสิ้นเปลือง จึงไม่นิยมที่จะนำน้ำกลับมาใช้ใหม่

ในอดีตไม่มีข้อกำหนดทางสิ่งแวดล้อมเกี่ยวกับน้ำทิ้งจากโรงงานเยื่อกระดาษ ดังนั้นน้ำจากการฟอกเยื่อจึงไม่เป็นปัญหาสำหรับโรงเยื่อ แต่ในปัจจุบันนี้เหตุการณ์เปลี่ยนไป ปัญหาสำคัญที่สุดของโรงเยื่อตอนนี้คือ การบำบัดน้ำทิ้งจากการฟอกเยื่อ ทำให้เกิดการตื่นตัวที่จะศึกษาองค์ประกอบและวิธีการบำบัดน้ำทิ้งจากการฟอกเยื่อ

### 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 ศึกษาขั้นตอนและเพิ่มประสิทธิภาพการลดสีของน้ำเสียจากโรงงานเยื่อกระดาษโดยใช้เซลล์ตริง *Phanerochaete chrysosporium* ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไธด์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม



### 1.2.2 ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการลดสีของน้ำเสียจากโรงเยื่อกระดาษโดยใช้เซลล์ตรึง *Phanerochaete chrysosporium* ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไธด์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม

#### 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อรา และการทำเม็ดเซลล์ตรึงให้ได้ตามที่กำหนดแล้วจึงทดลองในระดับขวดเขย่าโดยการเปลี่ยนแบบคอลัมน์ คือใช้ขวดเขย่า 2 ขวดแทนคอลัมน์ 2 คอลัมน์ แต่ในการทดลองในระดับขวดเขย่านั้นจะเป็นการทดลองแบบไม่ต่อเนื่อง เพื่อศึกษาดูแนวโน้มการลดลงของสีในน้ำเสียว่ามีทางเป็นไปได้หรือไม่ จากนั้นจึงทำการศึกษาในคอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100 มม. สูง 1 เมตร 2 คอลัมน์ที่ต่อกันแบบอนุกรม เมื่อทดลองได้ประสิทธิภาพการลดสีน้ำเสียแล้วจึง ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการลดสีน้ำเสียต่อไป

#### 1.4 ข้อตกลงเบื้องต้น

ดำเนินงานวิจัยภายใต้ความร่วมมือระหว่าง ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กับ บริษัทกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด

#### 1.5 ข้อจำกัดของงานวิจัย

การทดลองไม่สามารถควบคุมความเข้มข้นของสีของน้ำเสียที่ได้จากการฟอกเยื่อได้จึงเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการลดสีน้ำเสียด้วยการคิดเป็น เปอร์เซ็นต์ของสีที่ลดลง

#### 1.6 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

การตรึงเซลล์ เป็นการจำกัดขอบเขตพื้นที่ของเชื้อราโดยการกักขังให้เจริญเติบโตอยู่ภายในเม็ดอัลจิเนตเพื่อผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการทดลอง

เอนไซม์แอกติวิตี้ เป็นการวัดความสามารถของเอนไซม์ ในการทดลองนี้เป็นการวัดเอนไซม์ลิกนินเปอร้ออกซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตได้จากเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* โดยจะวัดจากการทำปฏิกิริยากันระหว่างเอนไซม์และ veratryl alcohol โดยวัดในรูปของ veratraldehyde ที่เกิดขึ้น ด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร

Retention time เป็นเวลาที่น้ำเสียผ่านเข้าไปในคอลัมน์จนกระทั่งออกมาจากคอลัมน์ โดยตั้งสมมติฐานว่า เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบดที่ใช้สามารถทำให้น้ำที่เข้าเครื่องผ่านคอลัมน์ไปในแนวระนาบตลอดทั้งคอลัมน์

เปอร์เซ็นต์ของสีที่ลดลง คำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ด้วยเครื่อง UV spectrophotometer โดยเทียบกับสีตอนเริ่มต้น

## 1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.7.1 ลดมลภาวะที่เกิดจากน้ำทิ้งจากการฟอกเยื่อกระดาษ
- 1.7.2 ได้ศึกษากลไกการลดสีน้ำเสียโรงเยื่อกระดาษและสามารถปรับปรุงการบำบัดให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น

## 1.8 วิธีดำเนินการวิจัย

- 1.8.1 ค้นคว้าข้อมูลและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ
- 1.8.2 ศึกษาวิธีเลี้ยงและขยายขนาดของเชื้อรา<sup>2</sup> *Phanerochaete chrysosporium* ที่จะนำมาใช้ในเซลล์ตรึง พร้อมทั้งศึกษาวิธีการกักขังเซลล์ด้วยแคลเซียมอัลจิเนตอัตราส่วนเชื้อรา 60 กรัม(น้ำหนักเปียก)ต่อ สารละลายโซเดียมอัลจิเนต 1000 มิลลิลิตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร
- 1.8.3 เตรียมเครื่องมือ สารเคมี และอุปกรณ์ที่จำเป็น
- 1.8.4 ทดลองในระดับขวดเขย่าแล้วจึงทดลองในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไคซ์เบด 3 สถานะ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร สูง 1 เมตร ต่อกัน 2 คอลัมน์ อัตราการไหลน้ำเสีย 0.030 ลบ.ม./ชั่วโมง อัตราการเติมอากาศ 0.075 ลบ.ม./ชั่วโมง
- 1.8.5 นำข้อมูลที่ได้มาศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาการลดสีน้ำเสีย หาอันดับปฏิกิริยา
- 1.8.6 วิเคราะห์ข้อมูลและอันดับปฏิกิริยาที่ได้ สรุปผล และเขียนวิทยานิพนธ์

## 1.9 ลำดับขั้นตอนในการเสนอผลการวิจัย

- 1.9.1 เสนอผลการทดลองที่ทำตามสภาวะเดิมที่ นางสาวจูลวรรณ จึงสุวัฒนานนท์ ได้เคยทดลองแล้วว่าได้ผลใกล้เคียงกันหรือไม่
- 1.9.2 เสนอผลการทดลองการลดสีน้ำเสียในระดับขวดเขย่า โดยแยกทดลองน้ำ 2 ประเภท คือน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้ว เตรียมที่จะปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ แต่ยังไม่สามารถกำจัดสีของลิกนินในน้ำได้ กับน้ำเสียที่ออกจากโรงฟอกเยื่อที่ยังไม่ได้ผ่านการบำบัดเลย ในการทดลองนี้จะเป็นการจำลองการลดสีน้ำเสียใน 1 คอลัมน์ โดยศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดสีน้ำเสีย
- 1.9.3 เสนอผลการทดลองการลดสีน้ำเสียในระดับขวดเขย่า โดยแยกทดลองน้ำ 2 ประเภท คือน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้ว เตรียมที่จะปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ แต่ยังไม่สามารถกำจัดสีของลิกนินในน้ำได้ กับน้ำเสียที่ออกจากโรงฟอกเยื่อที่ยังไม่ได้ผ่านการบำบัดเลย ในการทดลองนี้จะเป็นการจำลองการลดสีน้ำเสียใน 2 คอลัมน์โดยศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดสีน้ำเสีย
- 1.9.4 เสนอผลการทดลองการลดสีน้ำเสียในระดับขวดเขย่า โดยแยกทดลองน้ำ 2 ประเภท คือน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้ว เตรียมที่จะปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ แต่ยังไม่สามารถกำจัดสีของลิกนินในน้ำได้ กับน้ำเสียที่ออกจากโรงฟอกเยื่อที่ยังไม่ได้ผ่านการบำบัดเลย ในการทดลองนี้จะเป็นการจำลองการลดสีน้ำเสียใน 2 คอลัมน์ โดยศึกษาระยะเวลาที่นานที่สุดที่เมดเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้โดยไม่เปลี่ยนสภาพ
- 1.9.5 เสนอผลการทดลองการลดสีน้ำเสียในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไชน์เบด 2 เครื่องที่ต่อกันแบบอนุกรม โดยทดลองติดต่อกันเป็นเวลา 1 เดือน ทำงาน 9 ชั่วโมงต่อ 1 วัน
- 1.9.6 เสนอผลการทดลองการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการลดสีน้ำเสีย
- 1.9.7 เสนอผลการทดลองการลดสีน้ำเสียในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไชน์เบด 3 เครื่องที่ต่อกันแบบอนุกรม

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 อุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ

อุตสาหกรรมกระดาษก่อให้เกิดมลภาวะทางน้ำได้มากเนื่องจากเป็นอุตสาหกรรมที่ต้องใช้น้ำในกระบวนการผลิตมาก ดังนั้นจึงก่อให้เกิดปัญหาน้ำเสียมาก กระบวนการผลิตกระดาษแบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอนใหญ่ๆ คือ ขั้นตอนการผลิตเยื่อ และ ขั้นตอนการผลิตกระดาษ

เยื่อเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแยกเส้นใยในเนื้อไม้หรือวัตถุดิบอื่นๆที่มีเส้นใย และใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตกระดาษและ กระดาษแข็ง (Paper board) ถ้าใช้ไม้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเยื่อ จะต้องผ่านกระบวนการต่างๆ เพื่อให้ไม่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการผลิตเยื่อ เช่นการหั่น สับ บด ลอกเปลือกไม้ คัดขนาด เป็นต้น แล้วจึงสามารถนำมาผ่านกระบวนการผลิตเยื่อ ซึ่งแบ่งได้ 3 ประเภท คือ วิธีทางเคมี วิธีทางกล และวิธีร่วมระหว่างเคมี และทางกล การผลิตเยื่อด้วยวิธีทางกล องค์ประกอบทางเคมีเริ่มต้นที่มีในเยื่อจะไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนการผลิตเยื่อด้วยวิธีทางเคมีจะเป็นการทำลายพันธะที่เชื่อมลิกนินกับเส้นใยเฮมิเซลลูโลส และ เซลลูโลส ออกจากกัน

##### 2.1.1 กรรมวิธีการผลิตกระดาษ<sup>1</sup>

สามารถแบ่งเป็นขั้นตอนใหญ่ๆ ดังนี้

- การทำเยื่อ (Pulping) เป็นการสกัด แยกเส้นใยเซลลูโลสออกจากพืชที่ให้เส้นใยนั้นๆ
- การเตรียมเยื่อ (Stock Preparation) เป็นการปรุงแต่งและผสมผสานเส้นใยและสารเคมีในสถานะที่เป็นของเหลว
- การผลิตกระดาษบนเครื่อง (The Paper Machine) เครื่องผลิตกระดาษคือ ส่วนที่รองรับเยื่อที่ผสมเข้าด้วยกันในอัตราส่วนที่ต้องการแล้วเพื่อประสานตัวเป็นแผ่น และต่อเข้ากับกระบวนการกดเพื่อรีดเอาน้ำออก (Pressing) และการอบแห้ง (Drying) การขัดผิวกระดาษ (Calendering) และ การเข้าม้วน (Reeling)

ในงานวิจัยนี้ใช้น้ำเสียที่มาจากกระบวนการผลิตเยื่อ ดังนั้นจึงเสนอเฉพาะขั้นตอนการผลิตเยื่อเท่านั้น

การผลิตเยื่อ คือ กระบวนการแยกเส้นใย (Fiber) ซึ่งเกาะติดกันอยู่ในเนื้อไม้หรือพืชวัตถุดิบให้แยกออกจากกัน การผลิตเยื่อมีอยู่หลายวิธี การที่จะเลือกใช้วิธีใดนั้นขึ้นอยู่กับว่าเยื่อที่ผลิตได้นั้นจะนำไปใช้ผลิตกระดาษชนิดใดเป็นสำคัญ นอกจากนั้นก็ยังขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่นำมาผลิต

คุณสมบัติของเยื่อกระดาษขึ้นอยู่กับโครงสร้างของวัตถุดิบเป็นสำคัญ เยื่อกระดาษเป็นวัตถุดิบประเภทเส้นใย (Fibrous Raw Materials) สำหรับอุตสาหกรรมกระดาษส่วนใหญ่ได้มาจากพืชซึ่งแบ่งได้ดังนี้

1. ไม้ยืนต้น แบ่งตามลักษณะของการใช้เส้นใยออกเป็น 2 ประเภท คือ
  - 1.1 ไม้สน (Soft Wood) - ไม้เนื้ออ่อน
  - 1.2 ไม้ใบกว้าง (Hard Wood) - ไม้เนื้อแข็ง
2. พืชล้มลุกหรือพืชปลูกหมุนเวียน เป็นแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญในการผลิตกระดาษชนิดพิเศษ โดยทั่วไปแบ่งเป็น 3 แหล่ง คือ
  - 2.1 ผลิตผลพลอยได้จากการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย
  - 2.2 พืชล้มลุกขึ้นตามธรรมชาติ เช่น ไม้ไผ่ หญ้าขจรจบ อ้อ กก
  - 2.3 พืชหมุนเวียนในรอบปี
    - เส้นใยจากใบ เช่น ป่านศรนารายณ์ สับปะรด
    - เส้นใยจากเปลือกและลำต้น เช่น ปอแก้ว ปอกระเจา
    - เส้นใยจากฝ้าย เช่น เศษผ้าฝ้าย

### 2.1.2 การแบ่งประเภทของเยื่อตามความยาวของเส้นใย

2.1.2.1 **เยื่อใยยาว (Long Fiber)** ได้มาจากไม้จำพวก ไม้สน มีความยาวประมาณ 3-5 มิลลิเมตร

2.1.2.2 **เยื่อใยสั้น (Short Fiber)** ได้จากไม้จำพวก ไม้ใบกว้างและไม้ล้มลุกมีความยาวประมาณ 1.5 มิลลิเมตร

### 2.1.3 กรรมวิธีการผลิตเยื่อ – โดยย่อ<sup>1</sup>

#### 2.1.3.1 กรรมวิธีทางเคมี (Chemical Process)

- ใช้สารเคมีพวกซัลเฟต ซัลไฟต์ เป็นตัวละลายแยกเส้นใยในเนื้อไม้ออกมาเป็นเยื่อกระดาษ โดยใช้ขั้นตอนที่ซับซ้อนที่สภาวะเฉพาะ ผลผลิต (Yield) จะต่ำประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ แต่คุณภาพของเยื่อสูงในด้านความเหนียว เส้นใยสมบูรณ์ ฟอกให้ขาวได้ง่าย

#### 2.1.3.2 กรรมวิธีทางกล (Mechanical Process)

- ใช้เครื่องจักรที่เรียกว่า Refiner หรือ Defibrator บดชิ้นไม้ให้กลายเป็นเส้นใย จึงเรียกว่าเยื่อไม้บด (Ground wood) วิธีนี้ได้ผลผลิตเยื่อสูง 90-95 เปอร์เซ็นต์ เพราะไม่มีการละลายองค์ประกอบทางเคมีของไม้ออกไป แต่คุณภาพของเยื่อจะต่ำกว่าเยื่อเคมี ในด้านความเหนียวและการฟอกก็ทำได้ยากกว่า เยื่อประเภทนี้มีราคาถูก ได้แก่เยื่อกระดาษหนังสือพิมพ์

#### 2.1.3.3 กรรมวิธีกึ่งเคมี (Semi- Chemical Process)

- เป็นวิธีที่ผสมผสานการใช้สารเคมี และการบดเข้าด้วยกัน คุณภาพอยู่ระหว่างเยื่อเคมีกับเยื่อไม้บด เหมาะสำหรับกระดาษบางชนิดที่ต้องการความหนาแน่นต่ำ

### 2.1.4 ขั้นตอนการผลิตเยื่อ<sup>1</sup>

2.1.4.1 การเตรียมชิ้นไม้สับ ไม้ยูคาลิปตัส และไม้ไผ่จะถูกลำเลียงจากลานกองมาป้อนเข้าสู่ระบบเตรียมชิ้นไม้สับ โดยเริ่มจากนำไม้ท่อนมาผ่านเครื่องลอกเปลือก (แต่ถ้าเป็นไม้ไผ่ไม่ต้องนำมาลอกเปลือก) เปลือกที่ลอกออกมาถูกนำไปเข้าเครื่องสับเปลือกไม้ ชิ้นไม้สับที่ได้จะผ่านเครื่องคัดขนาดชิ้นไม้สับ เพื่อคัดขนาดให้ได้ขนาดตามที่ต้องการ ชิ้นไม้สับที่มีขนาดใหญ่เกินไปถูกนำกลับเข้าเครื่องสับชิ้นไม้ซ้ำอีกครั้งหนึ่ง ส่วนชิ้นไม้ที่ได้ขนาดแล้วนำไปเก็บไว้ในไซโล เพื่อรอการนำไปเข้ากระบวนการต้มเยื่อต่อไป

2.1.4.2 การต้มเยื่อ ใช้ความร้อนและไซตาไฟ เพื่อทำการละลายลิกนิน และส่วนประกอบของต้นไม้ที่ไม่ใช่เซลลูโลสออกมาจากเซลลูโลส ซึ่งลิกนินนี้เป็นตัวประสานเส้นใยเซลลูโลสของพืชเข้าด้วยกัน

กระบวนการต้มเยื่อเริ่มจากชิ้นไม้สับที่ถูกลำเลียงเข้าสู่หม้อต้มเยื่อ ภายในหม้อต้มเยื่อนี้ ชิ้นไม้สับถูกต้มด้วยไอน้ำ และสารเคมีอย่างต่อเนื่อง ภายใต้อุณหภูมิประมาณ 165-175 องศาเซลเซียส และความดันประมาณ 7-8 บาร์ ใช้เวลาในการต้ม 2-5 ชั่วโมง หลังจากผ่านการต้มแล้ว ชิ้นไม้สับกลายเป็นเยื่อซึ่งแขวนลอยอยู่ในน้ำดำเจือจาง (Black liquor) จากนั้นน้ำเยื่อถูกส่งเข้าถังลดความดัน (Blow tank) เพื่อลดความดันลงให้เท่ากับบรรยากาศ จากนั้นร่อนผ่านเข้าเครื่องกรองเพื่อแยกเอาสิ่งเจือปนออก เช่น ข้อที่ต้มไม่สุก เส้นใย หิน ทราาย และเศษพลาสติก เยื่อที่ผ่านการ



แยกสิ่งสกปรกออกแล้วถูกล้างให้สะอาดด้วยระบบการใช้น้ำหมุนเวียนแบบย้อนกลับ (Counter Current) น้ำดำที่ได้จากการล้างเยื่อซึ่งมีสารเคมีปนอยู่ก็ถูกส่งไปเข้ากระบวนการทำน้ำยาเคมีกลับคืนต่อไป

**2.1.4.3 การฟอกเยื่อด้วยออกซิเจน (Oxygen Delignification)** เยื่อที่ผ่านการล้างแล้วจะผ่านกระบวนการฟอกเยื่อแยกเอาลิกนินที่ยังหลงเหลืออยู่กับเส้นใยให้เหลือน้อยที่สุด โดยผ่านการผสมโซดาไฟ (NaOH) เข้ากับเยื่อแล้วจึงผ่านส่วนผสมทั้งหมดเข้าไปในถังเพื่อทำปฏิกิริยากับออกซิเจนภายใต้อุณหภูมิและความดัน เยื่อที่ได้ถูกส่งต่อไปยังถังลดความดัน จากนั้นผ่านเข้าเครื่องล้างด้วยระบบการใช้น้ำหมุนเวียนแบบย้อนกลับอีกครั้งหนึ่ง

**2.1.4.4 การฟอกเยื่อ (Bleaching)** เป็นกระบวนการที่ทำให้เยื่อกระดาษมีความขาวสว่างเพิ่มขึ้น โดยใช้สารเคมีในการฟอก 4 ขั้นตอนด้วยกัน โดยที่เยื่อถูกฟอกด้วยคลอรีนก่อนแล้วผ่านเข้าเครื่องล้างเยื่อเพื่อทำความสะอาด จากนั้นจึงสกัดด้วยโซดาไฟและออกซิเจน เยื่อที่ได้ถูกทำความสะอาดโดยเข้าเครื่องล้างเยื่ออีกครั้ง จากนั้นจึงฟอกด้วยน้ำยาไฮโปคลอไรต์ในหอไฮโปคลอไรต์ที่ 1 และ 2 ตามลำดับ เยื่อที่ได้จากหอไฮโปคลอไรต์ถูกล้างเยื่ออีกครั้ง โดยแยกเอาสิ่งสกปรกออกด้วยระบบกรองแบบแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง แล้วจึงส่งไปเก็บในถัง เพื่อรอไปทำให้เป็นแผ่น

ในที่นี้ขอกล่าวถึงเฉพาะกรรมวิธีผลิตเยื่อทางเคมี เพราะเป็นวิธีที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษโดยทั่วไป และเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดมลภาวะทางน้ำทั้งในเรื่องของสีที่ผสมอยู่ในน้ำทิ้งซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ของลิกนิน และในเรื่องสารเคมีตกค้างพร้อมทั้งกลิ่นที่ก่อให้เกิดความรำคาญ

## 2.1.5 กระบวนการผลิตเยื่อด้วยกรรมวิธีทางเคมี

กระบวนการซัลไฟต์ (Sulfite process) เป็นกระบวนการทางเคมีประเภทแรกที่เกิดขึ้นไม่เป็นที่ยอมรับ แต่ในปัจจุบันยังมีกระบวนการนี้ในการผลิตบ้างเล็กน้อย

กระบวนการซัลเฟต (Sulfate process) และ กระบวนการต่างของคราฟท์ (Kraft process) เป็นกระบวนการผลิตเยื่อที่คิดค้นขึ้นมาทีหลังสุด ราวปี ค.ศ. 1879 แต่ก็ได้รับการยอมรับเป็นอย่างดีจนกระทั่งโรงเยื่อในสหรัฐอเมริกานำมาใช้เป็นกระบวนการหลักในการผลิตเยื่อซึ่งคิดเป็น 70% ของปริมาณเยื่อทั้งหมดที่ผลิตได้

กระบวนการผลิตเยื่อแบบผสมระหว่างวิธีทางเคมีกับวิธีทางกล (Semicheical) กระบวนการนี้ใช้สารเคมี neutral sulfite โดยกระบวนการนี้เรียกชื่อเต็มๆว่า the neutral sulfite semicheical (NSSC) process ซึ่งถูกคิดค้นขึ้นในปี ค.ศ. 1925



ไม่กี่ปีที่ผ่านมาได้มีการพัฒนากระบวนการผลิตเยื่อขึ้นใหม่หลายวิธีทั้ง กระบวนการทางเคมี ทางกล และกระบวนการผสมระหว่างเคมีกับกล ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตาราง 2.1 จำแนกกระบวนการผลิตเยื่อแสดงผลตามปริมาณเยื่อที่ได้<sup>1</sup>

Form of Wood	Common Name	Chemical Treatment	Mechanical Treatment	Pulp Yield (%)
<b>Mechanical</b>				
Bolts	Groundwood, cold and hot <sup>a</sup>	None	Grindstone	93-98
Chips	Refiner mechanical (RMP)	None	Disk Refiner	93-99
Chips	Masonite	Steam	Steam Expansion	80-90
Chips	Asplund (coarse fiber)	Steam	Disk Refiner	80-90
Chips	Thermomechanical (TMP)	Steam	Disk Refiner (pressure)	91-95
<b>Chemimechanical and chemithermomechanical</b>				
Bolts	Streamed groundwood	Steam	Grindstone	80-90
Bolts	Groundwood, Decker process	Acid sulfite (Ca,Na,Mg)	Grindstone	80-90
Bolts	Groundwood, Fish process	Kraft	Grindstone	85-90
Bolts	Chemigroundwood	Neutral sulfite	Grindstone	80-90
Chips	Cold soda	Caustic soda	Disk Refiner	80-90
Chips		Alkaline sulfite	Disk Refiner	80-90
Chips			Disk Refiner (pressure)	65-85
<b>Semichemical</b>				
Chips	Neutral sulfite (NSSC)	Alkaline sulfite Chemithermomechanical	Disk Refiner	65-90
Chips	Kraft	NaOH+ Na <sub>2</sub> S	Disk Refiner	75-85
Chips	Green liquor	Na <sub>2</sub> S+Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Disk Refiner	65-85
Chips	Soda	sodium hydroxide	Disk Refiner	65-85
Chips	Nonsulfur	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> + NaOH	Disk Refiner	65-85
<b>High-yield chemical</b>				
Chips	Kraft (sulfate)	NaOH + Na <sub>2</sub> S	Disk Refiner	55-65
Chips	Sulfite	Acid sulfite (Ca,Na,Mg)	Disk Refiner	55-70
Chips	Sulfite	Bisulfite (Na,Mg)	Disk Refiner	55-70
<b>Full Chemical</b>				
Chips	Kraft (sulfate)	Na <sub>2</sub> S + NaOH	Mild to none	40-55
Chips	Polysulfide, one stage	( NaOH +Na <sub>2</sub> S)	Mild to none	45-60
Chips	Polysulfide, two stage	H <sub>2</sub> S pretreatment ; kraft	Mild to none	45-60
Chips	Soda	Caustic soda	Mild to none	40-55
Chips	Soda-AQ	NaOH + Anthraquinone	Mild to none	45-55
Chips	Soda-oxygen, two stage	NaOH ; oxygen	Disk refiner	45-60
Chips	Acid sulfite	Acid sulfite (Ca,Na,Mg,NH <sub>3</sub> )	Mild to none	45-55
Chips	Bisulfite	Bisulfite (Na,Mg,NH <sub>3</sub> )	Mild to none	45-60
Chips	Magnefite	Magnesium Bisulfite	Mild to none	45-60
Chips	Neutral sulfite	Neutral sulfite	-	45-55
Chips	Multistage sulfite			
	Stora	Sulfite-bisulfite ; SO <sub>2</sub>	None	45-55
	Sivola	Sulfite ; alkaline sulfite	None	45-55
<b>Dissolving</b>				
Chips	Prehydrolysis kraft	Prehydrolysis ; kraft	None	35
Chips	Sulfite	Acid sulfite (Ca, Na)	None	35

กล่าวถึงกระบวนการผลิตเยื่อด้วยวิธีทางเคมี แบ่งเป็นวิธีหลักๆได้ 2 วิธี คือ กระบวนการซัลไฟต์(Sulfite Pulping) และ กระบวนการด่าง (Alkaline pulping) ซึ่งทั้ง 2 วิธีมีความแตกต่างกัน ดังนี้

### 2.1.6 กระบวนการซัลไฟต์<sup>1</sup>

กระบวนการซัลไฟต์เป็นที่นิยมในอดีต แต่เมื่อมีการพัฒนากระบวนการด่าง (Kraft process) ทำให้ปริมาณเยื่อที่เกิดจากกระบวนการซัลไฟต์ลดลง

ตาราง 2.2 ปริมาณเยื่อที่ผลิตโดยกระบวนการซัลไฟต์ และกระบวนการด่าง ในสหรัฐอเมริกา และแคนาดา ระหว่างปี ค.ศ.1935-1976

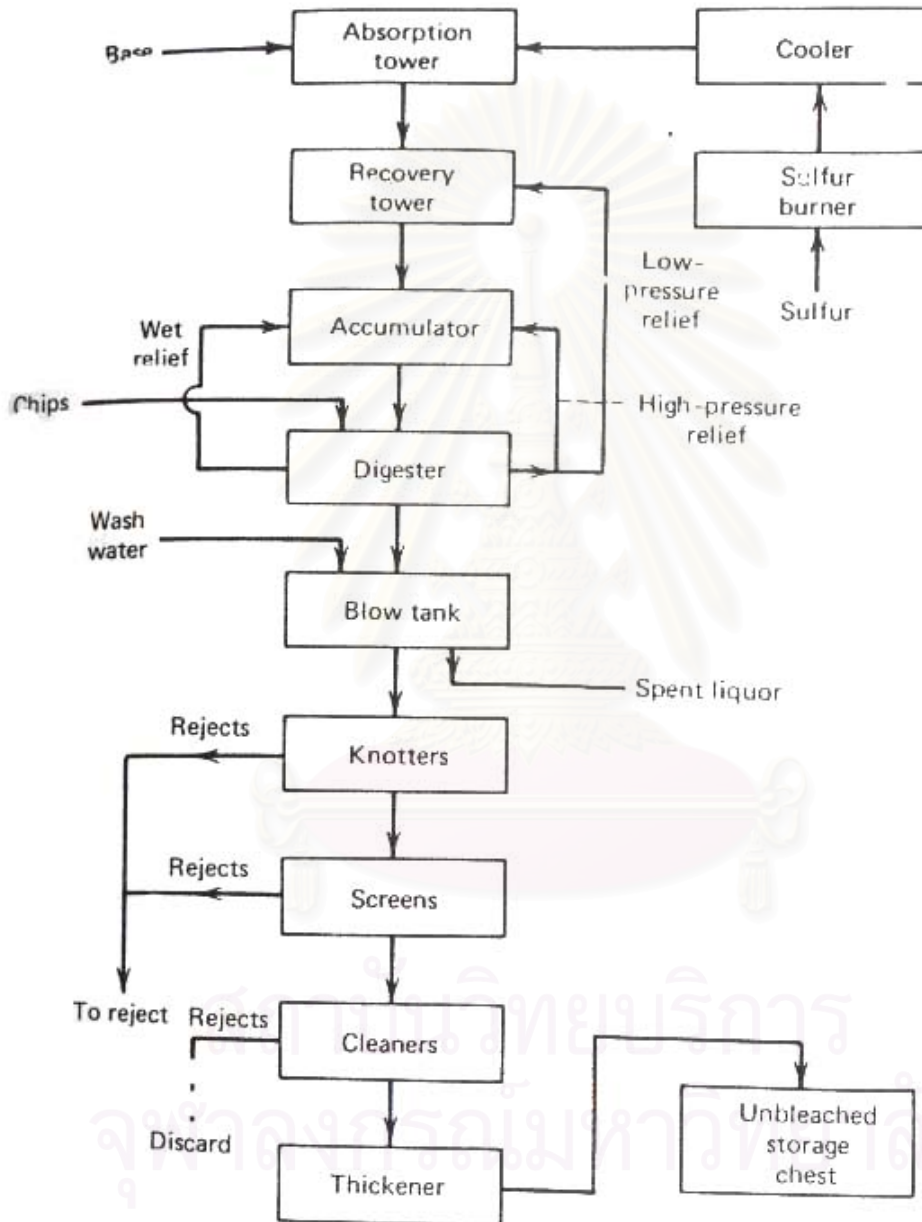
ปี	สหรัฐอเมริกา		แคนาดา	
	ซัลไฟต์ (ตัน)	ด่าง (ตัน)	ซัลไฟต์ (ตัน)	ด่าง (ตัน)
1935	1,390	1,467	1,025	206
1940	2,281	3,747	1,281	372
1950	2,370	7,502	1,875	1,054
1955	2,555	11,280	2,415	1,471
1960	2,578	14,592	2,291	2,442
1965	2,685	21,509	2,924	3,904
1970	2,344	29,471	2,720	6,844
1972	2,172	31,826	2,488	-
1973	2,230	32,838	2,865	8,893
1974	2,209	33,010	2,159	9,139
1975	2,025	29,357	-	7,015
1976	2,207	33,561	2,539	8,708

กระบวนการฟอกเยื่อในปี ค.ศ.1935 ด้วยสารเคมีเป็นที่นิยมมากขึ้นโดย ปริมาณเยื่อที่ได้จากกระบวนการซัลไฟต์ เท่ากับปริมาณเยื่อที่ได้จากกระบวนการด่าง แต่ในปัจจุบันเยื่อที่ผลิตจากกระบวนการซัลไฟต์คิดเป็นเพียง 10 % ของปริมาณเยื่อทั้งหมด

กระบวนการซัลไฟต์ค้นพบครั้งแรกโดย B.C.Tilghman ชาวสหรัฐอเมริกา ซึ่งพบว่าการทำให้เยื่อมีสีขาวมากขึ้นทำได้โดยทำปฏิกิริยากับกรดซัลเฟอร์รัส และแคลเซียมไบซัลไฟต์ ที่อุณหภูมิและความดันสูง แต่เครื่องมือที่ Tilghman ประดิษฐ์ขึ้นไม่สามารถทนต่อการกัดกร่อนของกระบวนการได้ ดังนั้นจึงไม่ประสบความสำเร็จในการผลิตเยื่อด้วยวิธีซัลไฟต์เพื่อทำการค้า

เหตุผลหลักที่ทำให้กระบวนการซัลไฟต์เติบโตทางการค้าอย่างรวดเร็วเพราะ ให้ผลผลิตสูง ค่าใช้จ่ายเรื่องสารเคมีที่ใช้ต้มเยื่อต่ำกว่ากระบวนการด่าง ให้เส้นใยที่มีความยาวสูงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทั้งที่ยังไม่ได้ฟอกเยื่อ แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการซัลไฟต์ก็มีข้อเสียที่ไม่สามารถ

แก้ไขได้ 2 ประการคือ สามารถผลิตเยื่อได้จากไม้เพียงไม่กี่ชนิด และ เส้นใยที่ผลิตได้ไม่แข็งแรงเมื่อเทียบกับการผลิตเยื่อด้วยกระบวนการต่าง



รูป 2.1 กระบวนการซัลไฟต์<sup>1</sup>

จากรูปที่ 2.1 ขั้นตอนเตรียมสารเคมีสำหรับต้มเยื่อ หรือกรด สำหรับกระบวนการซัลไฟต์ จะเป็นการเผาซัลเฟอร์เพื่อให้ได้ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หลังจากทำให้ก๊าซเย็นลงแล้วจะดูดซับ ก๊าซเพื่อเก็บไว้เป็นกรดสำหรับทำปฏิกิริยา สารละลายกรดนี้จะถูกบีบเข้าสู่หอความดันต่ำก่อนที่จะ ผ่านเข้าสู่ถังเก็บความดันสูงซึ่งจะดูดซับความร้อน ไอน้ำ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อให้เกิด สารที่ใช้ต้มเยื่อ ในขณะที่เดียวกันหม้อต้มเยื่อจะใส่น้ำที่สับเป็นชิ้นเล็กๆไว้จนเต็ม ปล่อยไอน้ำเข้าไปเพื่อไล่อากาศจากนั้นจึงใส่สารละลายสำหรับต้มเยื่อ หม้อต้มจะถูกเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นซึ่งอาจ จะมาจากไอน้ำโดยตรง หรือวิธีทางอ้อมอื่นๆ การต้มเยื่อในช่วงแรกจะมีการปล่อยสารละลายกรด ที่ใช้ต้มเยื่อให้กลับไปสู่ถังเก็บ และควบคุมความดันในหม้อต้มจากด้านบนของหม้อต้มเยื่อ เมื่อ ไกลถึงจุดสิ้นสุดการต้มเยื่อ จะเปิดวาล์วทางด้านล่างของหม้อต้มเพื่อลดความดัน และปล่อยสารที่ ใช้ต้มเยื่อออก หลังจากนั้นจะสเปรย์น้ำลงมาเพื่อล้างให้เยื่อสะอาด

### 2.1.7 กระบวนการต่าง (Alkaline Pulping)<sup>1</sup>

ในปัจจุบันนี้กระบวนการฟอกเยื่อส่วนใหญ่จะใช้ กระบวนการต่าง สาเหตุเพราะข้อได้ เปรียบหลายอย่างดังที่จะกล่าวถึงต่อไปนี้

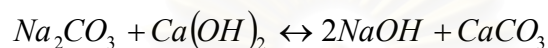
กระบวนการฟอกเยื่อด้วยต่างที่สำคัญ 2 อย่าง คือ กระบวนการโซดา และ กระบวนการ ซัลเฟต โดยทั้ง 2 กระบวนการมี โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นสารเคมีสำคัญที่ทำปฏิกิริยา หรือที่เรียก ว่าการต้มเยื่อ (Cooking) กระบวนการซัลเฟตเป็นกระบวนการที่พัฒนามาจากการฟอกเยื่อด้วย โซดา ค้นพบโดย Dahl นักเคมีชาวเยอรมันในปี ค.ศ. 1879 ซึ่ง Dahl พบว่า เมื่อต่างถูกใช้ไปใน กระบวนการโซดาจะเกิดโซเดียมซัลเฟตแทนที่จะเกิดโซเดียมคาร์บอเนต จากนั้นซัลเฟตจะถูกรีดิวซ์ เป็นซัลไฟด์ระหว่างการเผาสารเคมีที่เหลืออยู่ (spent liquor) การเรียกชื่อกระบวนการว่า กระบวน การซัลเฟตทำให้เกิดการเข้าใจผิดคิดว่าซัลเฟตเป็นสารเคมีหลักที่เข้าทำปฏิกิริยาทั้งที่จริงแล้วเป็น โซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมซัลไฟด์ ดังนั้นจึงเรียกกระบวนการนี้ใหม่ว่า กระบวนการคราฟท์ (Kraft process) ซึ่งกระบวนการคราฟท์มีข้อได้เปรียบกระบวนการซัลไฟต์ดังต่อไปนี้

1. สามารถใช้ได้กับไม้หลากหลายชนิด
2. ยอมให้มีเปลือกไม้ปนมาในเนื้อไม้ได้ในปริมาณมาก
3. ใช้เวลาในการต้มเยื่อสั้น
4. ปัญหาที่เกิดจากแก่นไม้มีน้อย
5. เยื่อมีความแข็งแรงดีเยี่ยม
6. กระบวนการผลิตสารเคมีกลับคืนเป็นที่ยอมรับ

7. ผลิตภัณฑ์ข้างเคียงที่เกิดขึ้นเป็นสารมีราคาซึ่งอยู่ในรูป เทอร์เพนทีน (Turpentine) และ ทอลออยล์ (Tall oil)

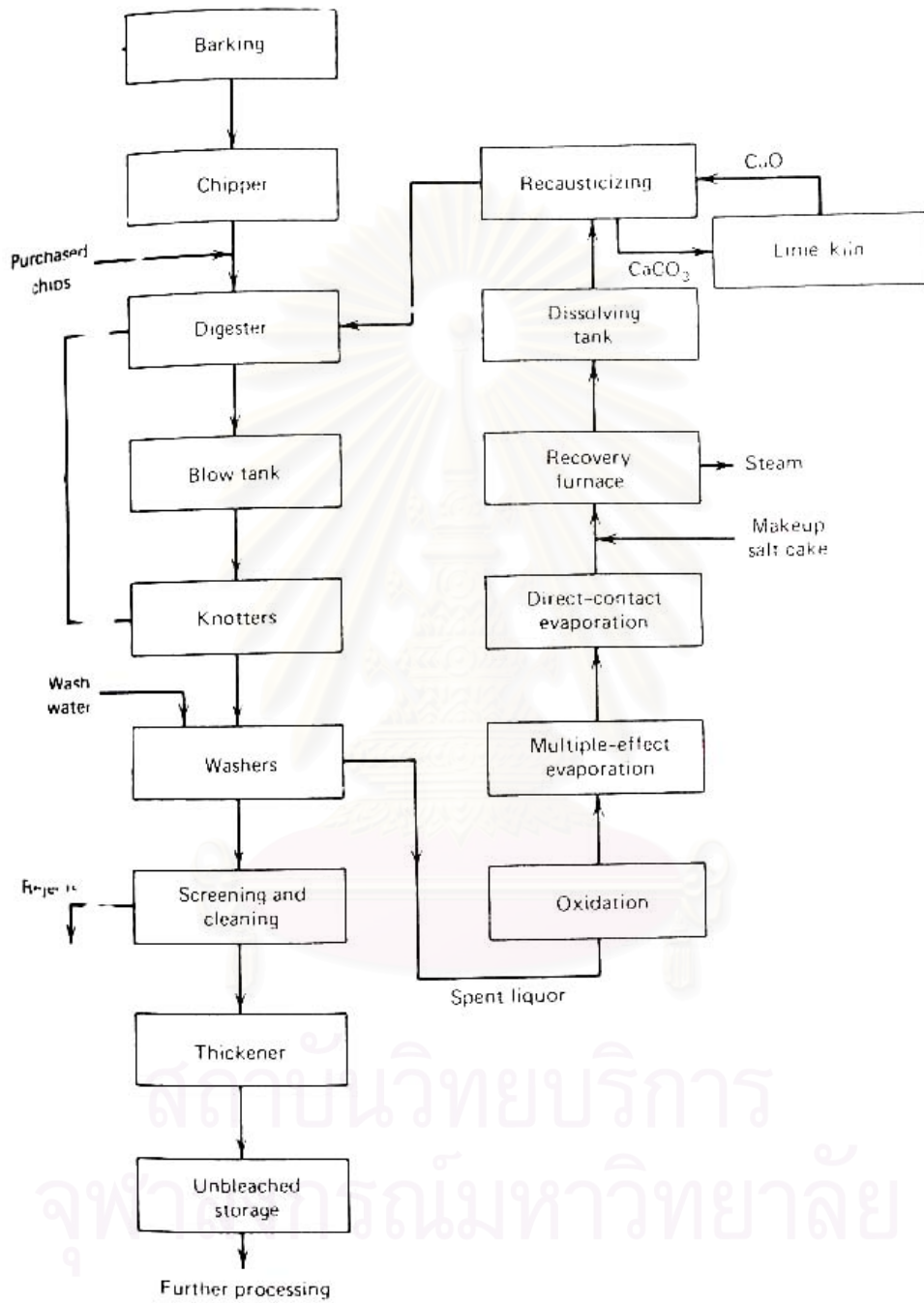
ข้อได้เปรียบเหล่านี้ทำให้ความนิยมของกระบวนการกราฟิ์เติบโตมากขึ้นเรื่อยๆ ดังแสดงในตาราง 2.2

สารเคมีที่ใช้ทำปฏิกิริยาในกระบวนการโซดาเมืองค์ประกอบหลักคือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมคาร์บอเนต ซึ่งโซเดียมคาร์บอเนตที่มีในกระบวนการนี้มาจากการทำปฏิกิริยากับปูนขาวเพื่อจะผลิตโซเดียมไฮดรอกไซด์ ดังแสดงในสมการ



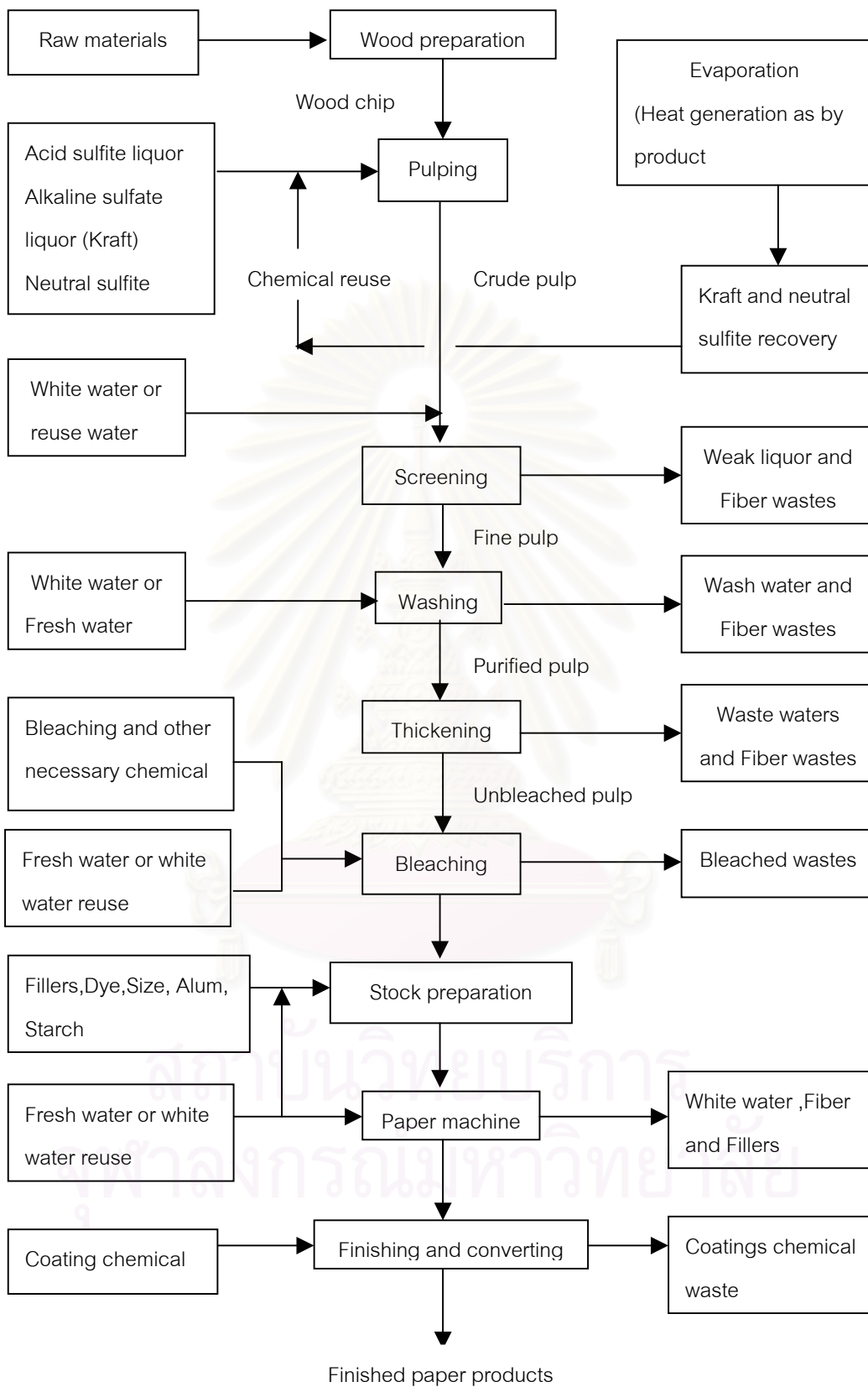
ที่จุดสมดุลปฏิกิริยาจะเกิดไปทางขวาเพราะความสามารถในการละลายของแคลเซียมคาร์บอเนตต่ำ อย่างไรก็ตามปูนขาว หรือ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ก็มีข้อจำกัดเรื่องความสามารถการละลาย และปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นก็ไม่สมบูรณ์พบว่า 80-85 เปอร์เซ็นต์ ของโซเดียมเกิดในรูปไฮดรอกไซด์ อีก 15-20 เปอร์เซ็นต์ จะเกิดในรูปคาร์บอเนต

จากรูป 2.2 แสดงแผนผังกระบวนการกราฟิ์ จะเห็นว่า ไซซ์ไม้และสารต้มเยื่อเข้าไปในหม้อต้มเยื่อซึ่งสามารถทำได้ทั้งแบบต่อเนื่องและแบบกะ ต้มเยื่อที่อุณหภูมิ 160-180 องศาเซลเซียสในขั้นตอนนี้สามารถกำจัดลิกนินออกได้ 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อต้มเยื่อเสร็จแล้วไซซ์ไม้และสารเคมีถูกปล่อยสู่ถังเพื่อล้างเยื่อ สำหรับไม้ไซซ์ใหญ่ที่ไม่สามารถต้มได้จะถูกกรองด้วยตะแกรงแล้วนำกลับเข้าหม้อต้มอีกครั้ง การล้างเยื่อใช้การล้างแบบสวนทาง (Countercurrent) สารละลายที่ได้จากการกรองจะผ่านเข้าสู่หอระเหยและผ่านเตาเผาเพื่อให้ได้องค์ประกอบของแข็ง 60 เปอร์เซ็นต์ หรือมากกว่า และเพื่อลดปัญหาด้านกลิ่นที่เกิดจากการปนเปื้อนของไฮโดรเจนซัลไฟด์จึงต้องเติมสารบางตัวเพื่อออกซิไดซ์ไฮโดรเจนซัลไฟด์ให้อยู่ในรูปอื่นก่อน หรือเติมโซเดียมซัลเฟตลงไปแล้วนำไปเผาในเตาเพื่อนำสารกลับคืน การเผาทำให้เกิดโซเดียมคาร์บอเนตและโซเดียมซัลไฟด์ซึ่งเกาะติดอยู่ที่เตาเผาและก่อให้เกิดกลิ่นเหม็น



รูป 2.2 กระบวนการคราฟท์<sup>1</sup>





รูป 2.3 กระบวนการผลิตเยื่อและกระดาษ<sup>3</sup>



### 2.1.8 การฟอกเยื่อ (Pulp Bleaching) <sup>4</sup>

การฟอกเยื่อทำหลังจากกระบวนการผลิตเยื่อ จุดประสงค์หลักของการฟอกเยื่อ คือ เพิ่มความขาวของเยื่อขึ้นให้ได้เยื่อที่เหมาะสมที่จะนำไปผลิตกระดาษพิมพ์และเขียน และยังมีจุดมุ่งหมายอื่นที่ต้องคำนึงถึง คือ ในการทำเยื่อให้ขาวขึ้นนั้นต้องไม่ทำลายความแข็งแรงของเยื่อ ความขาวสว่างของเยื่อ และความแข็งแรงของเยื่อต้องไม่ลดลงหลังจากที่เก็บไว้เป็นเวลานานๆ และที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ ต้องพยายามลดต้นทุนของการฟอกเยื่อลงให้ต่ำที่สุด ซึ่งหมายถึงต้องพยายามให้มีการสูญเสียเยื่อในการฟอกเยื่อน้อยที่สุดและเลือกสารเคมีที่ใช้ในการฟอกเยื่อให้ได้คุณภาพที่ต้องการ โดยใช้สารเคมีต่อหน่วยเยื่อฟอกต่ำ การที่เยื่อก่อนฟอกมีสีนั้นเกิดจากสารรงควัตถุ (chromophoric group) ที่มีอยู่ในลิกนิน ซึ่งเยื่อที่ไม่ได้ฟอกหรือเยื่อก่อนฟอกที่ได้มาจาก chemical pulping process ไม่ว่าจะเป็น sulfite หรือ kraft process ก็ตามจะมีลิกนินเหลืออยู่ในเยื่อประมาณ 2 – 4 % จากที่มีอยู่ในเนื้อไม้ สำหรับเยื่อที่ได้จากกระบวนการกึ่งเคมี หรือ กระบวนการทางกล มีการแยกเอาลิกนินออกน้อยหรือไม่ได้เอาออกเลยก็จะมีลิกนินอยู่ในเยื่อมาก การทำเยื่อให้มีความขาวสว่างขึ้นนั้นทำได้โดยการแยกลิกนินออกโดยใช้สารเคมีทำปฏิกิริยากับลิกนิน การฟอกเยื่อประกอบด้วยหลายขั้นตอน มักใช้อักษรตัวหน้าเป็นสัญลักษณ์แทนขั้นตอนนั้น โดยสารเคมี สัญลักษณ์และชื่อขั้นตอนการฟอกต่างๆ แสดงดังตาราง 2.3

ตาราง 2.3 ขั้นตอนการฟอกเยื่อ (Bleaching sequences) และสารเคมีที่ใช้ <sup>4</sup>

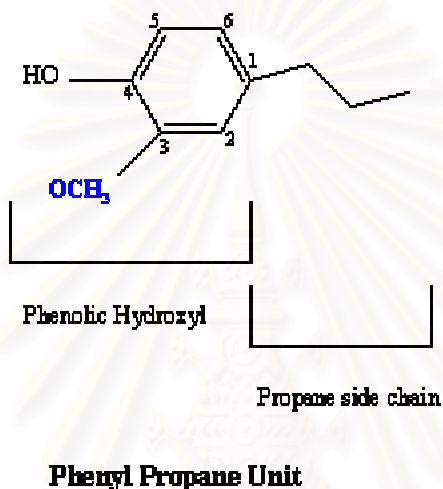
Bleaching sequences	Chemical used
Chlorination ( C )	Chlorine gas or chlorine water
Caustic Extraction ( E )	NaOH
Chlorine Dioxide ( D )	ClO <sub>2</sub> in acidic medium
Oxygen ( O )	Molecular of oxygen at high pressure in alkaline medium
Hypochlorite ( H )	Sodium or Calcium Hypochlorite
Hydrogen Peroxide ( P )	Hydrogen Peroxide in alkaline medium
Ozone ( Z )	Ozone in acidic medium
Mixture of Chlorine (C/D)	Chlorine- Chlorine Dioxide

## 2.2 ลิกนิน (Lignin)

### 2.2.1 โครงสร้างและลักษณะเฉพาะของลิกนิน<sup>5</sup>

สารลิกนินเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในเนื้อไม้ พบมากในผนังเซลล์ของพืชที่มีระบบลำเลียงจริง ในธรรมชาติลิกนินเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบมาก โดยทั่วไปในเนื้อไม้จะประกอบไปด้วย เซลลูโลส 30 - 40 %

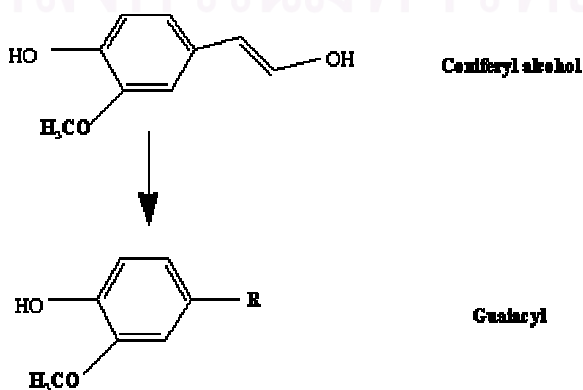
ลิกนิน 18 - 30 % และเฮมิเซลลูโลส 30 % โดยลิกนินจะรวมกันอยู่หนาแน่นระหว่างและภายในของชั้นนอกของเส้นใย ลิกนินเป็นตัวให้ความแข็งแรงของโครงสร้างเนื้อไม้ โดยการทำให้เส้นใยแข็งตึงและเกาะตัวกันแน่น ลิกนินเป็นสาร noncrystalline, ไม่ละลายน้ำ, มีความสามารถในการดูดซึ่มสูง เป็นเทอร์โมพลาสติกโดยธรรมชาติ เป็นสารประกอบพอลิเมอร์ โครงสร้างโมเลกุลส่วนใหญ่ เป็นวงแหวนประกอบด้วย phenylpropane unit และไม่มีโครงสร้างโมเลกุลที่แน่นอนทั้งหมดนี้ขึ้นอยู่กับ การรวมตัวของ phenylpropane unit<sup>5</sup> โครงสร้างของ phenylpropane unit แสดงดังรูป 2.4



รูป 2.4 โครงสร้างของ phenylpropane unit

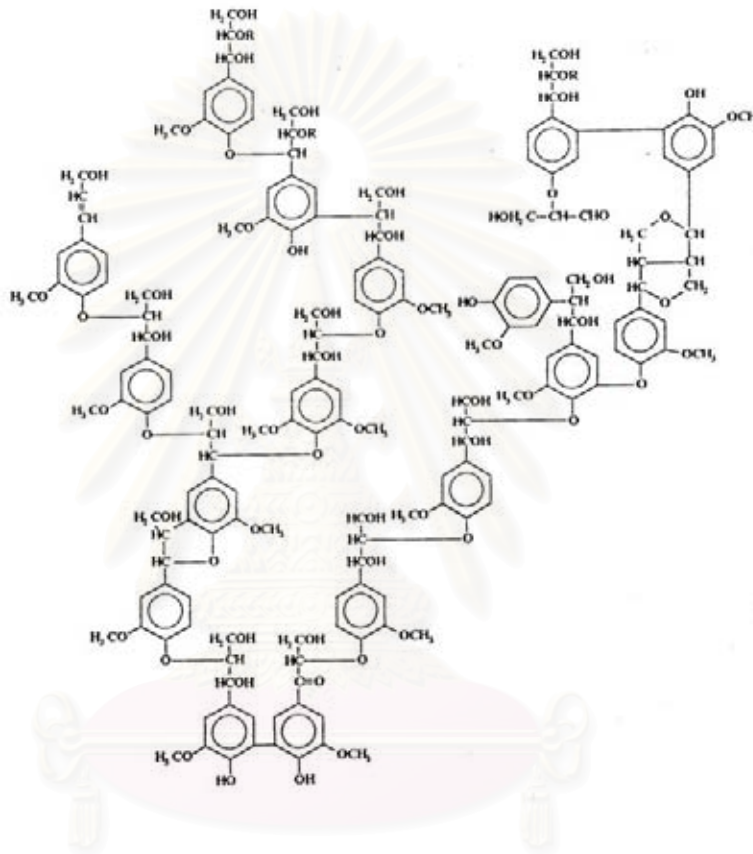
สารประกอบลิกนิน สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มหลัก ซึ่งแสดงในรูป 2.5 โดยพิจารณาจากสัดส่วนของสารตั้งต้น (Precursors) แต่ละชนิดที่ถูกนำมาสร้างได้แก่

- 1) ลิกนินจากไม้เนื้อแข็ง มีสารตั้งต้นเป็น Coniferyl alcohol (50-75 %) และ Sinapyl alcohol (25-50%) ซึ่งให้ Quaiacyl unit และ Syringyl unit ตามลำดับในโครงสร้างของพอลิเมอร์
- 2) ลิกนินจากไม้เนื้ออ่อนมีสารตั้งต้นเป็น Coniferyl alcohol เพียงอย่างเดียว
- 3) ลิกนินจากพืชล้มลุกมีสารตั้งต้นเป็น Coniferyl alcohol, Sinapyl alcohol และ Coumaryl alcohol ซึ่ง Coumaryl alcohol นี้ให้ p-hydroxyphenyl unit ในโครงสร้างของพอลิเมอร์



### รูป 2.5 สารตั้งต้นของโครงสร้างลิกนิน

โครงสร้างของสารลิกนิน<sup>6</sup> เป็นลักษณะ 3 มิติ ซึ่ง โมโนเมอร์ที่เป็น phenylpropane unit เชื่อมต่อกันด้วยพันธะระหว่างอะตอมคาร์บอน-คาร์บอน (C-C) และพันธะอีเธอร์ (C-O-C)<sup>5</sup> โครงสร้างที่ซับซ้อนของสารลิกนิน แสดง ดังรูป 2.6



รูป 2.6 โครงสร้างโมเลกุลของลิกนิน<sup>6</sup>

เนื่องจากความซับซ้อนของโครงสร้างโมเลกุลของลิกนินที่ประกอบไปด้วยพันธะระหว่างคาร์บอน-คาร์บอนอะตอม ซึ่งมีความต้านทานต่อสารเคมีและการย่อยสลายทางชีวภาพสูง ทำให้ลิกนินย่อยสลายได้ยากในธรรมชาติ ในอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษ ลิกนินจัดเป็นอุปสรรคสำคัญที่สุดที่ต้องกำจัดออกไป เพื่อให้เยื่อกระดาษที่ขาว สามารถนำไปผลิตกระดาษที่มีคุณภาพดีต่อไป ดังนั้นในขั้นตอนส่วนใหญ่ของอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษ จึงมุ่งที่การกำจัดลิกนินออกไปให้มากที่สุด ในกระบวนการผลิตเยื่อกระดาษและการฟอกเยื่อกระดาษนั้น พันธะระหว่าง propane side chain และวงแหวนเบนซีนถูกทำลายไปและเกิดเป็นพันธะใหม่ขึ้นเป็นสารอนุพันธ์ของลิกนินที่สามารถละลายน้ำได้ ชนิดของสารอนุพันธ์ขึ้นอยู่กับกระบวนการในการผลิตเยื่อและการฟอกเยื่อ เช่นในการฟอกเยื่อโดยใช้สารเคมีฟอกคลอรีน เช่น chlorine dioxide หรือสารประกอบคลอรีนชนิดอื่นๆ น้ำทิ้งจากการฟอกเยื่อนี้มีสารพวก chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbon ตัวอย่างคือ chlorinated dioxin, chlorinated phenol ที่เกิดจากการออกซิเดชันลิกนินด้วยสารประกอบคลอรีน ทำให้น้ำทิ้งมี

สีน้ำตาลเข้มและเป็นพิษด้วย สารอนุพันธ์ของลิกนินที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตเยื่อและการฟอกเยื่อ แสดงดังตาราง 2.4

ตาราง 2.4 สารอนุพันธ์ของลิกนินจากกระบวนการผลิตเยื่อและการฟอกเยื่อ<sup>6</sup>

Chemical pulping /Bleaching process	Chemical	Lignin derivatives
Soda Pulping	NaOH	Alkaline lignin
Kraft Pulping	NaOH + Na <sub>2</sub> S	Kraft lignin (Thio – lignin , Sulfate lignin )
Sulfite Pulping	H <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> + HSO <sub>3</sub>	Ligno - sulphonate
Chlorine Bleaching	Cl <sub>2</sub>	Chlorinated lignin

## 2.2.2 แหล่งของน้ำเสียที่มีลิกนินเจือปนอยู่

น้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษมักก่อให้เกิดปัญหาเนื่องจากสีและความเป็นพิษของน้ำเสีย เพราะในระบบบำบัดน้ำเสียไม่สามารถกำจัดหรือแยกสีออกจากน้ำเสียได้หมด ในกระบวนการผลิตเยื่อและกระดาษ โดยเฉพาะในกระบวนการผลิตเยื่อนั้นโครงสร้างทางเคมีของลิกนินถูกทำลายและเกิดเป็นสารอนุพันธ์ต่างๆของลิกนิน ซึ่งน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตเยื่อจึงมีสารเหล่านี้เจือปนอยู่ทำให้น้ำทิ้งมีสีน้ำตาลเข้มและมีความเป็นพิษสูง แหล่งใหญ่ของน้ำเสียที่มีลิกนินเจือปนอยู่ในโรงงานผลิตเยื่อมีดังนี้

### 2.2.2.1 น้ำทิ้งจากการย่อยเยื่อและการล้างเยื่อ (Digester and washer)

น้ำทิ้งนี้จะเรียกว่า “black liquor” เพราะว่ามีลักษณะสีคล้ำดำ หรือมีสีน้ำตาลเข้มมากซึ่งเกิดจาก amorphous group ของลิกนิน

### 2.2.2.2 น้ำ White water จากการแยกเยื่อ, ทำความสะอาดเยื่อ และการทำเยื่อให้ชั้น (screening, cleaning and thickening)

น้ำจากแหล่งนี้มีปริมาณมาก ในกระบวนการผลิตเยื่อกระดาษแบบคราฟท์ น้ำทิ้งส่วนนี้เป็นส่วนที่ไม่สามารถนำมาใช้ใหม่ได้ สารลิกนินได้จากกระบวนการล้างเยื่อซึ่งก็ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพในการล้างเยื่อ น้ำทิ้งจากจุดนี้มีสารแขวนลอยซึ่งส่วนใหญ่ซึ่งเป็นพวกเส้นใย

### 2.2.2.3 น้ำทิ้งจากเครื่องล้างเยื่อในระบบฟอกเยื่อ (Bleach plant washer)

น้ำทิ้งจากการฟอกเยื่อจะมีปริมาณสารอินทรีย์ประเภท สารประกอบ Chlorinated aromatic อยู่มาก ซึ่งแหล่งที่ก่อให้เกิดสารอินทรีย์เหล่านี้ส่วนใหญ่มาจากขั้นตอน Chlorination และ Alkaline extraction น้ำทิ้งจากขั้นตอนทั้งสองนี้จะมีค่าซีไอดี, ค่าบีไอดี และ ความเข้มข้นของสีสูงมาก

ผลเสียของสีในแหล่งน้ำธรรมชาติ<sup>7</sup>

- กั้นหรือขวางแสงแดดไม่ให้ส่องลงในน้ำ เป็นสาเหตุให้การสังเคราะห์แสงลดลง
- สีเป็นสิ่งที่มองเห็นด้วยตาเปล่า ทำให้น้ำนั้นไม่น่ามอง
- สีส่วนใหญ่เกิดจากสารอินทรีย์ประเภทไม่ละลายน้ำ (Dissolved) และ เป็นสารผสมของแข็งละเอียดที่แขวนลอยอยู่ในของเหลว (Colloidal) ซึ่งจะใช้ออกซิเจนในน้ำ

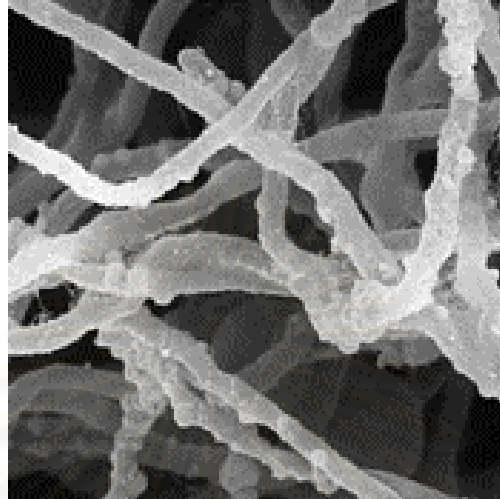
สีของน้ำมี 2 ประเภท<sup>8</sup> คือ

- 1) สีที่แท้จริง (True color) เกิดจากการละลายของสารประกอบที่มีในน้ำ
- 2) สีที่ปรากฏ (Apparent color) เกิดจากการสะท้อนของสิ่งที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ หรือไม่ก็อาจเกิดจากการสะท้อนของท้องฟ้า การทราบบสีที่แท้จริงของน้ำ อาจทำได้โดยการเก็บตัวอย่างน้ำขึ้นมาทำการกรองสิ่งที่แขวนลอยออกไป ใช้ Millipore filter หรือ ทำการเหวี่ยงแยก แล้วนำส่วนที่เป็นน้ำที่แท้จริงมาทำการเปรียบเทียบกับสีมาตรฐาน สีมาตรฐานจะได้จากการเจือจางในหลายๆขั้นตอนของสารละลายโพแทสเซียมคลอโรแพลตทินเนต - Potassium chloroplatinate ( $K_2PtCl_6$ ) และ โคบอลต์คลอไรด์-Cobaltous chloride ( $CoCl_2 \cdot H_2O$ ) หน่วยที่ใช้วัดคือ Platinum cobalt unit (1 unit = 1 mg Pt / L) เช่น 1 unit คือ ไส้มาก, 300 units คือ สีคล้ำมาก

### 2.3 เชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium*

*P. chrysosporium* เป็นเชื้อราในกลุ่ม White rot fungi (ราที่มีสายใยสีขาว) ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการศึกษาการย่อยสลายสารลิกนินและสารอินทรีย์ที่มีพิษอื่นๆ เช่น ดีดีที, พอลิคลอริเนตเตตไบฟีนิลและคลอริเนตเตตอัลเคน<sup>9,10</sup> โดยที่เชื้อรานี้สามารถผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายสารพิษต่างๆเหล่านี้ได้ *P.chrysosporium* จะหลั่งออกซิเดทีฟเอนไซม์ (Oxydative Enzyme) ออกมานอกเซลล์ ภายใต้ภาวะไนโตรเจน-คาร์บอนที่จำกัด โดยจะประกอบด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (LiP) และ มังกานีสเปอร์ออกซิเดส (MnP) ซึ่งเอนไซม์ 2 ชนิดนี้เกี่ยวข้องกับเมตาบอไลต์แบบทุติยภูมิในกระบวนการสร้างและสลาย (Secondary Metabolite) คือ เป็นเอนไซม์ที่สร้างขึ้นและขับออกนอกเซลล์เมื่อเชื้อราอยู่ในภาวะเจริญเติบโตเต็มที่ เอนไซม์ดังกล่าวสามารถออกซิไดซ์โมเลกุลของลิกนินทำให้ขนาดโมเลกุลของลิกนินเล็กลง เอนไซม์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายลิกนินมากที่สุดคือ ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (LiP) ซึ่งมีสมบัติในการออกซิไดซ์หมู่ฟีนอลิก มีผลทำให้พันธะ C-C และ C-O แตกหักออกจากกัน<sup>11</sup> ปัจจัยภายนอกที่สำคัญที่มีผลต่อแอกทิวิตีของเชื้อราในการเจริญเติบโตและผลิตเอนไซม์คือ อุณหภูมิ pH ระดับความเข้มข้นของ

ออกซิเจนละลาย และ ปริมาณการให้สารไนโตรเจนที่จำกัด<sup>6,12,13,14,15</sup> ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต คือที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส และที่พีเอช 4.0 - 4.5



รูป 2.7 เส้นใยเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium*<sup>6</sup>

## 2.4 การตรึงเซลล์ (Cell immobilization)<sup>16</sup>

### 2.4.1 ความหมายของการตรึงเซลล์

การตรึงเซลล์ ได้ดัดแปลงมาจากการตรึงเอนไซม์ โดยเป็นการจำกัดขอบเขตหรือสถานที่ทางกายภาพของเซลล์ให้อยู่ในบริเวณที่ที่กำหนด แต่เซลล์ยังคงรักษาสัมบัติในการเป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ให้มีความสามารถในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและสามารถใช้เซลล์ตรึงนี้ซ้ำและใช้ได้อย่างต่อเนื่องได้ โดยเซลล์ที่ถูกตรึงนี้อาจอยู่ในสถานะเซลล์ที่กำลังเจริญ เซลล์ระยะพักหรือเซลล์ที่ตายแล้ว<sup>16</sup> นอกจากนี้การตรึงเซลล์ยังเป็นการลดขั้นตอนการสกัดเอนไซม์ การทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์โดยไม่ทำให้เสียความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา

ข้อดีของเซลล์ตรึงที่ได้เปรียบกว่าเซลล์อิสระ

1. เซลล์มีเสถียรภาพมากขึ้นกว่าเดิมถ้าวิธีการตรึงนั้นเหมาะสม
2. ใช้ภาวะการทำปฏิกิริยาที่แตกต่างออกไปจากเซลล์อิสระได้
3. แยกสารผลิตภัณฑ์ออกได้ง่าย
4. นำเซลล์กลับมาใช้ซ้ำและต่อเนื่องกันได้หลายครั้ง



## 5. ลดต้นทุนการผลิต

### 2.4.2 กระบวนการตรึงเซลล์ (Cell immobilization process)<sup>16,17</sup>

เทคนิคในการตรึงเซลล์มี 3 วิธีคือ การยึดด้วยตัวนำ (Carrier-binding method) การเชื่อมขวาง (Cross-linking method) และการกักขัง (Entrapment method)<sup>16</sup>

2.4.2.1 การยึดด้วยตัวนำ (Carrier-binding method) หมายถึงการเชื่อมเซลล์จุลินทรีย์กับสารพาหะโดยตรง แบ่งได้ 2 วิธี คือ

2.4.2.1.1 การใช้พันธะโควาเลนต์ (Covalent binding method) เป็นวิธีการเชื่อมเซลล์โดยตรงกับสารพาหะ โดยสารที่ใช้เชื่อมนั้นสามารถต่อกับส่วนประกอบที่ยึดเซลล์ได้แก่กลุ่มอะมิโน, กลุ่มคาร์บอกซิล, กลุ่มซัลไฟดริล, กลุ่มไฮดรอกซิล, กลุ่มอิมิดาโซล หรือกลุ่มฟีนอลของโปรตีน วิธีนี้มีข้อดี คือ เซลล์เชื่อมอยู่กับผิวหน้าของตัวนำอย่างสม่ำเสมอ มีความคงตัวดี และการรั่วไหลของเซลล์น้อย<sup>16</sup> แต่ก็มีข้อเสีย เนื่องจากการตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้ค่อนข้างรุนแรง และความเป็นพิษของสารที่ใช้ อาจทำให้เซลล์สูญเสียความสามารถได้ ตัว support materials ที่นิยมใช้คือ Polysaccharide polymers เช่น เซลลูโลส , เด็กซ์ทราน (Dextran) , แป้ง และกลูโคส porous silica และ แก้วที่มีรูพรุน(Porous glass) เป็นต้น

2.4.2.1.2 การเกาะหรือดูดซับ (Adsorption method) เป็นวิธีการตรึงเซลล์โดยให้เซลล์ดูดซับกับสารที่เป็นตัวนำด้วยพันธะไฮโดรเจน หรือพันธะไฮโดรเจน<sup>17</sup> โดยอาศัยหลักทางธรรมชาติเคมี เนื่องจากผนังของเซลล์ประกอบด้วย diaminopimelic acid และ hexosamines ซึ่งสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับตัวนำได้ การตรึงวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย แต่แรงดูดซับค่อนข้างอ่อนและมีการสูญเสียเซลล์ได้ง่าย เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบส การไหลของน้ำ การเกิดฟองอากาศ และเมื่อมีการแบ่งเซลล์

2.4.2.2 การเชื่อมขวาง (Cross-linking method) หมายถึงการเชื่อมเซลล์เข้าด้วยกันโดยใช้สารพวไบ-(bi-) หรือ มัลติฟังก์ชันนอลรีเอเจนต์ (multifunctional reagent) เช่น กลูตาอัลดีไฮด์ (glutaraldehyde) และ โทลูอีน ไดไอโซไซยาเนต (toluene diisocyanate)<sup>16</sup> เป็นต้น วิธีนี้จะใช้สารเคมีภายใต้ภาวะที่ค่อนข้างรุนแรง ทำให้เซลล์สูญเสียความสามารถในการดำรงชีวิตได้



2.4.2.3 การกักขัง (Entrapment method) การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้ จะต่างจากการตรึงเซลล์ด้วยวิธีทางเคมีโดยที่ไม่ได้มีการเชื่อมติดหรือไม่มีพันธะเกิดขึ้นระหว่างเซลล์กับสารพาหะ ดังนั้นจึงสามารถใช้ได้กับเซลล์ทุกชนิด การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้แบ่งได้เป็น 2 วิธี คือ

2.4.2.3.1 การตรึงแบบไมโครแคปซูล (Microencapsulation) หมายถึง การกักขังเซลล์ไว้ในเยื่อกึ่งผ่านได้ (semipermeable membrane) เช่น collodian หรือ silicone ซึ่งป้องกันการซึมผ่านของเซลล์ได้ แต่ยอมให้ Substrate และผลผลิตซึมผ่านได้อย่างอิสระ การตรึงด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายแต่ไม่แข็งแรงพอที่จะใช้ในอุตสาหกรรม และอาจมีปัญหากการตกตะกอนของเซลล์เกิดขึ้นด้วย<sup>17</sup>

2.4.2.3.2 การตรึงเซลล์แบบแลตทิซ (Lattice type) หมายถึงการตรึงเซลล์โดยการกักขังไว้ในช่องว่าง 3 มิติ ในเจลของสารพอลิเมอร์ การตรึงเซลล์โดยวิธีกักขังทั่วไปจะหมายถึงแบบแลตทิซ ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมและประสบความสำเร็จมากที่สุด เนื่องจากใช้ได้กับเซลล์ทุกชนิด ในขณะที่วิธีการอื่นมีข้อจำกัดและข้อเสียเปรียบมากกว่า<sup>17</sup> การตรึงเซลล์ด้วยวิธีการกักขังนี้นิยมใช้สารพวก biochemically inert hydrogel เป็นตัวกักขัง โดยใช้หลักการเกิดเจลซึ่งทำให้เกิดโครงสร้าง 3 มิติ ที่มีลักษณะเป็นรูพรุน โดยกลไกในการเกิดเจลขึ้นกับสารพาหะที่ใช้ ดังแสดงในตารางที่ 2.5

เนื่องจากการเตรียมเซลล์ที่ถูกต้องมีหลายวิธี ดังนั้นสมบัติของสารพาหะที่เหมาะสมในการตรึงเซลล์แต่ละวิธีอาจมีข้อปลีกย่อยที่แตกต่างกันไป แต่โดยทั่วไปแล้วปัจจัยที่สำคัญในการพิจารณาจะคล้ายคลึงกันคือ<sup>17,18,19</sup>

1. มีพื้นที่ผิวมากเพื่อใช้ในการจับยึด
2. สมบัติทางกายภาพ (physical properties)
3. ไม่ละลายน้ำ
4. ความแข็งแรง
5. ความชอบน้ำ (hydrophilicity)
6. สภาพให้ซึมได้ (permeability)
7. ทนต่อสภาพแวดล้อมทางกายภาพ สารเคมี การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ และแรงกระทบเนื่องจากการตรึงเซลล์ต้องทำในภาวะปลอดเชื้อ ต้องเลือกสารพาหะที่ทนต่อความร้อนและความดันได้สูง สารพาหะไม่ควรเป็นอันตรายต่อเซลล์และสิ่งแวดล้อม และไม่ควรถูกกระทบกระเทือนต่อระบบเมตาบอลิซึม
8. ราคา
9. ความสามารถในการนำกลับมาใช้ได้อีก

ตาราง 2.5 วิธีกักขังเซลล์ด้วยการทำให้เกิดเจลโดยพอลิเมอร์ของสารอินทรีย์<sup>19</sup>

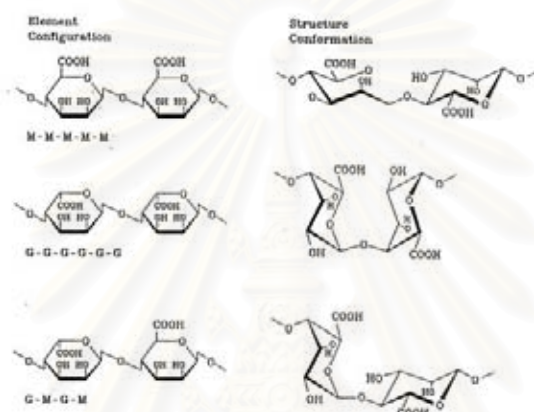
กลไกการเกิดเจล	สารพาหะ
พอลิเมอไรเซชัน (Polymerization)	พอลิอะคริลาไมด์, พอลิเมทาคริเลต
การเชื่อมขวาง (Cross linking)	พรีพอลิเมอร์, โปรตีน
พอลิคอนเดนเซชัน (Polycondensation)	พอลิยูเรเทน, เอพอกซีเรซิน
การเกิดเจลเนื่องจากความร้อน (Thermal gelation)	คอลลาเจน, เจลลาติน, เอการ์/เอกาโรส, แคปปา-คาร์ราจีแนน
การเกิดเจลแบบไอโอโนโทรปิก (Ionotropic gelation)	อัลจิเนต, ซิโทซาน
การตกตะกอน (Precipitation)	เซลลูโลส, เซลลูโลสไตรอะซิเตต

#### 2.4.3 วิธีการกักขังเซลล์ในแคลเซียมอัลจิเนต (Cell Entrapment in Calcium Alginate)<sup>18,19</sup>

การกักขังเซลล์จุลินทรีย์โดยใช้อัลจิเนตเป็นวิธีการที่เรียบง่ายวิธีการหนึ่งของการตรึงเซลล์ สารอัลจิเนตที่นิยมใช้มากสำหรับการตรึงเซลล์คือ โซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate) ซึ่งเป็นพอลิแอนไอออน (polyanion) ทั้งนี้เนื่องจากสามารถทำการทดลองได้ที่อุณหภูมิห้องและสามารถละลายน้ำได้ อัลจิเนตเป็นสารที่ไม่เป็นพิษ มีเสถียรภาพต่อสารเคมีสูง ที่ พีเอช 5-10 ยอมรับให้ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาวนานกว่า 65 ปี โดยใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร เช่น thickening agents, emulsifying agents, film forming agents และ gelling agents<sup>20,21</sup> แต่การใช้อัลจิเนตเป็นสารพาหะก็มีข้อเสียเช่นกัน ประการแรกคือ สารประกอบนี้สามารถเสื่อมสลายได้เมื่อสัมผัสโดยตรงกับสารออกซิไดซ์ เช่น หมู่ธาตุแฮโลเจน หรือ เปอร์ออกไซด์ และโดยระบบบริดจิง เช่น พอลิฟีนอล หรือ ไทออล (thiols) ประการที่สองคือ อัลจิเนตจะสูญเสียเสถียรภาพเชิงกลเมื่อสัมผัสกับโปแทสเซียมไอออน ( $K^+$ ), แมกนีเซียมไอออน ( $Mg^+$ ), สารฟอสเฟต หรือ Chelating agent ที่มีความเข้มข้นสูง อย่างไรก็ตามวิธีการตรึงเซลล์ด้วยอัลจิเนต ก็เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ปลอดภัย และมีราคาไม่แพงมากนัก ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็น biocatalysts ได้อย่างกว้างขวาง

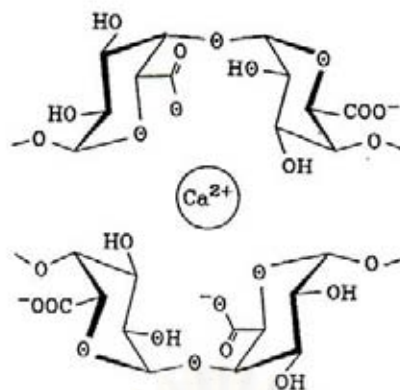
อัลจิเนต (Alginate) เป็นสารที่สกัดจากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล (Kelp) เช่น *Macrocystis pyrifera* เป็นต้น มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีเป็นพอลิเมอร์ร่วม ของ  $\beta$ -D- manuronate (M) และ

$\alpha$ -L- guluronate (G) โดยต่อแบบ 1-4 linked ดังรูปที่ 2.9 อัลจีเนตสามารถเกิดเจลได้ เมื่ออยู่ในสารละลายที่มีไอออนของโลหะ เช่น อะลูมิเนียมไอออน ( $Al^{3+}$ ), แคลเซียมไอออน ( $Ca^{2+}$ ), แบเรียมไอออน ( $Ba^{2+}$ ) หรือ คอปเปอร์ไอออน ( $Cu^{2+}$ ) โดยมีการแทนที่ของไอออนของสารโลหะเหล่านี้ ทำให้เกิดเป็นเจล มีโครงสร้าง 3 มิติ เรียกการเกิดเจลชนิดนี้ว่า “ไอโอโนโทรปิก”(Ionotropic gelation) ดังรูปที่ 2.8 โดยที่โครงสร้างแบบ 3 มิตินี้ค่อนข้างเฉื่อยทางด้านชีวเคมี และมีเสถียรภาพทางเชิงกล ซึ่งเหมาะสำหรับใช้ในการตรึงเซลล์ เพราะเซลล์สามารถถูกกักขังไว้ในเจลได้ภายใต้ภาวะที่ไม่รุนแรงโดยไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์<sup>20</sup>



รูป 2.8 โครงสร้างทางเคมีของอัลจีเนต<sup>19</sup>

การตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมอัลจีเนต ทำได้โดยการผสมเซลล์ลงในสารละลายโซเดียมอัลจีเนต ความเข้มข้น 2 - 4 % (w / v) แล้วหยดลงบนสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.05-0.2 M จะเกิดเป็นเจลของแคลเซียมอัลจีเนตขึ้นทันที หลังจากนั้นควรแช่เจลที่ได้ไว้ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์อย่างน้อย 20 นาที เพื่อให้การเกิดเจล เกิดอย่างสมบูรณ์<sup>22</sup> สมบัติของเจลที่ได้ จะขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของอัลจีเนตที่ใช้ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับชนิด ความเข้มข้นของไอออนโลหะ และปริมาณเซลล์ที่ใช้ด้วย<sup>23</sup>



รูป 2.9 การรวมตัวของสายไซโตโดยการเกิด Complex Formation กับ แคลเซียมไอออน( $\text{Ca}^{2+}$ )<sup>19</sup>

การใช้แคลเซียมอัลจินेटในการตรึงเซลล์ มีข้อดีหลายประการ คือ สามารถทำได้ง่ายในภาวะปกติ สะดวก และรวดเร็ว ดังนั้นจึงนิยมใช้ในการตรึงเซลล์ที่มีชีวิต และการตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมอัลจินेटยังเป็นวิธีที่ปลอดภัย เนื่องจากเซลล์ที่ถูกตรึงด้วยแคลเซียมอัลจินेटสามารถแบ่งเซลล์ได้ภายในเจล ทำให้ความสามารถในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีอยู่เป็นเวลานาน แต่เซลล์บางส่วนอาจหลุดออกนอกเจล คือ มีการรั่วไหลของเซลล์ทำให้เกิดการปนเปื้อนในผลผลิตได้ สิ่งที่มีอิทธิพลต่อการรั่วไหลของเซลล์คือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของอัลจินेट ความทนทานเชิงกลทางโครงสร้างของเม็ดเจล เช่น การเขย่าจะทำให้เกิดการรั่วไหลของเซลล์ได้มากกว่าการบรรจุเม็ดเจลในคอลัมน์ การลดเสถียรภาพของเม็ดแคลเซียมอัลจินेट ทำได้โดยการแทนที่ แคลเซียมไอออนด้วย chelating agent หรือ divalent cation เช่น แมกนีเซียมไอออน ( $\text{Mg}^{2+}$ ), ฟอสเฟต, citrate และ EDTA

## 2.5 การประยุกต์ใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไรซ์เบด (Fluidized bed bioreactor) ในการบำบัดน้ำเสีย

ในปัจจุบัน เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไรซ์เบด เป็นเครื่องปฏิกรณ์ที่สำคัญที่มีการนำไปใช้ในงานเกี่ยวกับกระบวนการต่างๆ ทางชีวภาพกันอย่างแพร่หลาย เช่น มีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเอทานอล, การผลิตเบียร์, กระบวนการทางอาหารและเครื่องดื่ม, การบำบัดน้ำเสีย และการประยุกต์ใช้ในงานด้านสิ่งแวดล้อมอื่นๆ

ในระบบปฏิกรณ์ที่ต่อเนื่องแล้ว เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไรซ์เบดจัดได้ว่าเป็นเครื่องปฏิกรณ์ที่เหมาะสมที่สุด ในระบบนี้ไม่ต้องระมัดระวังด้านการสูญเสียและสูญเสียของเม็ดของแข็งเท่าใดนัก ขนาดของเม็ดของแข็งจะเป็นปัจจัยสำคัญของการก่อให้เกิดฟลูอิดไรซ์เบดที่เรียบ ทั้งนี้เพราะระบบฟลูอิดไรซ์ คือ ระบบที่ทำให้ของแข็งที่มีลักษณะเป็นเม็ดหรืออนุภาคสัมผัสกับสารละลายหรือแก๊ส ซึ่งไหลผ่านเข้ามาทางด้านล่างของคอลัมน์ด้วยความเร็วพอเหมาะค่าหนึ่งจะทำให้อนุภาคหรือเม็ดของแข็งเกิดการขยับตัวและลอยขึ้นอย่างอิสระเรียบ ไม่เกาะติดกัน ของแข็งที่อยู่ ณ ลักษณะเช่นนี้จะมีสมบัติคล้ายของไหล คือสารละลายหรือแก๊ส ซึ่งจะไหลหมุนวนอยู่ภายในคอลัมน์หรือในเบด เรียกของแข็งในสถานะนี้ว่า “ฟลูอิดไรซ์เชน”

### 2.5.1 ประเภทของฟลูอิดไรซ์เชน<sup>24</sup>

ระบบฟลูอิดไรซ์ มี 2 ประเภท คือ

1) ฟลูอิดไรซ์เชนสองสถานะ (Two - phase Fluidization) หมายถึง ระบบฟลูอิดไรซ์ที่ประกอบด้วย 2 สถานะคือ ของแข็งกับของไหล ซึ่งเป็นแก๊สหรือของเหลวอย่างใดอย่างหนึ่ง ดังนั้นจึงแบ่งย่อยออกเป็น 2 ชนิดคือ

- แก๊สฟลูอิดไรซ์เชน (Gas Fluidization)
- ฟลูอิดไรซ์เชนของเหลว (Liquid Fluidization)

2) ฟลูอิดไรซ์เชนสามสถานะ (Three - phase Fluidization) หมายถึง ระบบฟลูอิดไรซ์ที่ประกอบด้วย 3 สถานะ คือ ของแข็ง ของเหลว และแก๊ส ซึ่งเป็นระบบดัดแปลงมาจากระบบฟลูอิดไรซ์แบบสองสถานะ

## 2.5.2 ลักษณะของฟลูอิดไฮดรอลิกสามสถานะ<sup>24</sup>

เม็ดของแข็งที่อยู่ในเบดเคลื่อนที่ได้ด้วยการผ่านน้ำหรือสารละลายและอากาศไปพร้อมๆกัน อากาศเคลื่อนที่ในเบดในลักษณะเป็นฟอง ซึ่งเคลื่อนที่สู่ด้านบนของคอลัมน์ด้วยความเร็ว ขณะที่ลอยตัวนี้จะเหนี่ยวนำให้ทั้งน้ำและเม็ดของแข็งเคลื่อนที่ตามด้วย จึงเกิดการหมุนเวียนของเม็ดของแข็งตลอดทั้งเบด ถ้าเพิ่มจำนวนฟองอากาศมาก การหมุนเวียนของเม็ดของแข็งยิ่งมีความรุนแรงเพิ่มขึ้น ระบบฟลูอิดไฮดรอลิก 3 สถานะ แสดงดังรูป 2.10

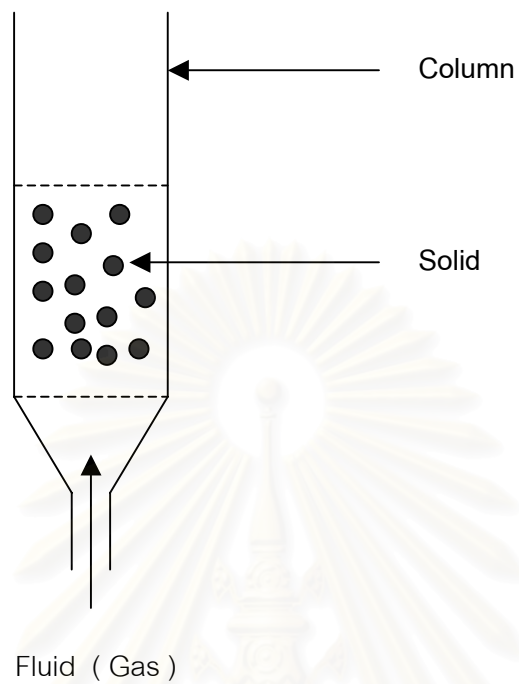
## 2.5.3 ความเหมาะสมของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไฮดรอลิก

ข้อดีของการใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไฮดรอลิก

1. สามารถทำงานแบบต่อเนื่องได้และการควบคุมทำได้ไม่ยาก ไม่ซับซ้อนนัก
2. มีการสูญเสียพลังงานน้อยเพราะลดแรงเสียดทานต่อการไหลและมีความดันน้อยกว่าระบบเบดบรรจุ (Packed bed)
3. เพิ่มพื้นที่สัมผัสระหว่างเม็ดของแข็งหรือกับของไหลมีมากกว่าเบดบรรจุที่ใช้จำนวนเม็ดของแข็งเท่ากัน จึงมีประโยชน์ในการขยายงานที่มีทั้งการถ่ายโอนความร้อนและการถ่ายโอนมวลสาร
4. เนื่องจากเม็ดของแข็งเคลื่อนที่อยู่ตลอดเวลา ทำให้เกิดการผสมกันได้อย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอ อุณหภูมิภายในเบดจะคงที่ตลอดซึ่งต่างจากเบดอื่น

อย่างไรก็ตาม ระบบฟลูอิดไฮดรอลิกยังมีข้อเสีย ทำให้เกิดข้อจำกัดของการใช้งานในระดับอุตสาหกรรมอยู่บ้าง กล่าวคือ ระยะเวลาที่ของไหลสัมผัสกับเม็ดของแข็งนั้นสั้นมาก จึงต้องใช้เบดสูงๆ หรือใช้หลายๆคอลัมน์ ซึ่งจะสิ้นเปลืองเงินลงทุนในส่วนของนี้ อีกประการหนึ่งคือ ต้องมีการควบคุมที่แม่นยำ ถ้าให้ความเร็วของของไหลสูงเกินไป เม็ดของแข็งจะหลุดออกไปจากคอลัมน์พร้อมกับของไหลได้





รูป 2.10 ลักษณะของฟลูอิดไเซชัน 3 สถานะ

#### 2.5.4 การประยุกต์ใช้งานด้านการบำบัดน้ำเสีย

จากอดีตสู่ปัจจุบัน การประยุกต์ใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไเซชันแบบมาทำงาน ร่วมกับการบำบัดทางชีวภาพเป็นที่ยอมรับมากขึ้น ตัวอย่างการนำเอาเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ ฟลูอิดไเซชันไปใช้ในงานด้านการบำบัดน้ำเสีย แสดงดังตาราง 2.6

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 2.6 ตัวอย่างการใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไรซ์เบดในงานด้านการบำบัดน้ำเสีย

Treatment process	References
Treatment of pulp and paper industry wastewater in an anaerobic fluidized bed reactor	Hakulinen, R., and Mirja ,S.S., 1982 <sup>25</sup>
Biodegradation of dichloromethane in wastewater	R. Gälli, 1987 <sup>26</sup>
Three-phase biofilm fluidized sand bed reactor for aerobic wastewater treatment	Ryhiner, G.,Petrozzi, S., and Dunn, I.J., 1988 <sup>27</sup>
Decolorization and dechlorination of klaft bleach plant effluent using immobilized <i>Trametes versicolor</i> in urethane prepolymer	Sammaiah Pallerla and Robert P.Chambers, 1996 <sup>28</sup>

## 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Joyce และคณะ<sup>29</sup> (1984) ศึกษาการลดสีของน้ำเสียจากโรงฟอกเยื่อกระดาษโดยใช้เชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* ในกระบวนการ Mycelial Color Removal (MyCoR) ซึ่งใช้เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบจานหมุน (Rotating Biological Contactor) พบว่าภาวะที่เหมาะสมคือที่อุณหภูมิ 40 °C และปรับพีเอชของน้ำเสียให้คงที่ที่ 4.5 และมีการผ่านออกซิเจนบริสุทธิ์เข้าไปในเครื่องปฏิกรณ์ สามารถลดสีของน้ำเสียซึ่งสูงถึง 2,000 หน่วยสีต่อลิตรต่อวัน ได้ 70% และพบว่ายังสามารถลดค่าความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (BOD) และค่าความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD) ได้ด้วย

Huynh และคณะ<sup>30</sup> (1985) รายงานว่าเชื้อราในกลุ่ม white rot fungi คือ เชื้อรา *P. chrysosporium* สามารถย่อยสลายสารประกอบพวก Chlorinated phenol เช่น สาร 2,4,6-trichlorophenol และ สาร polychlorinated guaiacols ซึ่งเป็นสารพิษที่เกิดขึ้นในกระบวนการฟอกเยื่อกระดาษด้วยสารคลอรีน กระบวนการต่างๆที่เกิดขึ้นในการย่อยสลายสารเหล่านี้ประกอบด้วย กระบวนการออกซิเดชัน (oxidation), ดีคลอรีเนชัน (dechlorination) และ เมทิลเลชัน (methylation)

Mileski และคณะ<sup>31</sup> (1988) ได้ทำการศึกษาทดลองการย่อยสลายทางชีวภาพของสารเพนตะคลอโรฟีนอลโดยใช้เชื้อรา *P. chrysosporium* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณสารไนโตรเจนจำกัด พบว่า เชื้อราสามารถเจริญเติบโตและย่อยสลายสารเพนตะคลอโรฟีนอล ที่มีความเข้มข้นสูงถึง 500 มิลลิกรัม / ลิตร (1.9 mM) ได้ และพบว่า ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารเพนตะคลอโรฟีนอลเท่ากับ 1.1 มิลลิกรัม / ลิตร (4.2  $\mu$ M) สามารถย่อยสลายได้ 97 % ภายในเวลา 28 ชั่วโมงของการบ่มเชื้อเปรียบเทียบกับที่ไม่ได้มีการเติมเชื้อ และศึกษาภาวะการเจริญเติบโตของเชื้อที่มีผลต่อการย่อยสลายสารเพนตะคลอโรฟีนอล พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวให้เจริญเติบโตเต็มที่ก่อนจึงเติมสารเพนตะคลอโรฟีนอลลงไป อัตราการย่อยสลายสารนี้จะสูงกว่าเมื่อมีการเติมสารนี้ลงไปพร้อมกับอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

Lewandowski และคณะ<sup>32</sup> (1990) ศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการย่อยสลายสาร 2-คลอโรฟีนอล ในเครื่องปฏิกรณ์แบบเบดนิ่ง (Packed-Bed Reactor) ที่มีการตรึงเซลล์ *P. chrysosporium* บน ซิลิกาเบส ซึ่งเป็นสารพาหะที่มีรูพรุนและในเครื่องปฏิกรณ์แบบผสม (Well-mixed Reactor) ที่ใช้อัลจิเนตเป็นตัวกลางในการตรึงเซลล์ เครื่องปฏิกรณ์ 2 ชนิดนี้ มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสาร 2 - คลอโรฟีนอล ที่มีความเข้มข้นสูงถึง 520 ppm. ผลของการศึกษาพบว่า การใช้เทคนิควิธีที่ 2 จะให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายดีกว่า เพราะการตรึงเซลล์จะเป็นแบบกักขัง ซึ่งมีข้อดีกว่าแบบเทคนิคที่ 1 ที่เป็นการตรึงเซลล์แบบดูดซับ การหาค่าคงที่ของอัตราการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสาร 2-คลอโรฟีนอล จะใช้สมการของ Michaelis-menten ในการอธิบายข้อมูลที่ได้จากการทดลอง และศึกษาการผลิตเอนไซม์ ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (LiP) และการย่อยสลายสารเพนตะคลอโรฟีนอล ในSilicone membrane biofilm reactor เปรียบเทียบกับการทดลองในขวดทดลอง พบว่า ในเครื่องปฏิกรณ์นั้นสามารถย่อยสลายสารเพนตะคลอโรฟีนอลได้ในอัตรา 10.5 มิลลิกรัม / ลิตร / วัน และมีอัตราการย่อยสลายสารนี้สูงกว่าในขวดทดลอง ถึง 5 เท่า

Alan L. Prouty.<sup>33</sup> (1990) ศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาการลดสีของน้ำทิ้งจากการฟอกเยื่อกระดาษด้วยเชื้อรา *P. chrysosporium* พบว่าอัตราการลดสีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ปัจจัยแรก คือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำเสีย โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้นเริ่มต้นตั้งแต่ 2000 – 8000 หน่วยสีต่อลิตร พบว่า อัตราการลดของสีจะสูงที่สุดที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 6000 หน่วยสีต่อลิตร, ปฏิกิริยาการลดของสีจะเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง เมื่อความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าต่ำ และเป็นปฏิกิริยาอันดับศูนย์ เมื่อความเข้มข้นเริ่มต้นของสีมีค่าสูง ซึ่งการทดลองนี้สอดคล้อง

กับการทดลองของ Campbell ในปี 1983 ส่วนปัจจัยที่สองคือ อัตราการเติมอากาศ ได้ทำการทดลองในปฏิกรณ์แบบมีการเติมอากาศ โดยมีอัตราการเติมอากาศตั้งแต่ 700 - 6000 ลบ.ชม. / นาที เพื่อหาอัตราการเติมอากาศที่เหมาะสมในการลดสี พบว่าอัตราการลดของสีจะสูงที่สุดเมื่อมีการเติมอากาศ 4500 ลบ.ชม. / นาที ซึ่งผลจากการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Reid และคณะ ในปี 1985 ที่แสดงให้เห็นว่าการย่อยสลายของลิกนินเกิดขึ้นเมื่อทำการทดลองในภาวะที่มีการกวน

Sayadi และ Ellouz<sup>34</sup> (1992) ศึกษาการลดสีของ Olive mill wastewater โดยใช้เชื้อรา *P. chrysosporium* พบว่าการลดลงของสีในน้ำเสียเกิดขึ้นได้ในระหว่างระยะแรกของการเจริญเติบโตของเชื้อเมื่อมีการเติมกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนให้เชื้อรา และระหว่าง Secondary metabolism ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการจำกัดปริมาณไนโตรเจน และพบว่าเมื่อมีการเติม Veratryl alcohol และเติมออกซิเจน ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูตาเมตเป็นแหล่งไนโตรเจนให้เชื้อ สามารถลดสีได้ 74 % และยังสามารถลดค่าซีไอได้ 80 %

Capalash และ Sharma<sup>35</sup> (1992) ทำการทดลองใช้เชื้อรา *P. chrysosporium* ในการย่อยสลายทางชีวภาพของ Textile azo-dyes โดยสังเกตจากการลดลงของสี โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วันแล้วเติมสีย้อมลงไป พบว่าสามารถย่อยสลายสีย้อมผ้าประเภท diazo และ Reactofix gold yellow ได้ 40 และ 73 % ตามลำดับ ในเวลา 72 ชั่วโมง

Presnell และคณะ<sup>36</sup> (1992) ศึกษาการลดคลอรีนและการลดความเป็นพิษของน้ำเสียจากการฟอกเยื่อโดยใช้เชื้อ *P. chrysosporium* ภายใต้ภาวะที่มีการกวน โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจากสปอร์ของเชื้อเป็นเวลา 4 วันในอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อที่มีการผสมน้ำทิ้งจากการฟอกเยื่อด้วยปรับพีเอช เป็น 4.5 ที่อุณหภูมิ 37 °ซ เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เมื่อครบ 4 วันแล้วเติมอาหารสำหรับเหี่ยวนำไปให้เชื้อสร้างเอนไซม์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารพิษต่างๆ ไปปรับพีเอชเป็น 4.5 ที่อุณหภูมิ 32 °ซ เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที โดยมีการเติมออกซิเจนด้วย พบว่าการลดสีสามารถเกิดขึ้นได้ภายใน 2 วันหลังจากเติมอาหารสำหรับเหี่ยวนำไปให้เชื้อหลังเอนไซม์ลงไป ซึ่งเวลาในการทำปฏิกิริยาการลดคลอรีนและการลดความเป็นพิษของน้ำทิ้งนี้คือ 2-3 วัน

Ruckenstein และ Wang<sup>37</sup> (1994) ศึกษาการย่อยสลายสาร 2-คลอโรฟีนอลโดยใช้เทคนิคการตรึงเซลล์ *P. chrysosporium* บนสารพาหะพอลิสไตรีน-ไดไวนิลเบนซีนที่มีรูพรุน พบว่า

การตรึงเซลล์โดยใช้สารแขวนลอยของสปอร์ของเชื้อจะให้ผลที่ดีกว่าการใช้เชื้อที่เลี้ยงไว้ 1 วันซึ่งจะอยู่ในรูปเฟลเลต และมีการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการย่อยสลายสาร 2-คลอโรฟีนอล โดยการใช้เซลล์ตรึงของเชื้อกับเซลล์อิสระที่แขวนลอยเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพในปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 2 ลิตร จากการศึกษาพบว่าการใช้สารแขวนลอยของสปอร์ของเชื้อตรึงบนพอลิสไตรีน – ไดไวนิลเบนซีนที่มีรูพรุนจะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสาร 2 – คลอโรฟีนอลได้ดีกว่าการใช้สารแขวนลอยของเซลล์อิสระเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ

Fahy และคณะ<sup>38</sup> (1997) ศึกษาการลดสีของ Molasses spent wash (MSW) โดยใช้เชื้อรา *P. chrysosporium* ในระดับขวดเขย่าโดยใช้วิธีการตรึงเซลล์แบบกักขังในแคลเซียมอัลจิเนต ในอัตราส่วนเซลล์ 0.45 กรัม (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ต่อลิตรของสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ที่มีความเข้มข้น 2 % (w/v) พบว่า สามารถลดสีของ MSW 6.25% (v/v) ลงได้ 85% เมื่อทำการบ่มเชื้อใน MSW ที่มีกลูโคส 25 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37°C เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 วัน และพบว่าการใช้เซลล์ตรึงในแคลเซียมอัลจิเนต สามารถลดสีของ MSW ได้เร็วกว่าการใช้เซลล์อิสระ

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 น้ำเสียที่ใช้ในการวิจัย

น้ำเสียที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทอุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด จังหวัด กาญจนบุรี โดยเก็บตัวอย่างน้ำ 2 จุด คือ น้ำเสียที่ปล่อยออกจากกระบวนการฟอกเยื่อ และน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วเตรียมปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ โดยการทดลองแบ่งเป็น 2 ขั้นตอนหลัก คือการทดลองในระดับขวดเขย่า และการทดลองขยายขนาดในเครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิดไดซ์เบด ในส่วนของการทดลองระดับขวดเขย่าได้ทดลองเพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดสีน้ำเสีย หาเปอร์เซ็นต์การลดลงของสี และหาเอนไซม์แอกติวิตี ซึ่งแสดงความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ สำหรับการทดลองในระดับขยายขนาดในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไดซ์เบด ทดลองเพื่อดูความสามารถในการลดสีของเชื้อราว่าสามารถลดสีได้มากน้อยเพียงใด และสามารถใช้งานได้นานเท่าไรต่อการผลิต 1 ครั้ง จากนั้นศึกษาจลนพลศาสตร์ของการลดสี

การศึกษาในระดับขวดเขย่า ทดลองที่ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เก็บตัวอย่างน้ำเสียจากบริษัทอุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด นำมาเก็บในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การศึกษาในระดับขยายขนาดในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไดซ์เบด ติดตั้งเครื่องมือที่แผนกควบคุมสิ่งแวดล้อม บริษัทอุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด เก็บน้ำตัวอย่างจากกระบวนการฟอกเยื่อทุกวันในช่วงเย็น ปล่อยให้ทิ้งไว้ให้เย็น 1 คืน แล้วทดลองในวันรุ่งขึ้น

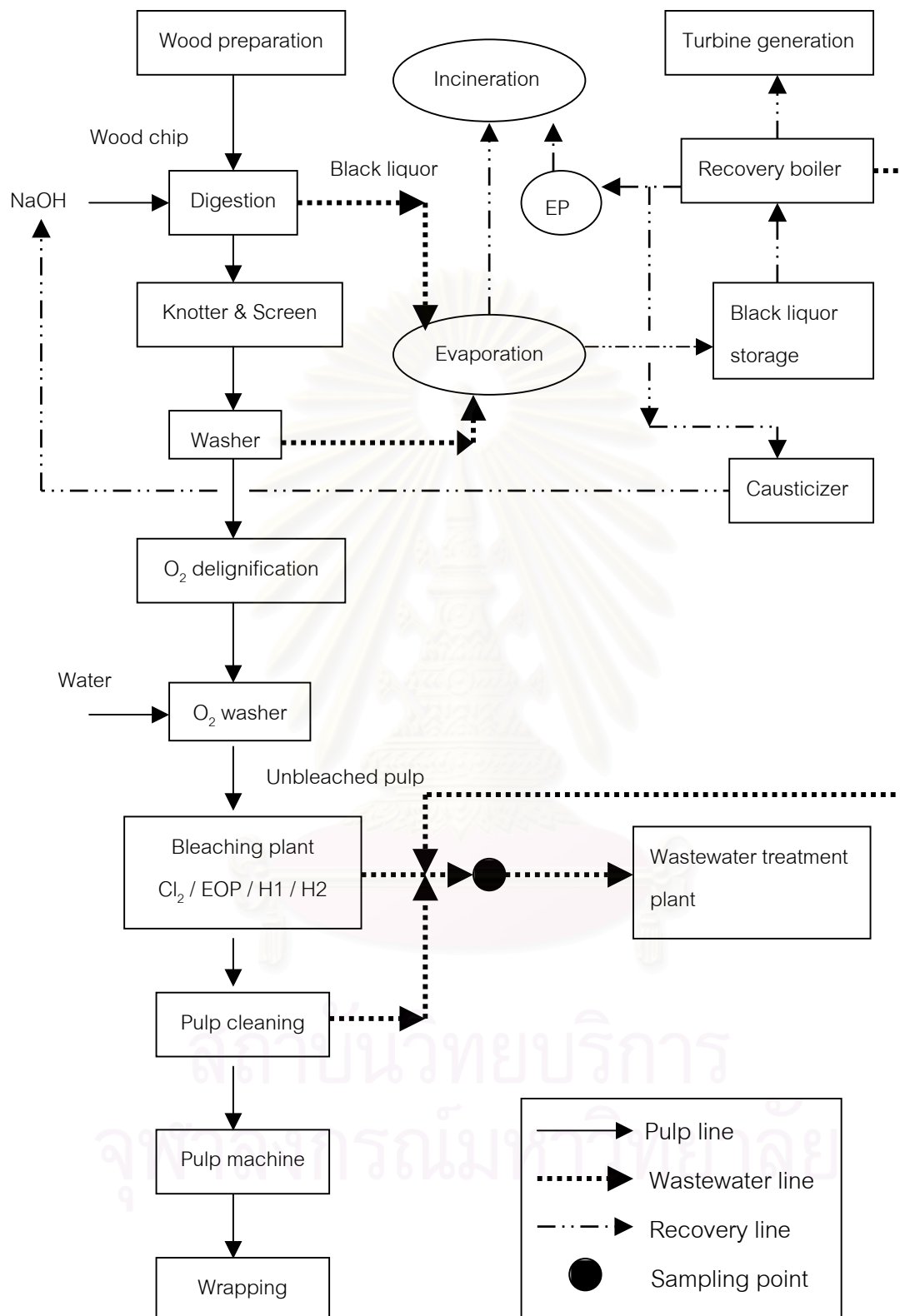
น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองทั้ง 2 ตอน จะนำมากรองเยื่อที่ติดมากับน้ำออกก่อนเพื่อป้องกันไม่ให้เครื่องมืออุดตัน และปรับค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ให้เท่ากับ 4.5 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium*

จุดที่เก็บตัวอย่างน้ำแสดงในรูป 3.1

#### 3.2 เชื้อรา และการเก็บรักษา

เชื้อราที่ใช้ในการทดลองเป็นเชื้อราในกลุ่ม เส้นใยสีขาว (White rot fungi) ชื่อ *Phanerochaete chrysosporium* อยู่ในดิวิชัน ยูไมโคไฟตา (Division Eumycophyta) ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูป 3.1 จุดเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตเยื่อกระดาษของ บริษัทอุตสาหกรรมกระดาษกราฟที่ไทย จำกัด

การเก็บรักษาเชื้อรา เริ่มจากการถ่ายเชื้อลงในอาหารแข็งลาดเอียงสูตร Potato dextrose agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เมื่อเชื้อเจริญเติบโตเต็มที่แล้วนำไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

### 3.3 วิธีการทำเม็ดเซลล์ตรึง (Cell Immobilization)

การทดลองนี้ดำเนินการตามงานวิจัยของ นางสาวจตุรรัตน์ จิ่งสุวัฒนานนท์<sup>2</sup> ซึ่งอัตราส่วนของเชื้อราต่ออัลจิเนตที่เหมาะสม คือ เชื้อรา 60 กรัม น้ำหนักเปียก ต่อสารละลายไฮเดียมอัลจิเนต 1000 มิลลิลิตร บ่มรวมกันและหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เพื่อแลกเปลี่ยนไอออนให้เกิดเป็นเจลของแคลเซียมอัลจิเนต โดยการทำเม็ดเซลล์ตรึงนี้จะต้องทำในบรรยากาศที่ปลอดเชื้อโรค เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เป็นการยืดอายุการใช้งานเม็ดเซลล์ตรึง

การนำเม็ดเซลล์ตรึงมาใช้งานในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบดจะต้องใส่อาหารเหนียวสำหรับการสร้างเอนไซม์ด้วย เพราะเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* จะสร้างเอนไซม์เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ดังนั้น จะต้องให้อาหารให้กับเชื้ออย่างเพียงพอเชื้อจะได้เจริญเติบโตทดแทนส่วนที่ตายไปและผลิตเอนไซม์ได้อย่างต่อเนื่อง

### 3.4 วิธีการทดลองในระดับขวดเขย่า

ทดลองในขวดเออร์เลนเมเยอร์ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้น้ำเสียในการทดลองขวดละ 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าในเครื่องเขย่า แทนการเติมอากาศ เมื่อจะทดลองให้เติมน้ำเสียที่ผ่านการกรองแล้วใส่ลงไป 50 มิลลิลิตร

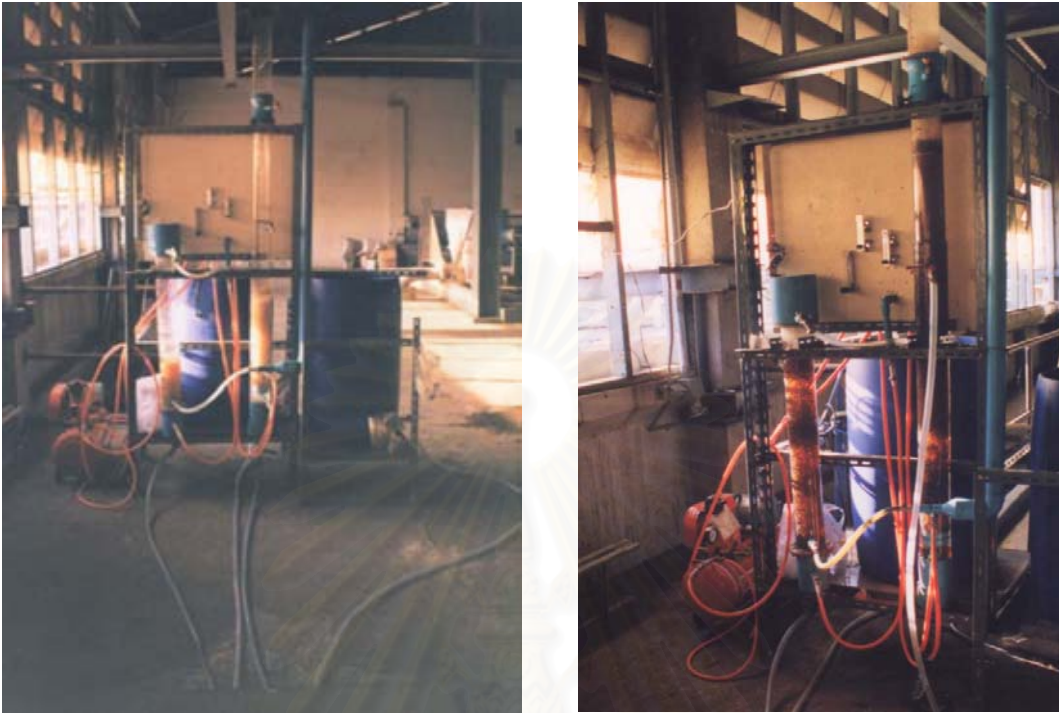
### 3.5 วิธีการทดลองในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม

เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด ทำจากพลาสติกใสทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร สูง 1 เมตร ผ่านอากาศเข้าทางด้านล่างของแผ่นกระจายอากาศ น้ำเสียเข้าทางด้านบนของแผ่นกระจายอากาศ ควบคุมอัตราการไหลของน้ำเสียและอากาศด้วย Rotameter น้ำเสียจะถูกปั๊มเข้าคอลัมน์แรกก่อนจากนั้นจะล้นไปสู่คอลัมน์ที่สอง

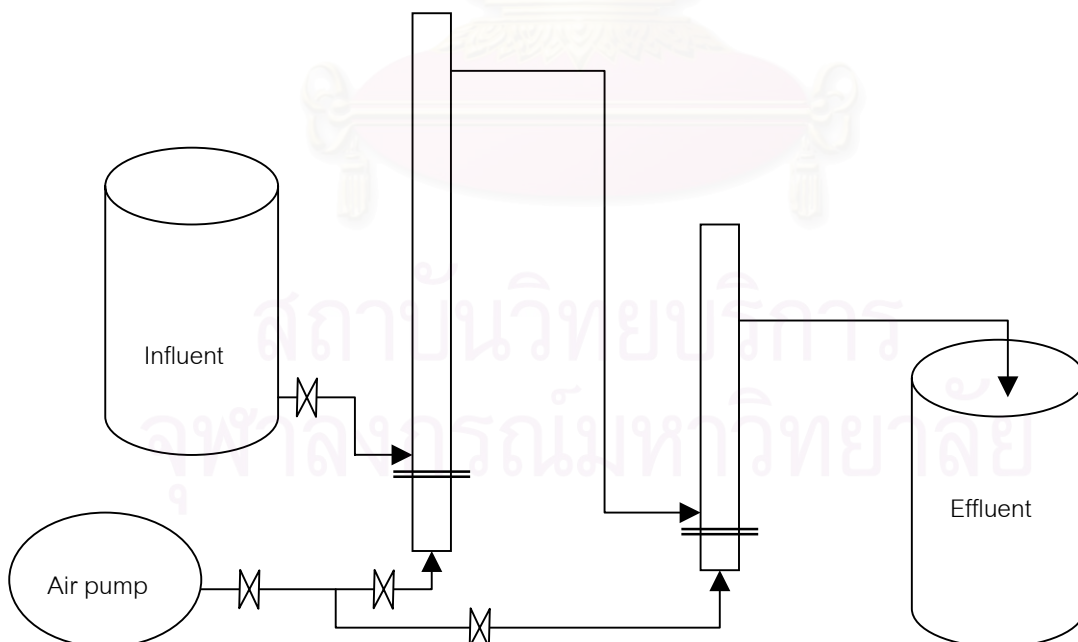
เม็ดเซลล์ตรึงที่ใส่ในคอลัมน์จะมีอัตราส่วนเป็น 1 : 16 ของปริมาตรคอลัมน์ และใส่สารเหนียวสำหรับการสร้างเอนไซม์ 2 ลิตร เป่าอากาศทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้เชื้อราสร้างเอนไซม์

อัตราการไหลของน้ำเสีย 0.030 ลบ.ม./ชั่วโมง คิดเป็นเวลาให้น้ำเสียอยู่ในคอลัมน์ (Retention time) 15 นาที

อัตราการไหลของอากาศ 0.075 ลบ.ม./ชั่วโมง



รูป 3.2 เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไต์สเบต 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม



รูป 3.3 แผนผังการทำงานของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไต์สเบต 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม

### 3.6 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. น้ำตาลกลูโคส (D (+) - Glucose anhydrous) ของบริษัท Fluka
2. โฟสเฟตโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ของบริษัท BDH Laboratory
3. แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ของบริษัท Carlo Erba
4. แคลเซียมคลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2$ ) ของบริษัท E. Merck
5. แอมโมเนียมคลอไรด์ ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) ของบริษัท Fluka
6. ไทเอมีน (Thiamine, Vitamin B<sub>1</sub> hydrochloride) ของบริษัท Fluka
7. PDA (Potato dextrose agar) ของบริษัท Difco Laboratory
8. PDB (Potato dextrose broth) ของบริษัท Difco Laboratory
9. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (HCl acid) ของบริษัท E. Merck
10. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ของบริษัท Ajax chemical
11. โซเดียมอัลจีเนต (Alginate sodium salt from brown algae) ของบริษัท Fluka
12. ทวิน 80 (Tween 80) ของบริษัท Fluka
13. น้ำกลั่นที่ใช้ในการทดลอง เป็นน้ำกลั่นที่ผ่านกระบวนการกลั่น 1 ครั้ง

### 3.7 อุปกรณ์และครุภัณฑ์

1. เครื่องเขย่าแบบธรรมดา ศูนย์เครื่องมือคอมพิวเตอร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. หม้อนิ่งความดันไอน้ำ ของบริษัท Ta Chang Medical Instrument Factory Taiching Taiwan R.O.C
3. เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบปรับความเย็น Servall refrigerated-automatic ของ บริษัท Ivan Servall, INC. Norwalk, Connecticut U.S.A
4. ตู้เขี่ยเชื้อแบบมี UV
5. เครื่องชั่งละเอียด รุ่น U-4600P ของบริษัท Scientific Promotion Co.,Ltd.
6. pH meter model 40 YA Orion Research Incorporated Edison N.J. U.S.A.
7. Spectrophotometer model – 3v15068003 ของบริษัท Milton Roy Company
8. Peristaltic pump
9. ปัมพ์จุ่ม (submersible pump) model : FPT-99 บริษัท FUJIWA กำลัง 120 วัตต์
10. ปัมพ์จุ่ม (submersible pump) model : FPT-98 บริษัท FUJIWA กำลัง 150 วัตต์
11. เครื่องอัดอากาศ ( Air compressor) ขนาด 0.5 แรงม้า

### 3.8 วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาในช่วงแรก (3.8.1 – 3.8.4) เป็นการทดลองเพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับผลการทดลองที่นำเสนอมาก่อนหน้านี้ เมื่อได้ค่าที่เหมือนหรือใกล้เคียงกัน จะเริ่มการทดลองในส่วนของการลดสีน้ำเสียในคอลัมน์ 2 อันที่ต่อกันแบบอนุกรม

#### 3.8.1 ศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium*

##### 3.8.1.1 การเตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อรา ( Cell suspension)

เลี้ยงเชื้อราบนอาหารแข็งลาดเอียง (Potato dextrose agar slant) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน เมื่อเชื้อราเจริญเติบโตแล้วนำมาทำเซลล์แขวนลอยด้วยการเติม tween 80 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตรหลอดละ 5.0 มิลลิลิตร นับจำนวนสปอร์ของเชื้อราในเซลล์แขวนลอยให้มีค่า  $1.5 \times 10^7$  สปอร์ / มิลลิลิตรของเซลล์แขวนลอย โดยใช้ Haemocytometer

##### 3.8.1.2 ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อราในอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose broth

ปิเปตเซลล์แขวนลอยของเชื้อราซึ่งเตรียมได้ในข้อ 3.8.1.1 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตรลงในอาหารสำหรับการเจริญเติบโต Potato dextrose broth (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 99 มิลลิลิตร ในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ปรับพีเอชให้เท่ากับ 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ หรือ สารละลายไฮเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างทุกวันเป็นเวลา 10 วัน ทำการแยกเส้นใยของเชื้อราออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแยก ใช้ความเร็ว 3,000 รอบ / นาที เป็นเวลา 15 นาที ล้างเซลล์ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีพีเอชเท่ากับ 7.0 ล้าง 3 ครั้ง ติดตามลักษณะการเจริญโดยการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) ด้วยการนำเซลล์ที่ผ่านการล้างแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ในตู้อบ นำค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างและน้ำหนักเซลล์แห้งจะได้กราฟการเจริญของเชื้อรา



### 3.8.2 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ

ในการทดลองในระดับขวดเขย่า จะเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากกระบวนการผลิตเยื่อกระดาษจากบ่อรวบรวมน้ำเสียก่อนเข้าระบบบำบัด ในการเก็บน้ำเสียนี้จะทำการเก็บในปริมาณมาก แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันไม่ให้คุณภาพของน้ำเสียมีการเปลี่ยนแปลง ก่อนนำมาใช้ในการทดลองต้องนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เป็นอุณหภูมิห้อง และเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อน และทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งก่อนทำการทดลอง ตัวแปรที่ใช้ในการศึกษาและวิธีการวิเคราะห์ แสดงดังตาราง 3.1

ตาราง 3.1 วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งก่อนทำการทดลอง

Parameter	Measurement Method
COD	Close reflux method (APHA, AWWA, and WEF.,18 <sup>th</sup> ed.1992)
BOD <sub>5</sub>	Standard method (APHA, AWWA, and WEF.,18 <sup>th</sup> ed.1992)
TSS	Standard method (APHA, AWWA, and WEF.,18 <sup>th</sup> ed.1992)
TDS	Standard method (APHA, AWWA, and WEF.,18 <sup>th</sup> ed.1992)
pH	pH meter
Color	Spectrophotometer (NCASI Standard, 1971)

### 3.8.3 ศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *P.chrysosporium* ในการลดสีของน้ำเสีย ในระดับขวดเขย่า

ทราบอัตราส่วนของเซลล์เชื้อราต่อแคลเซียมอัลจิเนตที่เหมาะสมในการตรึงเซลล์เพื่อใช้ในการลดสีของน้ำเสียจากการทดลองต่อเนื่องของนางสาวจุลวรรณ จิ่งสุวัฒนานนท์ นำเม็ดเซลล์ตรึงที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารสำหรับการสร้างเอนไซม์ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ก) ปรับพีเอชให้เท่ากับ 4.5 บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่า ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน เมื่อครบ 4 วัน เติมน้ำเสียปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงไป ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำตัวอย่างน้ำมาแยกเอาเม็ดเซลล์ตรึงออกและนำน้ำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของสี (ภาคผนวก ข) ทุก 15 นาที เป็นเวลา 105 นาที



### 3.8.4 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการลดสีของน้ำเสียโดยใช้เซลล์ตรึง *P.chrysosporium* ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไธซ์เบด

เมื่อได้อัตราส่วนของเซลล์เชื้อราและเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อราในการลดสีของน้ำเสียในการทดลองระดับขวดเขย่าแล้ว จากนั้นทำการทดลองในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไธซ์เบด โดยนำเม็ดเซลล์ตรึง ปริมาตร 0.5 ลิตร มาเลี้ยงในอาหารสำหรับการสร้างเอนไซม์ปริมาตร 2 ลิตร (ภาคผนวก ก) ปรับพีเอชเท่ากับ 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ทำการบ่มเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์ นาน 1 คืน โดยมีการเติมอากาศเข้าในเครื่องปฏิกรณ์และเติมสารอาหารสำหรับเหนียวน้ำให้เชื้อราสร้างเอนไซม์ในน้ำเสียที่อยู่ในถังเก็บน้ำเสียก่อนเข้าคอลัมน์ด้วย จากนั้นจึงปัมน้ำเสียเข้าคอลัมน์ที่อัตราการไหล 0.030 ลบ.ม./ชั่วโมง ซึ่งควบคุมอัตราการไหลของน้ำเสียด้วยการปรับวาล์วของท่อสูบน้ำจากถังเก็บน้ำเสีย โดยดูอัตราการไหลของน้ำเข้าคอลัมน์จากมาตรวัดอัตราการไหลแบบลูกกลอย (Rotameter) อัตราการเติมอากาศเข้าคอลัมน์ 0.075 ลบ.ม./ชั่วโมง เก็บตัวอย่างน้ำจากจุดเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสี (ภาคผนวก ข), ค่าบีโอดี(ภาคผนวก ค) และค่าซีโอดี (ภาคผนวก ค)

การทดลองต่อไปนี้จะเริ่มทดลองตามสมมติฐาน ที่ตั้งไว้ว่า ถ้านำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเชื้อรามา 1 ครั้งแล้วมาบำบัดต่อด้วยเชื้อรา ในคอลัมน์ที่ 2 เปอร์เซ็นต์ของสีที่ลดลงน่าจะเพิ่มมากขึ้นกว่าการใช้ 1 คอลัมน์ บำบัดเป็นเวลานาน

### 3.8.5 ศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *P.chrysosporium* ในการลดสีของน้ำเสีย ในระดับขวดเขย่าเมื่อจำลองแบบ 2 คอลัมน์

นำเม็ดเซลล์ตรึงที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารสำหรับการสร้างเอนไซม์ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ก) เตรียม 48 ขวด ปรับพีเอชให้เท่ากับ 4.5 บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่า ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน เมื่อครบ 4 วัน เติมน้ำเสียปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงไปนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่า เก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์สีเมื่อเขย่าครบ 5 นาที จากนั้นเทน้ำเสียที่เหลือในเออร์เลนเมเยอร์ขวดที่ 1 ใส่ในขวดที่ 2 เขย่าต่ออีก 5 นาที เก็บตัวอย่างน้ำไปวิเคราะห์สี ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ทำซ้ำกับเม็ดเซลล์ตรึงที่เหลือ แต่เปลี่ยนเวลาในการเขย่า เป็น 10 15 20 25 30 35 และ 40 นาที ตามลำดับ

เมื่อครบแล้วให้เปลี่ยนน้ำเสียที่ทดลองจากเดิมใช้น้ำทิ้งจากโรงฟอกเยื่อ เป็นน้ำที่ผ่านกระบวนการบำบัดแล้ว เตรียมปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ทดลองตามหัวข้อ 3.8.4 ทุกประการ

### 3.8.6 ศึกษาระยะเวลาที่เม็ดเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้ ในระดับขวดเขย่า

นำเม็ดเซลล์ตรึงที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารสำหรับการสร้างเอนไซม์ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ก) ปรับพีเอชให้เท่ากับ 4.5 บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่า ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน เมื่อครบ 4 วัน เติมน้ำเสียปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงไปตอนเช้า นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่า ควบคุมเวลาการเขย่า 8 ชั่วโมงต่อวัน ตอนเย็นเก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อวัดสี น้ำเสียที่เหลือทิ้ง จากนั้นเติมอาหารเหนียวสำหรับการสร้างเอนไซม์ 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าทิ้งไว้ข้ามคืน ตอนเช้าจึงมาเติมน้ำเสียแล้วเขย่าทิ้งไว้ ทำอย่างนี้จนกระทั่งครบ 30 วัน

### 3.8.7 ศึกษาการลดสีน้ำเสียในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม

เมื่อได้อัตราส่วนของเซลล์เชื้อราและเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อราในการลดสีของน้ำเสียในการทดลองระดับขวดเขย่าแล้ว จากนั้นทำการทดลองในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไคซ์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม โดยนำเม็ดเซลล์ตรึงปริมาตรคอลัมน์ละ 0.5 ลิตร มาเลี้ยงในอาหารสำหรับการสร้างเอนไซม์ปริมาตร 2 ลิตร (ภาคผนวก ก) ปรับพีเอชเท่ากับ 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ทำการบ่มเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์ นาน 1 คืน โดยมีการเติมอากาศเข้าในเครื่องปฏิกรณ์และเติมสารอาหารสำหรับเหนียวนำไปให้เชื้อราสร้างเอนไซม์ลงในน้ำเสียที่อยู่ในถังเก็บน้ำเสียก่อนเข้าคอลัมน์ด้วย จากนั้นจึงปั้มน้ำเสียเข้าคอลัมน์ที่อัตราการไหล 0.030 ลบ.ม./ชั่วโมง ซึ่งควบคุมอัตราการไหลของน้ำเสียด้วยการปรับวาล์วของท่อสูบน้ำจากถังเก็บน้ำเสีย โดยดูอัตราการไหลของน้ำเข้าคอลัมน์จากมาตรวัดอัตราการไหลแบบลูกกลอย (Rotameter) อัตราการเติมอากาศเข้าคอลัมน์ 0.075 ลบ.ม./ชั่วโมง เก็บตัวอย่างน้ำจากจุดเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่าความเข้มของสี (ภาคผนวก ข), ค่าบีโอดี (ภาคผนวก ค) และค่าซีโอดี (ภาคผนวก ค)

### 3.8.8 ศึกษาระยะเวลาที่เม็ดเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้ ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม

นำเม็ดเซลล์ตรึงปริมาตรคอลัมน์ละ 0.5 ลิตร มาเลี้ยงในอาหารสำหรับการสร้างเอนไซม์ปริมาตร 2 ลิตร (ภาคผนวก ก) ปรับพีเอชเท่ากับ 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ทำการบ่มเชื้อในเครื่องปฏิกรณ์ นาน 1 คืน โดยมีการเติมอากาศเข้าในเครื่องปฏิกรณ์และเติมสารอาหารสำหรับเหนียวนำไปให้เชื้อราสร้างเอนไซม์ลงในน้ำเสียที่อยู่ในถังเก็บน้ำเสียก่อนเข้าคอลัมน์ด้วย จากนั้นจึงปั้มน้ำเสียเข้าคอลัมน์ที่อัตราการไหล 0.030 ลบ.ม./ชั่วโมง ซึ่งควบคุมอัตราการไหลของน้ำเสียด้วย

การปรับวาล์วของท่อสูบน้ำจากถังเก็บน้ำเสีย โดยดูอัตราการไหลของน้ำเข้าคอลัมน์จากมาตรวัดอัตราการไหลแบบลูกกลอย (Rotameter) อัตราการเติมอากาศเข้าคอลัมน์ 0.075 ลบ.ม./ชั่วโมง เก็บตัวอย่างน้ำจากจุดเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสี (ภาคผนวก ข), ค่าบีโอดี(ภาคผนวก ค) และค่าซีโอดี (ภาคผนวก ค) ทดลองจนครบ 30 วัน

### 3.8.9 ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการลดสีของน้ำเสียด้วยเชื้อรา *P.chrysosporium* ในระดับห้องทดลอง

เตรียมเม็ดเซลล์ตรึง แล้วนำไปเขย่าในเครื่องเขย่า พร้อมทั้งใส่อาหารสำหรับเห็ดยวนำการสร้างเอนไซม์ นำสารละลายที่อยู่ในขวดเออร์เลนเมเยอร์มาหาค่าเอนไซม์แอกติวิตี้ โดยวัดการดูดกลืนแสงเมื่อทำปฏิกิริยากับเวอรัราทริลแอลกอฮอล์

### 3.8.10 ศึกษาการลดสีน้ำเสียในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด 3 เครื่องที่ออกแบบอนุกรม

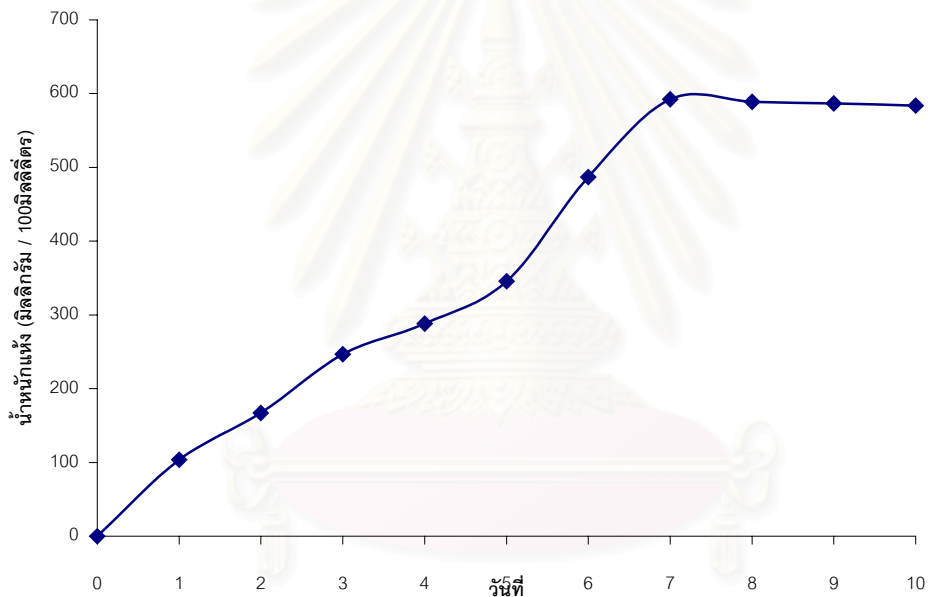
ต่อคอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 100 มิลลิเมตร สูง 1 เมตร เพิ่มอีก 1 คอลัมน์ ทดลองตามผลการวิจัยที่ได้ศึกษาการลดลงของสีทั้ง 3 คอลัมน์ และศึกษาตัวแปร อัตราการไหลของน้ำเสียว่ามีผลต่อการลดสีอย่างไร

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 4.1 ผลการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium*

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* ในอาหารเลี้ยงเชื้อรา Potato Dextrose Broth (PDB) แล้วนำข้อมูลน้ำหนักแห้งของเส้นใยที่ได้ในแต่ละวันมาเขียนกราฟแสดงการเจริญเติบโต ได้กราฟดังรูป 4.1 จากการทดลองพบว่าวันที่ 5 ถึงวันที่ 7 เป็นช่วงที่เส้นใยเชื้อรามีการเจริญเติบโตเร็วที่สุด เหมาะสมที่จะนำมาตรึงเซลล์



รูป 4.1 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* ในอาหารเหลว Potato Dextrose Broth (PDB)

ในวันที่ 7 จะให้น้ำหนักเส้นใยของเชื้อรามากที่สุด หลังจากนั้นน้ำหนักแห้งเริ่มคงที่ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในวันที่ 7 เริ่มเข้าสู่ Stationary phase กราฟที่ได้จะเห็นว่าเป็นรูปแบบ S-curve คือมีช่วงที่เป็น lag phase log phase และ stationary phase

## 4.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ

น้ำทิ้งจากบริษัทอุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด แบ่งได้ 2 ส่วน คือน้ำทิ้งที่มาจากกระบวนการผลิตเยื่อ และน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตกระดาษ น้ำทิ้งส่วนที่ศึกษาจากโรงเยื่อ เก็บตัวอย่างน้ำและวิเคราะห์คุณภาพน้ำควบคู่กันไปทุกวัน ตาราง 4.1 แสดงคุณสมบัติและอัตราการไหลเฉลี่ยของน้ำเสียจากโรงงานเยื่อกระดาษ บริษัทอุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด

ตาราง 4.1 คุณภาพน้ำเสียจากกระบวนการผลิตเยื่อ เฉลี่ยระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2544 ถึง กุมภาพันธ์ 2545 บริษัทอุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด

### ข้อมูลน้ำเสียจากโรงเยื่อ SCL

เดือน	เดือน: พฤศจิกายน 2544		ถึง กุมภาพันธ์ 2545		BOD	เยื่อที่ได้	อัตราการไหล
	พีเอช	SS	DS	COD			
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	TON	m <sup>3</sup> /D
พฤศจิกายน	8.49	363	2,313	1,368	385	132.3	8,175
ธันวาคม	8.96	363	3,041	1,738	489	190.7	8,988
มกราคม	8.86	398	3,041	1,738	489	238.1	10,163
กุมภาพันธ์	8.73	371	2,788	1,625	450	234.6	10,407
เฉลี่ย	8.76	374	2,796	1,617	453	198.9	9,433
สูงสุด	8.96	398	3,041	1,738	489	238.1	10,407
ค่าเบี่ยงเบน	0.20	17	343	174	49	49.4	1,043

\*ข้อมูลจากแผนกจัดการสิ่งแวดล้อม บริษัทอุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด

จากตารางจะเห็นว่า คุณสมบัติต่างๆของน้ำเสียจะมีค่าไม่คงที่ มีความแตกต่างกันอย่างมากในแต่ละเดือน และเมื่อเทียบดูจากข้อมูลในภาคผนวก จ-2 ซึ่งแสดงข้อมูลเป็นรายวันในแต่ละเดือนจะเห็นว่าค่าที่วิเคราะห์ได้มีความหลากหลายมาก ดังนั้นจึงส่งผลให้การเสนอผลการทดลองต้องแสดงในรูปของเปอร์เซ็นต์ของคุณสมบัติต่างๆที่ลดลงจากคุณสมบัติเริ่มต้นในแต่ละวัน

#### 4.3 ผลการศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *P. chrysosporium* ในการลดสีของน้ำเสีย ในระดับขวดเขย่า

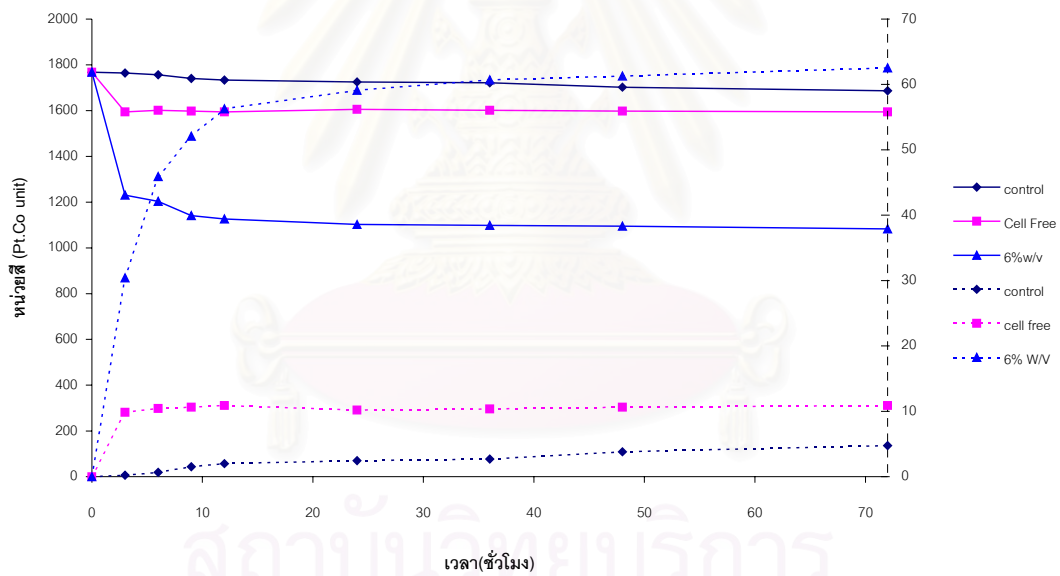
การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเพื่อลดสีน้ำเสียมีความจำเป็นเพราะ จะได้ใช้เป็นตัวกำหนดระยะเวลาที่น้ำเสียจะไหลผ่านคอลัมน์เพื่อให้สัมผัสกับเอนไซม์ที่อยู่ในเม็ดเจล และยังสามารถใช้ในการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพได้อีกด้วยว่า จะใช้แบบคอลัมน์สูง 1 คอลัมน์ หรือจะใช้คอลัมน์เล็กๆ หลายอันวางต่อกัน

ก่อนที่จะเริ่มการทดลองตามสมมติฐานที่ตั้งไว้ ได้ทดลองบำบัดน้ำเสียโดยศึกษาตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับการตรึงเซลล์โดยใช้อัลจิเนตที่ทำเป็นเม็ด เซลล์เชื้อราที่ไม่ได้กักขังไว้ในอัลจิเนต และ เซลล์ตรึงเชื้อราในอัลจิเนต ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าทุกการทดลองสีของน้ำเสียจะลดลง แต่เปอร์เซ็นต์ที่ลดลงไม่เท่ากัน จะเห็นว่าเม็ดอัลจิเนตที่ไม่ได้ตรึงเซลล์ไว้ในสามารถลดสีน้ำเสียได้ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเกิดจากกระบวนการ auto oxidation ในระหว่าง การเขย่าขวดในขณะที่ทดลอง สำหรับเชื้อราที่ไม่ได้ตรึงไว้ในอัลจิเนตสามารถลดสีได้ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าเชื้อราที่ตรึงไว้ในอัลจิเนตที่สามารถลดสีได้ 60 เปอร์เซ็นต์ เป็นเพราะว่า เชื้อราผลิตเอนไซม์ ลิกนินเปอร์ออกซิเดส เพื่อย่อยสลายโมเลกุลลิกนินแต่ขณะที่ย่อยสลาย เกิดสาร intermediate ซึ่งไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เมื่อพิจารณาเซลล์เชื้อราที่ไม่ได้ตรึงไว้ในอัลจิเนตก็จะพบว่าสาร intermediate ที่เกิดขึ้นสามารถเข้ายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ทันที ในขณะที่เซลล์ตรึงมีวุ้นอัลจิเนตป้องกันอยู่ชั้นหนึ่งก่อนที่จะถูกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ซึ่งใช้เวลาประมาณ 15 นาที ซึ่งหน่วยดีและเปอร์เซ็นต์สีที่ลดลงแสดงดังรูป 4.2

จากผลการทดลองในรูป 4.3 แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียคือ 15 นาที เพราะกราฟในช่วง 0 ถึง 15 นาทีมีความชันสูงมาก หลังจากผ่าน 15 นาทีแล้วกราฟจะค่อนข้างคงที่ สามารถลดสีได้ประมาณ 46-47 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ที่อยู่ในน้ำไม่

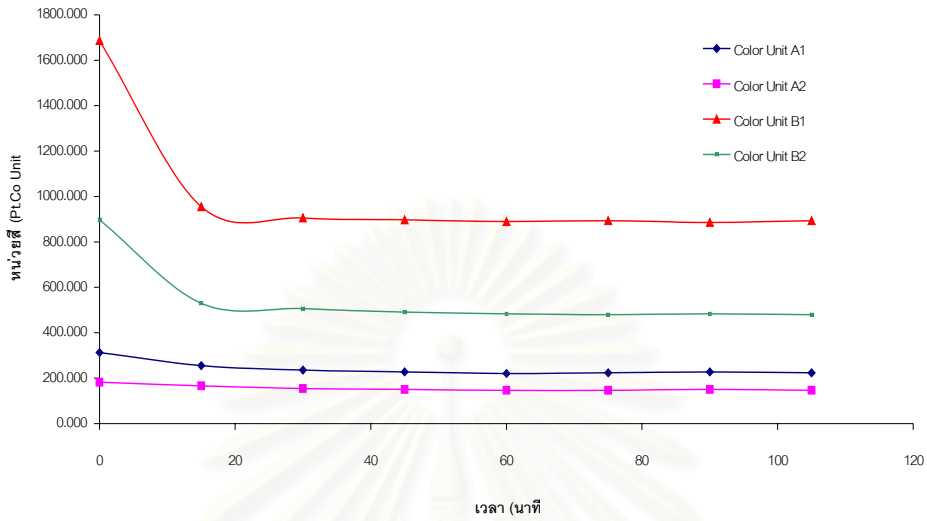


สามารถลดลงได้มากกว่านี้ ด้วยอัตราเร็วเท่ากับตอนเริ่มต้น ถ้ามองในระดับโมเลกุลสามารถอธิบายผลการทดลองได้ว่าในช่วงเริ่มต้น 0 ถึง 15 นาที โมเลกุลลิกนินที่มีอยู่ในน้ำเสียมีปริมาณมากโอกาสในการสัมผัสกับโมเลกุลเอนไซม์ก็มีมากด้วย แต่เมื่อเวลาผ่านไป โมเลกุลลิกนินลดลงเนื่องจากการย่อยสลายพันธะของลิกนินทำให้โอกาสที่โมเลกุลลิกนินจะพบกับโมเลกุลของเอนไซม์น้อยลง



รูป 4.2 เปรียบเทียบสีเมื่อทดลองด้วยเชื้อราที่ตรึงเซลล์และไม่ได้ตรึงเซลล์

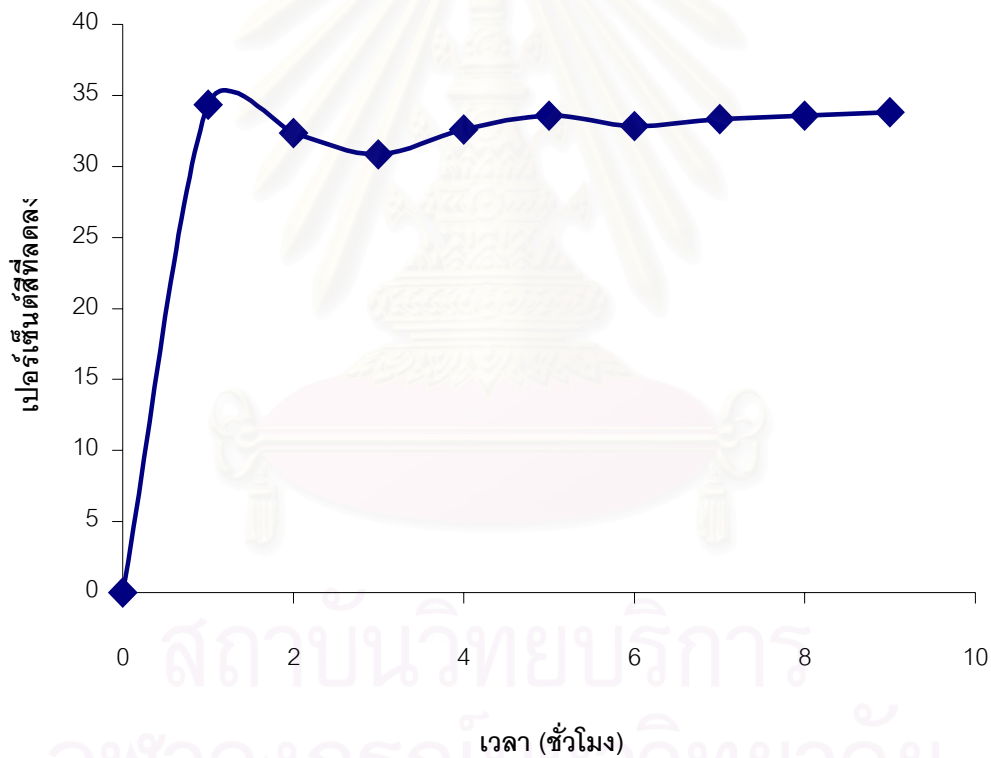
กราฟแสดงสีที่ลด



รูป 4.3 เวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* ในการลดสีของน้ำเสียในระดับขวดเขย่า

#### 4.4 ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการลดสีของน้ำเสียโดยใช้เซลล์ตรึง *P.chrysosporium* ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบฟลูอิดไคซ์เบด

จากการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* ในการลดสีของน้ำเสียในระดับขวดเขย่า พบว่าเวลาที่เหมาะสมคือ 15 นาที ดังนั้นเมื่อนำมาทดลองขยายขนาดในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบดจึงออกแบบการทดลองให้น้ำเสียอยู่ในคอลัมน์นาน 15 นาที จากการคำนวณขนาดคอลัมน์ที่มีความสูง 1 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ต้องป้อนน้ำเสียเข้าคอลัมน์ด้วยอัตราการไหล 0.030 ลบ.ม. ต่อชั่วโมง อัตราการไหลของอากาศ 0.075 ลบ.ม. ต่อชั่วโมง ผลการทดลองแสดงดังรูป 4.4



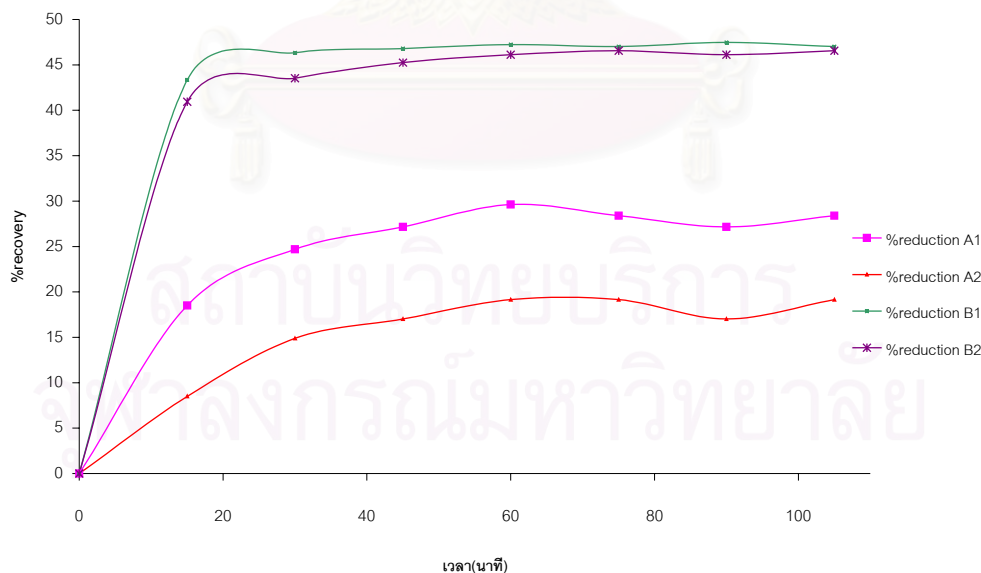
รูป 4.4 เวลาที่เหมาะสมในการลดสีของน้ำเสียโดยใช้เซลล์ตรึง *Phanerochaete chrysosporium* ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด

จากกราฟแสดงให้เห็นว่าเมื่อออกแบบการทดลองให้อัตราการไหลของน้ำเสียเท่ากับ 0.030 ลบ.ม. ต่อชั่วโมง โดยอัตราการไหลของอากาศเท่ากับ 0.075 ลบ.ม. ต่อชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การลดสีน้ำเสียจะอยู่ระหว่าง 30-35 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเปอร์เซ็นต์การลดสีน้อยกว่าการทดลองใน

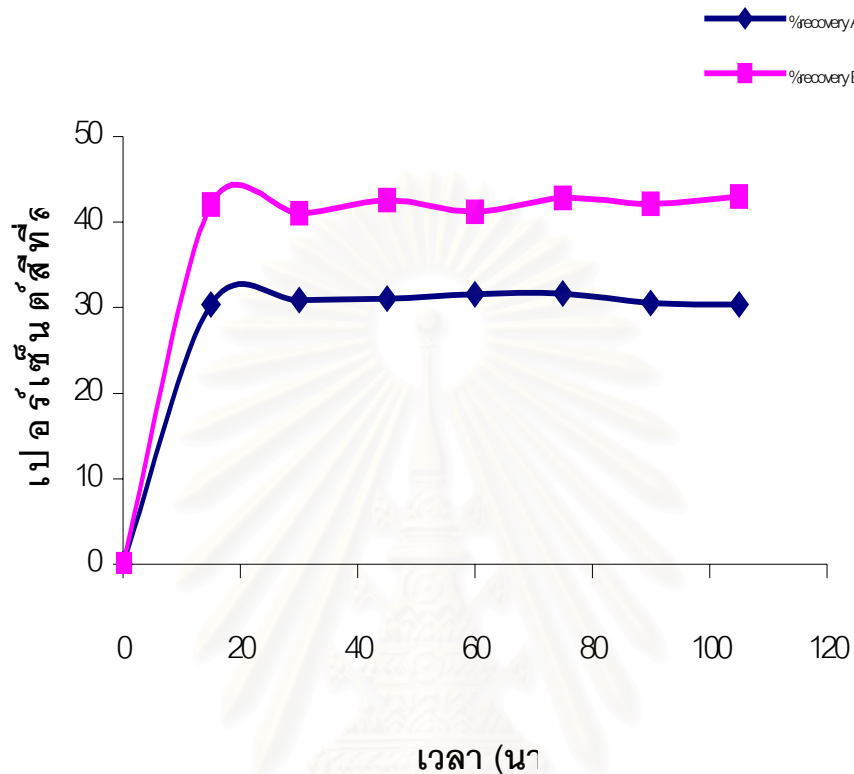
ระดับขวดเขย่า เนื่องจากในระดับขวดเขย่าเป็นการทดลองระบบปิด (Batch) แต่การทดลองในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไชน์เบด เป็นการทดลองแบบต่อเนื่องมีการผ่านน้ำเสียเข้าคอลัมน์ตลอดเวลา

#### 4.5 ผลการศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* ในการลดสีของน้ำเสีย ในระดับขวดเขย่าเมื่อจำลองแบบ 2 คอลัมน์

การศึกษาค้นหาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* ในการลดสีของน้ำเสีย ในระดับขวดเขย่าเมื่อจำลองแบบ 2 คอลัมน์ ในการทดลองนี้ใช้น้ำเสียจาก 2 จุด จุดที่ 1 มาจากน้ำเสียที่บำบัดแล้วและเตรียมปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ (A) จุดที่ 2 เป็นน้ำเสียจากโรงเยื่อกระดาษที่ยังไม่ผ่านการบำบัด (B) ที่ศึกษาน้ำทั้ง 2 แหล่งนี้เป็นเพราะต้องการทราบความเป็นไปได้ที่จะติดตั้งเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไชน์เบด ว่าสามารถติดตั้งที่จุดสุดท้ายก่อนปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้หรือไม่ เพราะน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วยังคงมีลิกนินเหลืออยู่เป็นจำนวนมากซึ่งส่งผลให้น้ำทิ้งที่ปล่อยออกไปมีสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ถ้าสามารถติดตั้งชุดทดลองนี้ไว้เป็นระบบสุดท้ายได้ ก็ไม่ต้องวางระบบใหม่เมื่อต้องการใช้เครื่องปฏิกรณ์ชนิดนี้ร่วมด้วยในการบำบัดน้ำเสีย ผลการทดลองแสดงดังรูป 4.5 และรูป 4.6



รูป 4.5 เปอร์เซนต์สีที่ลดลงในระดับขวดเขย่าเมื่อทดลองเลียนแบบ 2 คอลัมน์ กับน้ำเสีย 2 ชนิด

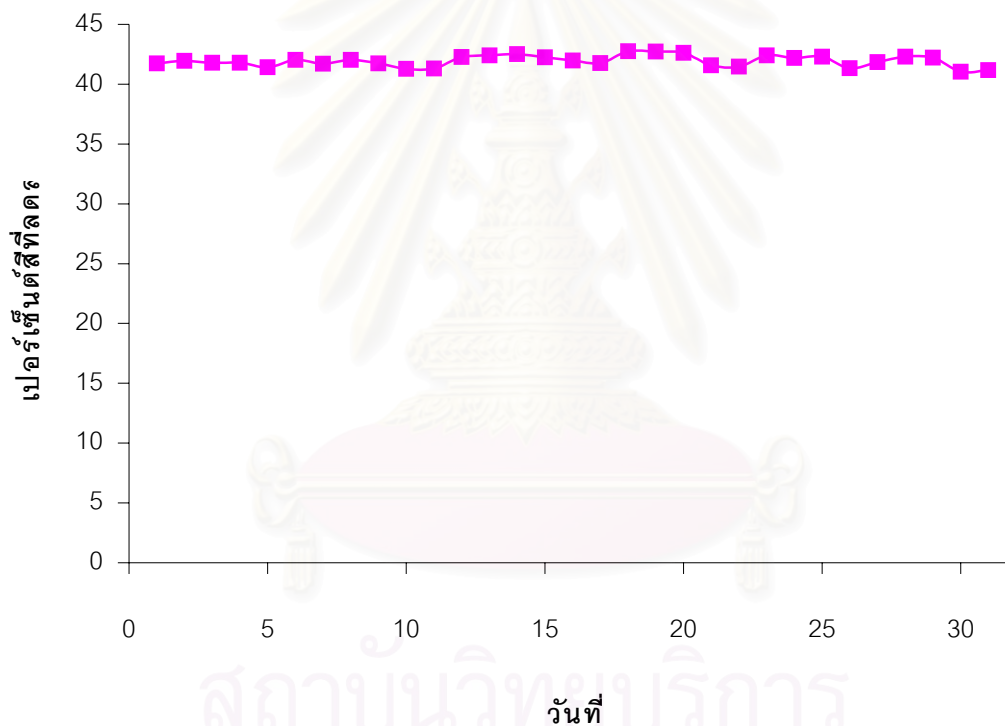


รูป 4.6 เวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* ในการลดสีของน้ำเสีย ในระดับขวดเขย่าเมื่อจำลองแบบ 2 คอลัมน์

จากผลการทดลองจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์ของสีที่ลดลงของน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้ว (A) จะต่ำกว่าน้ำที่ออกจากโรงเยื่อ (B) ซึ่งเท่ากับ 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อดูจากกราฟพบว่าน้ำทั้ง 2 จุดถูกลดสีลงได้มากที่สุดเมื่อเวลาผ่านไป 15 นาที หลังจากนั้นเปอร์เซ็นต์การลดสีจะคงที่ เป็นการยืนยันว่าเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการลดสีน้ำเสียด้วยเซลล์ตรึงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* คือ 15 นาที

#### 4.6 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เม็ดเซลล์ตรึงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* สามารถทำงานต่อเนื่องได้นานที่สุดในระดับขวดเขย่า

การทดลองในชุดศึกษาเพื่อดูว่าเม็ดเซลล์ตรึงที่ผลิตขึ้นจะสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพได้นานเท่าไร เพื่อใช้เป็นแนวทางในการคำนวณราคา เพราะถ้าเม็ดเซลล์ตรึงที่ผลิตได้นี้สามารถใช้งานได้เพียงแค่ครั้งหรือ 2 ครั้ง คงไม่มีความจำเป็นที่จะต้องนำเชื้อรามาตรึงในอัลจิเนต เราสามารถใช้เส้นใยเชื้อราใส่เข้าไปได้เลย

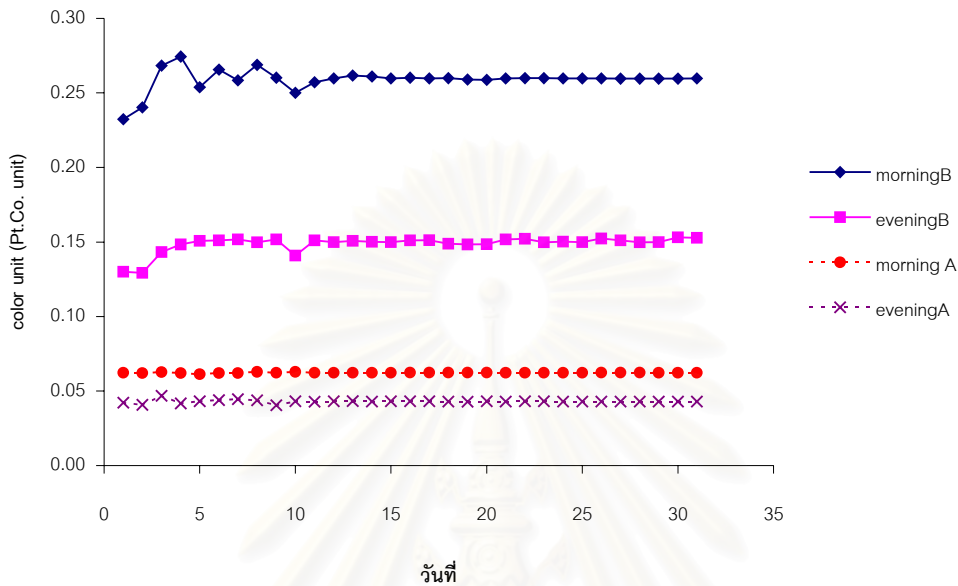


รูป 4.7 ศึกษาระยะเวลาที่เม็ดเซลล์ตรึงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* สามารถทำงานต่อเนื่องได้นานที่สุดในระดับขวดเขย่า

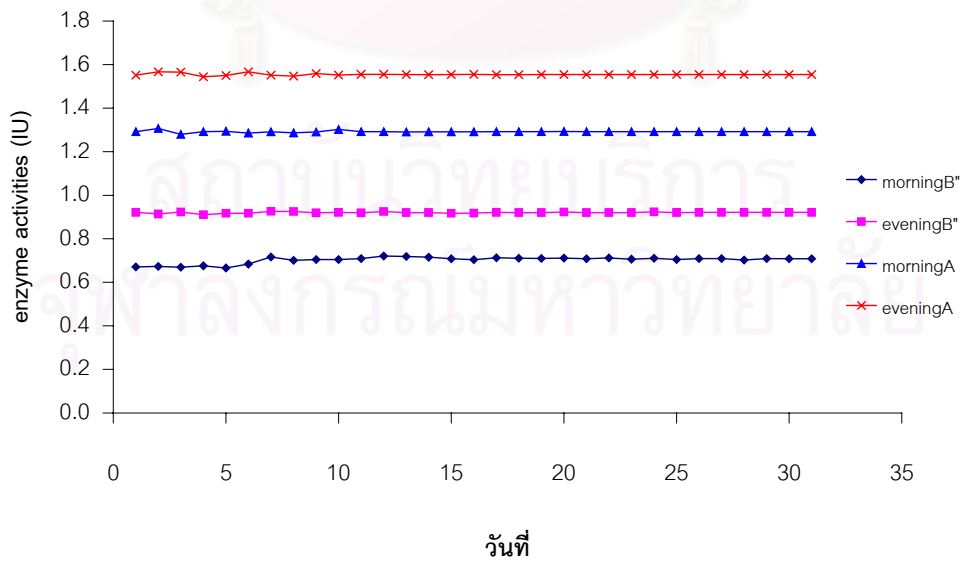
รูป 4.7 แสดงให้เห็นว่าเชื้อราที่ถูกตรึงอยู่ในอัลจิเนตสามารถลดสีของน้ำเสียได้อย่างดี โดยที่เปอร์เซ็นต์ของการลดสีไม่เปลี่ยนแปลงมาก ระยะเวลาที่นานที่สุดที่สามารถทำได้คือ 31 วัน โดยที่เม็ดเซลล์สามารถทำงานต่อได้แต่ไม่เหมาะสมนักเนื่องจากเม็ดเซลล์ตรึงบวมน้ำ และมีรูพรุนสูงมากซึ่งเกิดจากเชื้อราที่เจริญออกมาจากด้านในแทงทะลุผ่านออกมา และเนื่องจากการบวมน้ำ



ที่เกิดขึ้นนี้ทำให้ความแข็งแรงยืดหยุ่นของเม็ดเซลล์ตรึงหายไปเชื้อราที่เจริญอยู่ภายในจะหลุดลอยอยู่ในน้ำเสีย ทำให้เกิดตะกอนลอยจำนวนมาก จึงคิดว่าควรจะใช้เม็ดเซลล์ตรึงเพียง 31 วันน่าจะดีที่สุด



รูป 4.8 เปรียบเทียบสีที่ลดลงในระหว่างการทดลองเมื่อศึกษาน้ำเสีย 2 ชนิด ในระดับขวดเขย่า

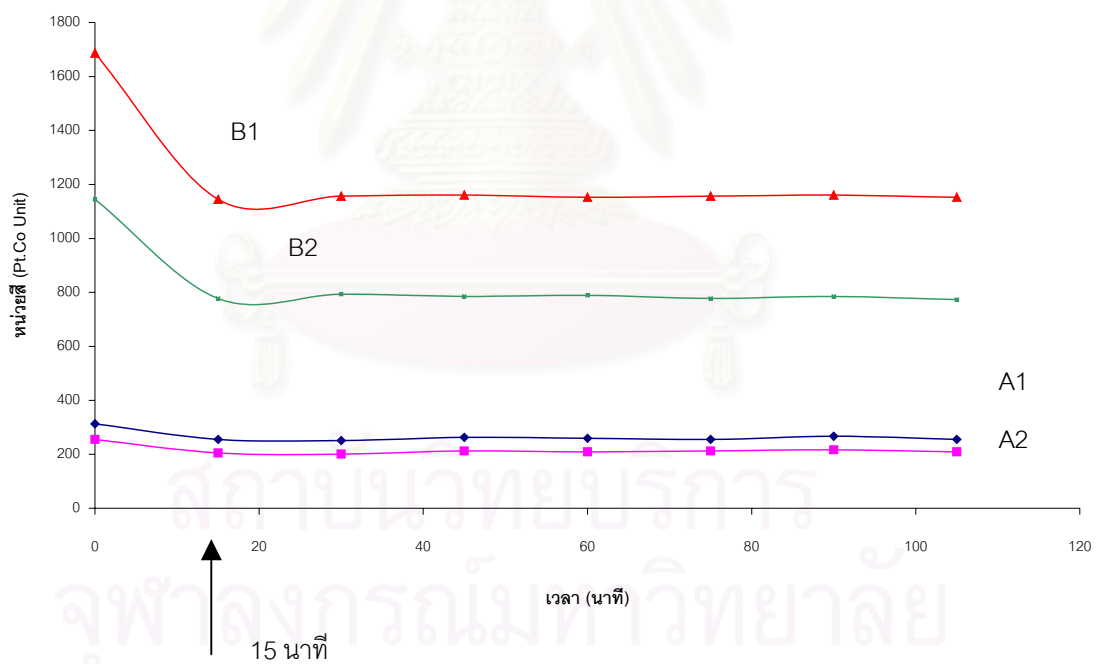


รูป 4.9 เปรียบเทียบ enzyme activities ในระหว่างการทดลองเมื่อศึกษาน้ำเสีย 2 ชนิด ในระดับขวดเขย่า

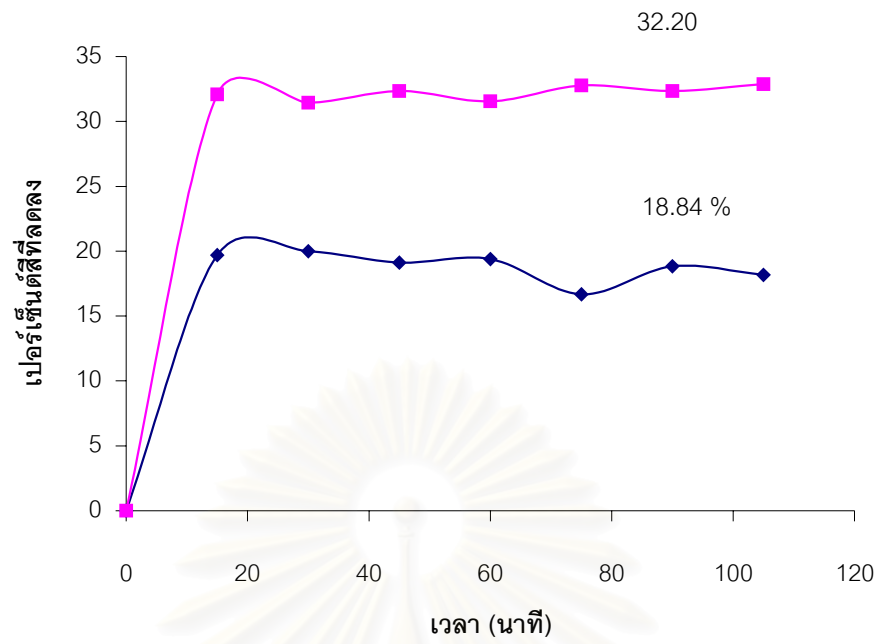
รูป 4.8 และ 4.9 แสดงผลการวิเคราะห์สี และเอนไซม์แอคติวิตี้ โดยวัดตอนเช้า และเย็นเปรียบเทียบกันในแต่ละวันเป็นเวลา 31 วัน เพื่อยืนยันว่าสีที่ลดลงในแต่ละขวดทดลองนั้น เกิดจากการทำปฏิกิริยากันของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส และ โมเลกุลลิกนิน ไม่ใช่สีลดลงเพราะเกิด Auto oxidation เพียงอย่างเดียว

4.7 ผลการศึกษาการลดสีน้ำเสีย และระยะเวลาที่เม็ดเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม

จากกราฟจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์สีของน้ำเสียที่ลดลงจะเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 30-34 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงเวลา 31 วัน แสดงให้เห็นว่าเม็ดเจลสามารถลดสีน้ำเสียได้นานแม้จะอยู่ในสถานะเหมือนของไหล (Fluidization) เกิดการกระทบกันตลอดเวลา เม็ดเจลมีความคงทนแข็งแรงเพียงพอที่จะใช้งานในสถานะเช่นนี้



รูป 4.10 สีที่ลดลงเมื่อทดลองในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม เมื่อทดลองน้ำเสีย 2 ชนิด



รูป 4.11 เปอร์เซนต์สีที่ลดลงจากคอลัมน์ 1 ไป คอลัมน์ 2



B

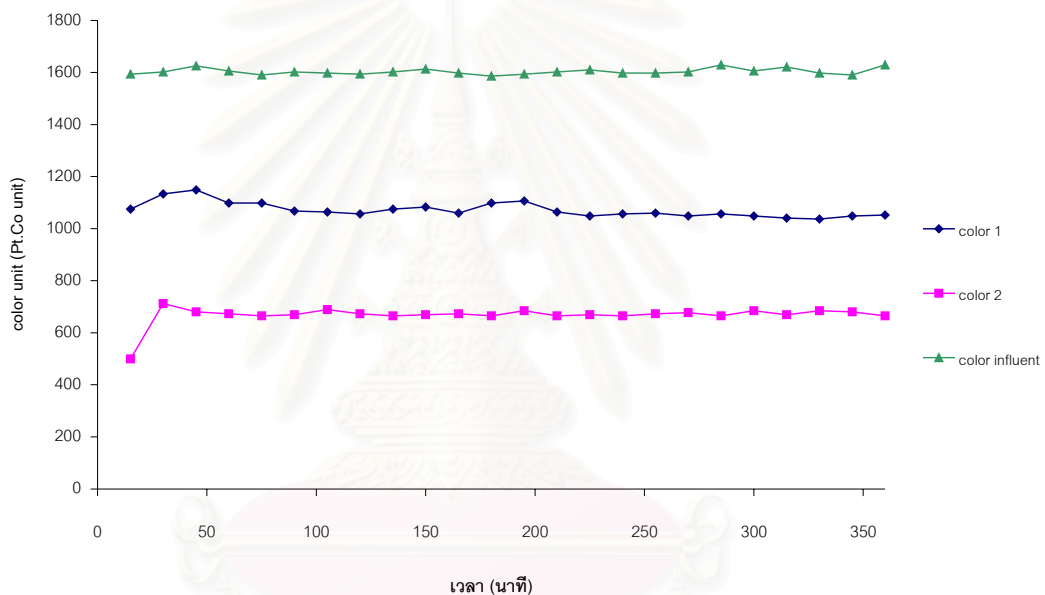


A

รูป 4.12 สีที่ลดลงเมื่อผ่านคอลัมน์ 1 และ 2 ตามลำดับ ของน้ำเสีย 2 ชนิด

ในรูป 4.12 แสดงสีของน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดโดยใช้เซลล์ตรึง *Phanerochaete chrysosporium* ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด 2 เครื่องที่ต่อกันแบบอนุกรม จะเห็นว่า น้ำเสีย B (Before treat) ซึ่งมีความเข้มข้นของลิกนินมากกว่า(สังเกตจากสีของน้ำเสียมีความเข้มของสีมากกว่า) จะสามารถลดสีลงได้มากกว่า และสามารถสังเกตความแตกต่างได้ด้วยตาเปล่า ในขณะที่น้ำเสีย A (After treat) สีลดลงเพียงเล็กน้อยและไม่สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า

การทดลองในขั้นตอนต่อไป ใช้ น้ำเสียที่ออกจากโรงฟอกเยื่อ B (Before treat) มาทดลอง



รูป 4.13 ศึกษาการลดสีน้ำเสียที่เม็ดเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม

เมื่อผ่านน้ำเสียเข้าคอลัมน์ที่ 1 และคอลัมน์ที่ 2 ตามลำดับ สีที่ลดลงของน้ำเสีย แสดงดังรูป 4.13 และ รูป 4.14 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สีที่ลดลงในคอลัมน์ที่ 1 และ 2 ประมาณ 37เปอร์เซ็นต์ตามที่ได้แสดงในรูป 4.15

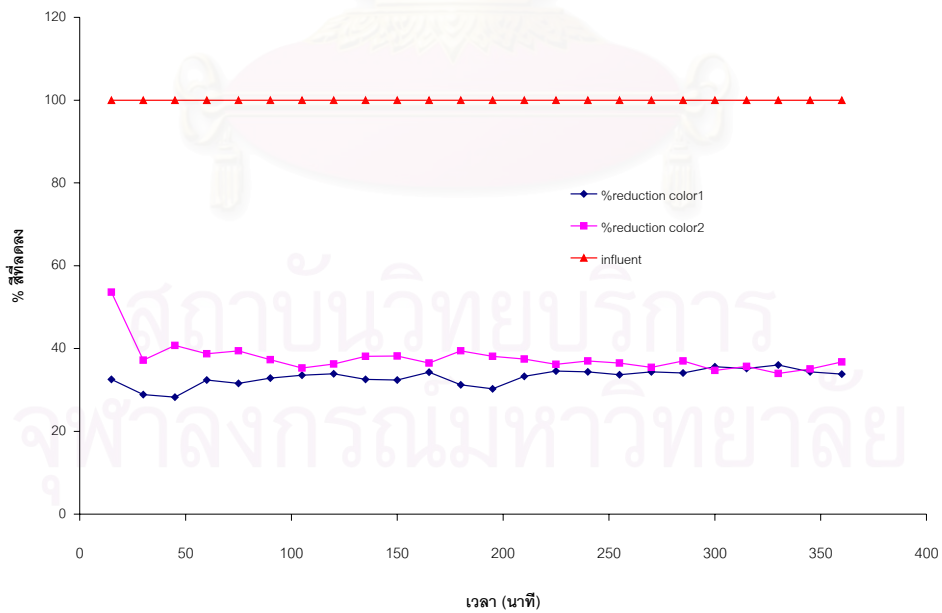


Influent

column 1

column 2

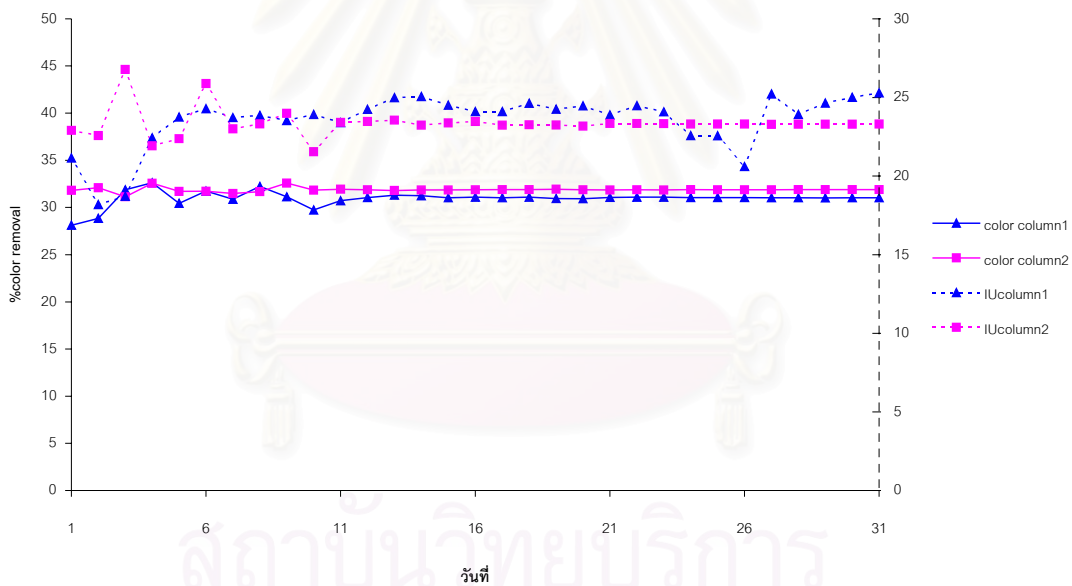
รูป 4.14 สีของน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดในคอลัมน์ 1 และ คอลัมน์ 2



รูป 4.15 เปอร์เซ็นต์สีที่ลดลงในแต่ละคอลัมน์เมื่อทดลองในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไดซ์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม

เมื่อได้เวลาที่เหมาะสมในการลดสีน้ำเสียด้วยเซลล์ตรึง *Phanerochaete chrysosporium* ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคต์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม และสามารถลดสีลงได้ 37 % จึงทดลองหาระยะเวลาที่เม็ดเซลล์ตรึงจะสามารถทำงานได้โดยเปอร์เซ็นต์การลดสีไม่เปลี่ยนแปลง

ผลการทดลองแสดงดังรูป 4.16 พบว่าเม็ดเซลล์ตรึงสามารถทำงานต่อเนื่องได้ 31 วัน โดยเปอร์เซ็นต์การลดสีไม่เปลี่ยนแปลง แต่เกิดการบวมตัวของเม็ดอัลจิเนต ดังนั้นจึงเลือกใช้งานติดต่อกัน 31 วัน เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดเจลบวมน้ำมากกว่านี้ และแตกออก เพื่อลดปัญหาตะกอนแขวนลอยที่จะเกิดขึ้น

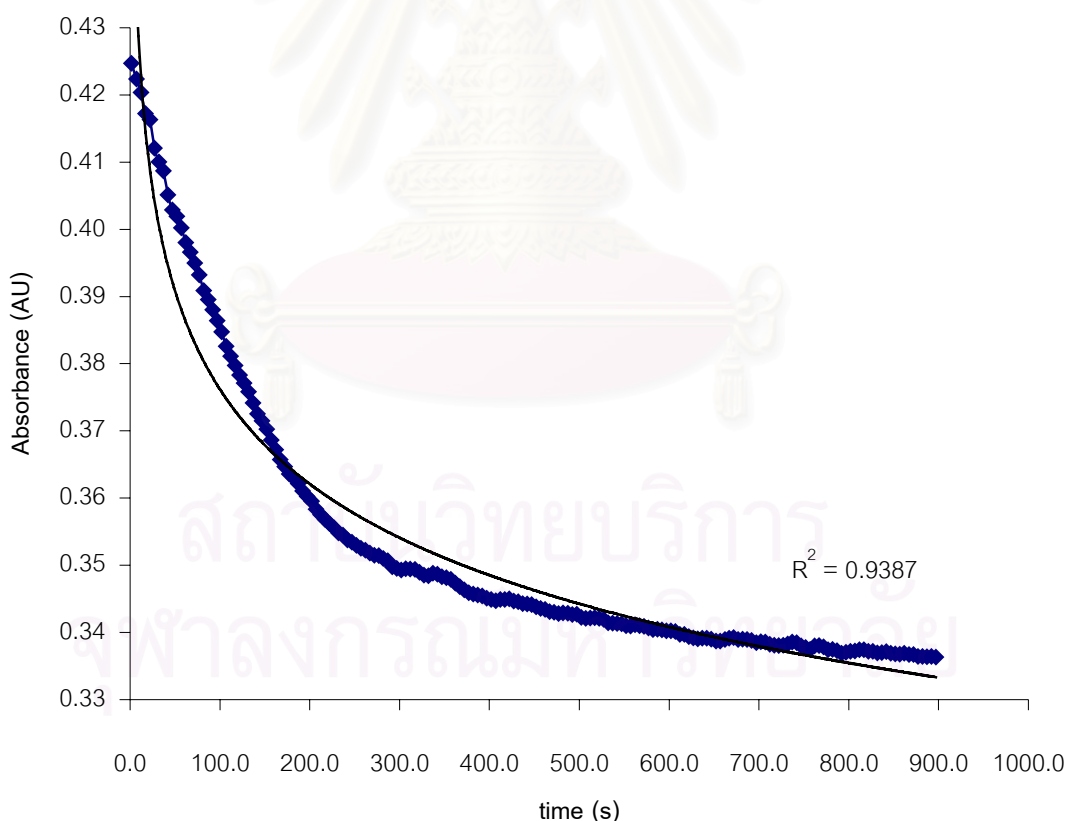


รูป 4.16 เปอร์เซนต์การเพิ่มเอนไซม์และเปอร์เซนต์สีที่ลดลงเมื่อทดลองต่อเนื่อง 31 วัน



#### 4.8 ผลการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการลดสีของน้ำเสียด้วยเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium*

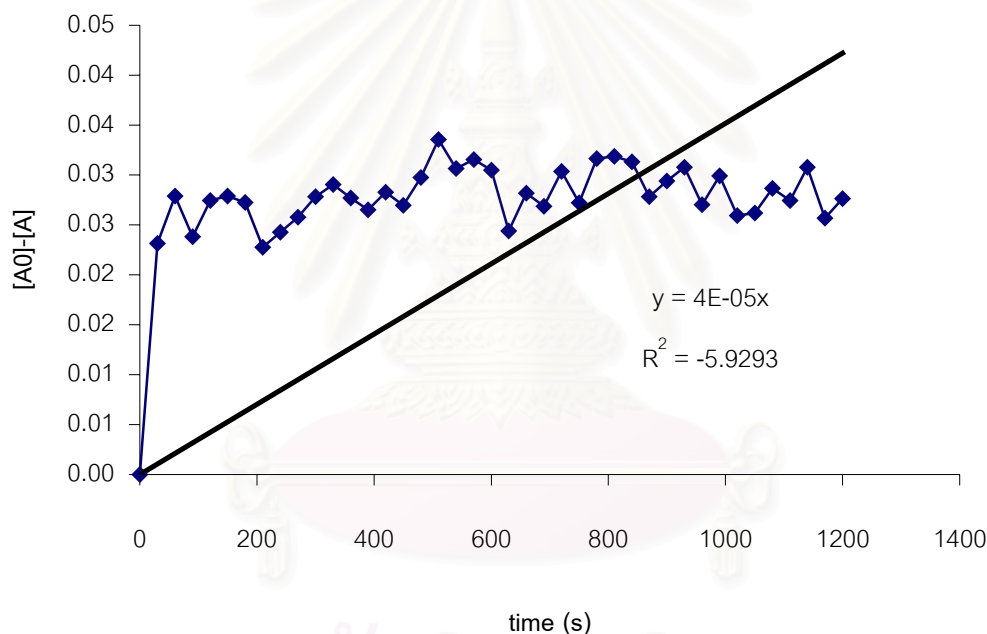
การศึกษาจลนพลศาสตร์เป็นการศึกษาในระดับโมเลกุลซึ่งจะแสดงให้เห็นการทำงานและสามารถทำนายแนวโน้มของการลดสีน้ำเสียได้ ในการทดลองนี้ทดสอบในระดับการทดลอง โดยวัดการเกิดขึ้นของสาร veratraldehyde ซึ่งจะเกิดจาก เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสทำปฏิกิริยากับ veratryl alcohol ซึ่งเป็นสารองค์ประกอบในโมเลกุลลิกนิน ผลการทดลองที่แสดงในรูป 4.17 จะเห็นว่า เวลามากขึ้นอัตราการเกิดของveratraldehyde จะลดต่ำลง ในขณะที่เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับ veratryl alcohol และแยกออกได้โดยไม่เสียสภาพเดิม แสดงให้เห็นว่าการทำงานของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส เป็นปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่งอัตราเร็วของปฏิกิริยาเท่ากับ  $6.213 \times 10^{-3} \text{ 1/s}$



รูป 4.17 จลนพลศาสตร์ของการลดสีของน้ำเสียด้วยเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* เมื่อพิจารณาเป็นปฏิกิริยาอันดับ หนึ่ง

การศึกษาอัตราเร็วของปฏิกิริยา, k ของปฏิกิริยาหนึ่งๆไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของตัวทำปฏิกิริยาเพราะเป็นอัตราเร็วของปฏิกิริยาเมื่อตัวทำปฏิกิริยามีความเข้มข้นเท่ากับ หนึ่งหน่วยความเข้มข้น

ในการทดลองนี้ได้ทดสอบทั้งปฏิกิริยาอันดับ ศูนย์ หนึ่ง และสอง โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร แล้วนำมาเขียนกราฟ สำหรับปฏิกิริยาอันดับ ศูนย์เขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นที่เปลี่ยนไปของ veratraldehyde กับเวลา ถ้าเป็นปฏิกิริยาอันดับศูนย์ กราฟที่ได้จะเป็นเส้นตรงผ่านจุด (0,0) ความชัน เท่ากับ k แต่ กราฟที่ได้ไม่เป็นไปตามทฤษฎี แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ในการลดสีน้ำเสีย ไม่ใช่ปฏิกิริยาอันดับศูนย์



รูป 4.18 จลนพลศาสตร์การลดสีน้ำเสียด้วยเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* เมื่อพิจารณาเป็นปฏิกิริยาอันดับศูนย์

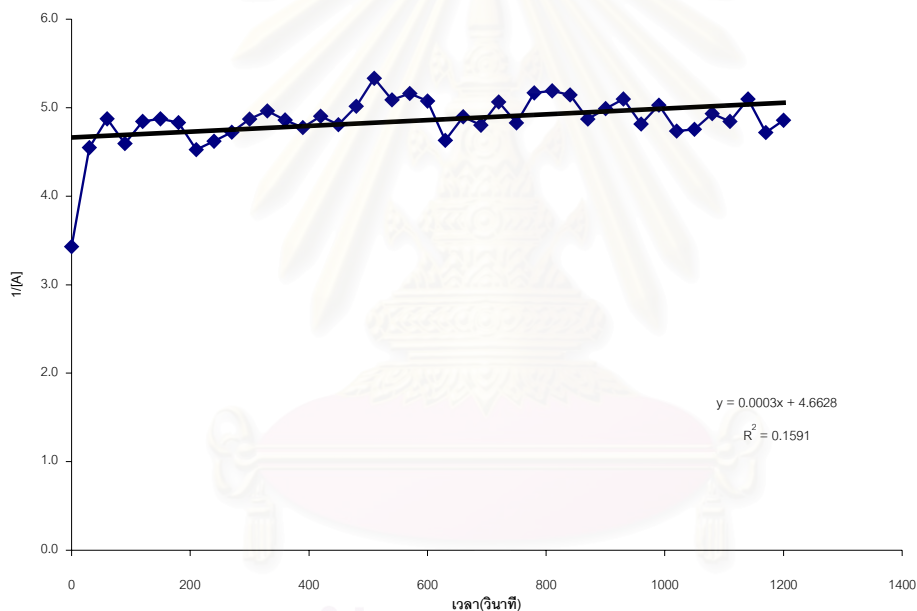
เมื่อพิจารณาเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง กราฟที่ได้เป็นดังรูป 4.17 ซึ่งเป็นไปตามสมการ

$$[A] = [A_0] e^{-kt}$$

จากสมการจะเห็นว่าสาร A จะเกิดการสลายแบบ exponential โดยเริ่มจากความเข้มข้นเท่ากับ  $A_0$  ไปจนกระทั่งความเข้มข้นเท่ากับศูนย์ แต่ในการทดลองนี้เราไม่ได้วัดการลดลงของ veratryl

alcohol แต่เราวัดการเกิดขึ้นของ veratraldehyde ณ เวลาขณะนั้นซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเกิดขึ้นของ veratraldehyde ช้าลงเมื่อเวลานานขึ้นดังแสดงในรูป 4.17 เนื่องจากเมื่อเวลาเริ่มต้น โมเลกุลของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสมีโอกาสพบกับโมเลกุลของ veratryl alcohol ได้มากจึงเกิดเป็น veratraldehyde มากตามไปด้วย แต่เมื่อทำปฏิกิริยากันเรื่อยๆ โอกาสที่โมเลกุลของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสจะทำปฏิกิริยากับ veratryl alcohol จะลดลงด้วยเนื่องจาก veratryl alcohol เหลือน้อยลง

และเมื่อพิจารณาเป็นปฏิกิริยาอันดับสอง โดยลองเขียนกราฟระหว่าง  $1/[A]$  กับ  $t$  แล้วได้เป็นเส้นตรงแสดงว่าปฏิกิริยานั้นเป็นปฏิกิริยาอันดับสอง โดยความชันของเส้นตรงมีค่าเท่ากับสองเท่าของอัตราเร็วของปฏิกิริยาอันดับสอง แสดงดังรูป 4.19



รูป 4.19 จลนพลศาสตร์การลดสีน้ำเสียด้วยเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* เมื่อพิจารณาเป็นปฏิกิริยาอันดับสอง

#### 4.9 ผลการศึกษาการลดสีน้ำเสียที่เม็ดเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไดซ์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม

จากผลการทดลองในข้อ 4.5 – 4.8 จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มจำนวนคอลัมน์ประสิทธิภาพในการลดสีน้ำเสียมากขึ้น จึงทำการทดลอง 3 คอลัมน์เพิ่มเติมเพื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ว่าสมมติฐานที่ตั้งไว้ถูกต้องหรือไม่ จึงประกอบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไดซ์เบดเพิ่มอีก 1 คอลัมน์ รูปแบบเครื่องปฏิกรณ์แสดงในรูป 4.20



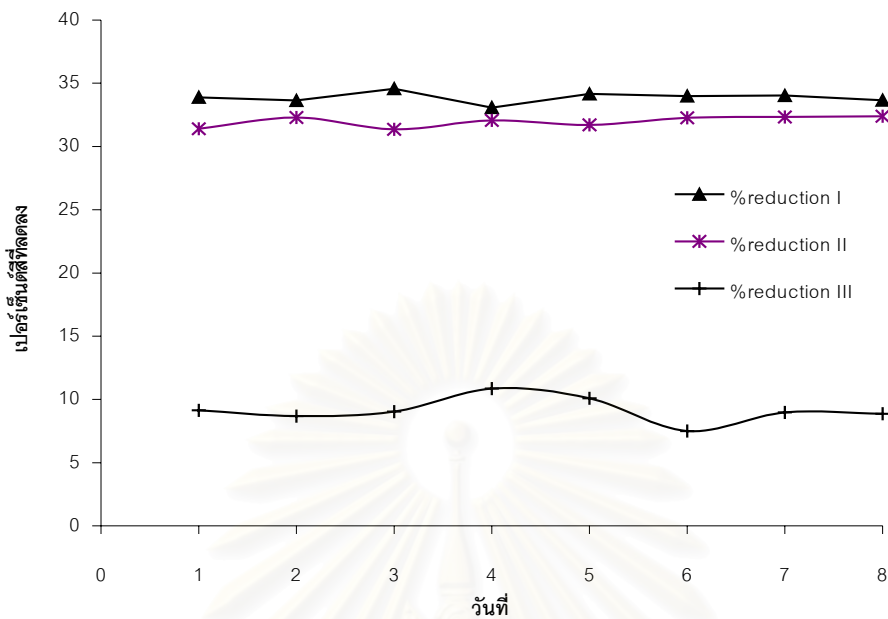
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูป 4.20 เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม ก แสดงภาพรวม การต่อเครื่องปฏิกรณ์ ข. แสดงสีในคอลัมน์ที่ 2 และ 3

การต่อเครื่องปฏิกรณ์เพิ่มเป็น 3 คอลัมน์ โดยปรับอัตราการไหลของน้ำเสีย 0.030 ลบ.ม. ต่อชั่วโมง อัตราการไหลอากาศ 0.075 ลบ.ม. ต่อชั่วโมง ตั้งสมมติฐานว่าสีของน้ำเสียลดลงคอลัมน์ ละ 30เปอร์เซ็นต์ แต่จากรูป 4.21 พบว่าคอลัมน์ที่ 1 และ 2 สามารถลดสีลงได้ประมาณ 32 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่คอลัมน์ที่ 3 ลดสีลงได้ 9.14 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น จึงเกิดแนวคิดที่จะทดลองโดย ลดอัตราการไหลของน้ำเสียลง

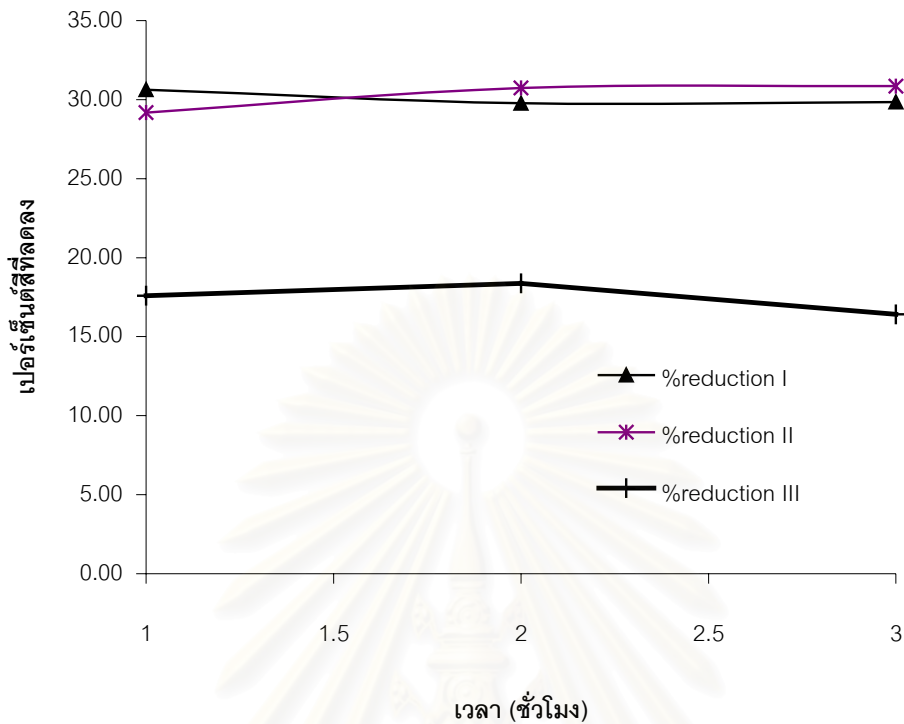
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูป 4.21 ผลการศึกษาการลดสีน้ำเสียที่เม็คเซลล์ตรึงสามารถทำงานได้ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม อัตราการไหลน้ำเสีย 0.030 ลบ. ม. ต่อชั่วโมง

จากรูป 4.21 จะเห็นว่าในคอลัมน์ที่ 1 และ 2 จะสามารถลดสีน้ำเสียได้ในเปอร์เซ็นต์ที่ใกล้เคียงกันเฉลี่ยคือ 33.88 และ 31.98 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่คอลัมน์ที่ 3 ลดสีน้ำเสียลงได้ 9.14 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น จากสมมติฐานที่ตั้งไว้จึงเกิดแนวความคิดว่า คอลัมน์ที่ 3 ลดสีลงได้น้อยมีสาเหตุมาจากโมเลกุลลิกนินที่อยู่ในน้ำเสียมีปริมาณน้อย โอกาสในการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลเอนไซม์เกิดขึ้นได้ยาก จึงทดลองเพิ่มเติมโดยการป้อนปริมาณน้ำเสียเข้าคอลัมน์ให้ช้าลง ด้วยอัตราการไหล 0.020 ลบ.ม. ต่อชั่วโมง อัตราการเติมอากาศ 0.075 ลบ.ม.ต่อชั่วโมง ผลการทดลองแสดงในรูป 4.22

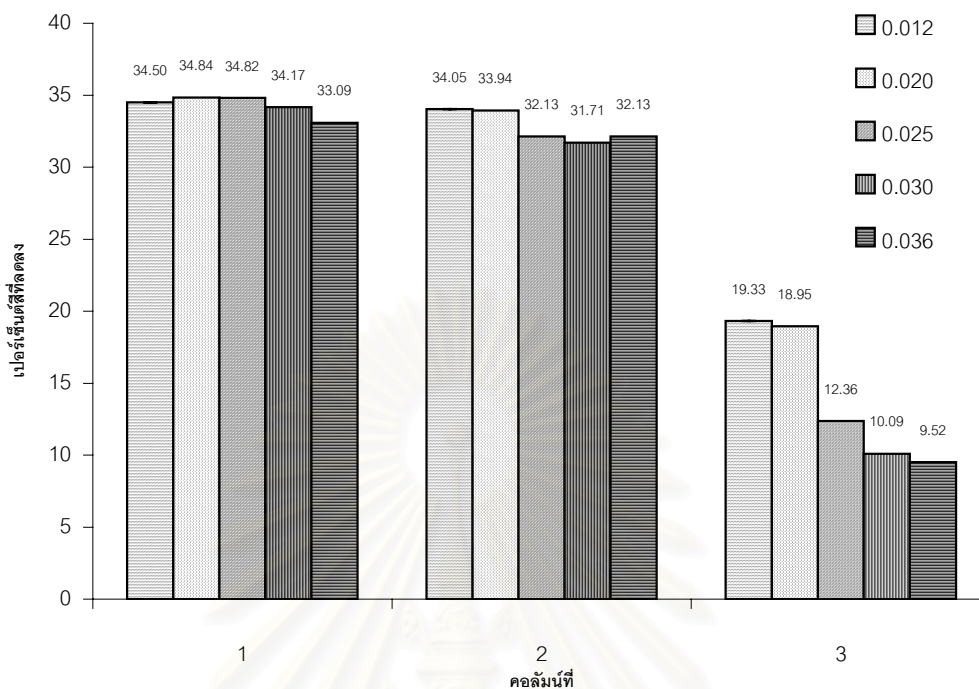




รูป 4.22 ผลการศึกษาการลดสีน้ำเสียที่เม็คเซลล์ตรงสามารถทำงานได้ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม อัตราการไหลน้ำเสีย 0.020 ลบ.ม. ต่อชั่วโมง

จากรูป 4.22 แสดงให้เห็นว่าเมื่อลดอัตราการไหลของน้ำเสียที่ป้อนเข้าคอลัมน์ เปอร์เซนต์สีที่ลดลงของคอลัมน์ที่ 3 จะเพิ่มขึ้นจาก 9.14 เปอร์เซนต์เป็น 17.46 เปอร์เซนต์ สาเหตุที่ประสิทธิภาพการลดสีของน้ำเสียเพิ่มขึ้นเพราะการลดอัตราการไหลของน้ำเสียเป็นการเพิ่มเวลา (Retention time) ในการทำปฏิกิริยาของไมเลกุลเอนไซม์กับไมเลกุลลิกนิน

และจากรูป 4.22 ยังแสดงให้เห็นว่าอัตราการไหลของน้ำเสียมีผลต่อการลดลงของสีมาก ดังนั้นจึงศึกษาอัตราการไหลของน้ำเสียเพิ่มเติมว่าเป็นตัวแปรที่มีผลต่อประสิทธิภาพการลดสีของน้ำเสียอย่างไร ผลการทดลองแสดงในรูป 4.23 จะเห็นว่าคอลัมน์ที่ 1 และ 2 ประสิทธิภาพการลดสีของน้ำเสียใกล้เคียงกันมาก ในขณะที่คอลัมน์ที่ 3 อัตราการไหลของน้ำเสียในอัตราเร็วต่ำ จะแสดงประสิทธิภาพในการลดสีสูงกว่าเมื่อป้อนน้ำเสียด้วยอัตราการไหลที่เร็วขึ้น และจะสังเกตเห็นได้ชัดเจน



รูป 4.23 ผลการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการไหลของน้ำเสีย 0.012 0.020 0.025 0.030 และ 0.036 ลบ.ม.ต่อชั่วโมง ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไธซ์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม

รูป 4.23 แสดงการศึกษาอัตราการไหลของน้ำเสีย โดยอัตราการป้อนอากาศคงที่ที่ 0.075 ลบ.ม./ชม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าอัตราการไหลของน้ำเสียมีผลต่อประสิทธิภาพการลดสีของน้ำเสียอย่างชัดเจนเมื่อเป็นการบำบัดน้ำเสียในคอลัมน์ที่ 3 ซึ่งโมเลกุลของลิกนินมีปริมาณลดลงมาก แต่จะไม่แสดงผลที่ชัดเจนในน้ำเสียที่มีสีเข้มหรือมีปริมาณโมเลกุลลิกนินมาก เพราะโอกาสในการเข้าทำปฏิกิริยาของโมเลกุลเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสและโมเลกุลลิกนินมีสูง เมื่อสังเกตเปอร์เซ็นต์สีที่ลดลงในคอลัมน์ที่ 1 และ 2 จะพบว่าผลการลดอัตราการไหลของน้ำเสียซึ่งในทางกลับกันเป็นการเพิ่มเวลาเข้าทำปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส กับโมเลกุลลิกนินไม่ทำให้เปอร์เซ็นต์สีที่ลดลงเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเหมือนผลในคอลัมน์ที่ 3 เพราะเอนไซม์ย่อยสลายพันธะลิกนิน ก่อให้เกิดสาร Intermediate ซึ่งจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เปอร์เซ็นต์การลดสีไม่เพิ่มขึ้น หรือเพิ่มขึ้นน้อยมากเมื่อลดอัตราการไหลให้ช้าลง

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการเจริญของเชื้อรา *P.chrysosporium* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PDB (Potato dextrose broth) แสดงให้เห็นว่าเชื้อจะเจริญเติบโตได้เร็วที่สุดในช่วงวันที่ 5-7

น้ำเสียจากระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ จากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ บริษัทอุตสาหกรรมกระดาษคราฟท์ไทย จำกัด ตำบลวังศาลา อำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี

1. pH	8.76
2. SS	374 ppm
3. DS	2,796 ppm
4. COD	1,617 ppm
5. BOD	453 ppm
6. เยื่อที่ผลิตได้	198.9 ตัน
7. อัตราการไหลน้ำทิ้ง	9433 ลบ.ม. ต่อชั่วโมง

การลดสีของน้ำเสียจากระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ โดยใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *P.chrysosporium* ในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนต ในการทำการตรึงเซลล์จะต้องใช้เชื้อราที่เจริญเข้าสู่ระยะ stationary phase เพราะ *P.chrysosporium* เป็นเชื้อราที่จัดอยู่ในกลุ่ม white rot fungi สามารถผลิต oxidative enzyme ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีสมบัติในการย่อยสลายโครงสร้างสารลิกนิน โดยจะประกอบด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (LiP) และมังกานีสเปอร์ออกซิเดส (MnP) ซึ่งเป็นสารทุติยภูมิในกระบวนการสร้างและสลาย (secondary metabolite) คือเป็นเอนไซม์ที่สร้างขึ้นและขับออกนอกเซลล์เมื่อเชื้อรามีการเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะ stationary phase ดังนั้นระยะ stationary phase จึงเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมที่เชื้อราจะถูกกระตุ้นให้สร้างเอนไซม์เพื่อนำมาใช้ในกระบวนการย่อยสลายสารลิกนินในน้ำเสียจากระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ

ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการลดสีน้ำเสียในระดับขวดเขย่า พบว่า ที่เวลา 15 นาทีสามารถลดสีน้ำเสียได้ถึง 43.35 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลาที่เหมาะสมในการทดลองต่อไปในระบบฟลูอิด์เบด เพราะ ระบบฟลูอิด์เบด เป็นระบบการทำงานต่อเนื่องถ้าการป้อนน้ำเข้า

คอลลิมน์เข้ามาทำให้เสียเวลาและน้ำเสียอาจจะล้นได้ถ้าใช้ในระบบบำบัดจริงแต่เมื่อบำบัดน้ำเสียด้วยเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด โดยให้น้ำเสียผ่านคอลลิมน์เป็นเวลา 15 นาที หรือใช้อัตราการไหลของน้ำเสีย 0.030 ลบ.ม. ต่อชั่วโมง ปรากฏว่าเปอร์เซ็นต์สีที่ลดได้น้อยกว่าการทดลองในระดับขวดเขย่า คือลดได้ 33.03 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุเพราะการบำบัดในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด เป็นระบบเปิด มีการป้อนน้ำเสียเข้าคอลลิมน์ตลอดเวลา ทำให้สีของน้ำที่เข้าใหม่ปนกับสีของน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้ว

เมื่อทดลองแล้วว่าการลดสีสามารถทำได้จริง จึงทดสอบความเป็นไปได้ในการใช้คอลลิมน์ต่อกันแบบอนุกรม ขั้นตอนแรก ทดลองในระดับขวดเขย่าโดยเก็บน้ำเสียจาก 2 จุด จะเห็นว่าน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วเปอร์เซ็นต์สีที่ลดลงน้อยกว่าน้ำเสียที่ยังไม่ได้บำบัด เปอร์เซ็นต์สีที่ลดคือ 30.88 และ 42.58 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เม็ดเซลล์ตรึงยังสามารถทำงานได้จนครบ 31 วันโดยประสิทธิภาพการลดสีไม่เปลี่ยนแปลง สาเหตุที่ใช้เม็ดเซลล์ตรึง 31 วัน แล้วเปลี่ยนเม็ดเซลล์ตรึงชุดใหม่เพราะว่าเม็ดเซลล์ตรึงบวมน้ำและความยืดหยุ่นหายไป เส้นใยเชื้อราที่เจริญเติบโตอยู่ภายในหลอดป่นออกมาในน้ำเสียทำให้เกิดตะกอนแขวนลอยจำนวนมาก ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาอุดตัน และเป็นการเพิ่มค่า BOD และ COD

ทดลองซ้ำโดยขยายขนาดเป็นเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด 2 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม พบว่าการลดสีน้ำเสียในแต่ละคอลลิมน์สูงถึง 32.83 เปอร์เซ็นต์ และสามารถใช้งานได้จนครบ 31 วัน โดยมีเส้นใยเชื้อราลอยปนอยู่ในน้ำเสียบ้าง และเม็ดเซลล์ตรึงบวมน้ำจมนมีขนาดใหญ่

ผลการศึกษาจลนพลศาสตร์พบว่าเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส ทำปฏิกิริยากับลิกนินในการลดสีของน้ำเสีย เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ค่าอัตราเร็วปฏิกิริยาเท่ากับ  $6.213 \times 10^{-3}$  1/s

เพื่อต้องการยืนยันสมมติฐานที่กล่าวไว้ว่าทุกคอลลิมน์จะสามารถลดสีน้ำเสียได้ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ จึงทดลองในเครื่องปฏิกรณ์ฟลูอิดไคซ์เบด 3 เครื่องที่ต่อแบบอนุกรม พบว่าคอลลิมน์ที่ 1 และ 2 สามารถลดสีน้ำเสียได้ 33.88 และ 31.98 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่คอลลิมน์ที่ 3 ลดสีได้เพียง 9.14 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุมาจากความเข้มข้นของลิกนินที่มีอยู่ในน้ำเสียมีน้อยลง โอกาสที่จะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์จึงน้อยลงด้วย แต่เมื่อลดอัตราการไหลของน้ำเสียเป็น 0.020 ลบ.ม.ต่อชั่วโมงสามารถลดสีน้ำเสียได้ 17.46 เปอร์เซ็นต์

อัตราการไหลของน้ำเสียมีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การลดสีของน้ำเสียมากกว่าอัตราการไหลของอากาศ

งานวิจัยนี้สามารถสรุปได้ว่าการลดสีน้ำเสียโดยใช้เซลล์ตรึง *Phanerochaete chrysosporium* ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไธซ์เบด ที่ต่อแบบอนุกรมสามารถลดสีได้ ประมาณ 30-34 เปอร์เซ็นต์ พิจารณาอัตราการไหลของน้ำเสียจากความเข้มข้นของลิกนินที่มีอยู่ในน้ำ หรือสังเกตจากสีของน้ำถ้าสีเข้มมากอัตราการไหล 0.030 ลบ.ม.ต่อชั่วโมง แต่ถ้าสีจางลงแล้ว ใช้อัตราการไหลน้ำเสีย ต่ำกว่า 0.020 ลบ.ม.ต่อชั่วโมง โดยสามารถต่อเครื่องปฏิกรณ์กี่เครื่องก็ได้ แล้วแต่การออกแบบ และการลดสีน้ำเสียด้วยเซลล์ตรึงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ค่าอัตราเร็วปฏิกิริยา,  $k$  เท่ากับ  $6.213 \times 10^{-3} \text{ 1/s}$

### ข้อเสนอแนะ

1. ควรออกแบบเครื่องบิมน้ำเสียให้ต่อเข้ากับแต่ละคอลัมน์โดยตรงเพื่อจะได้สามารถปรับอัตราการไหลได้ตามที่ต้องการ
2. ติดตั้งระบบกรองน้ำก่อนเข้าคอลัมน์เพราะ ปัญหาที่พบบ่อยในการทดลองคือเกิดการอุดตันเนื่องจากเศษเยื่อ แม้ว่าจะกรองแล้ว 1 ครั้ง
3. ศึกษาสารเคมีตัวอื่นๆที่ใช้ในการตรึงเซลล์ เพื่อหาสารที่จะไม่บวมน้ำเพื่อจะได้สามารถใช้เชื้อราได้นานยิ่งขึ้น เพราะเชื้อราในเม็ดอัลจิเนตในการทดลองนี้ยังสามารถเจริญได้ต่อไป แต่ปัญหาอยู่ที่การบวมของอัลจิเนต
4. ทดลองเครื่องปฏิกรณ์โดยแบ่งเป็น 2 ชุด ในระหว่างที่เดินเครื่องชุดที่ 1 เครื่องชุดที่ 2 จะเป่าอากาศเพื่อให้เชื้อราผลิตเอนไซม์ เดินเครื่องสลับกันระหว่างเครื่อง 1 และ 2 เพื่อเป็นการยืดอายุเครื่องปฏิกรณ์และ เม็ดเซลล์ตรึง

## รายการอ้างอิง

1. James P. Casey, Pulp and paper Chemistry and Chemical Technology. Volume 1 . Third Edition. New York: A Wiley-Interscience Publication, 1980.
2. จุลวรรณ์ จิ่งสุวัฒน์นันท์. การลดสีของน้ำเสียจากโรงงานเยื่อกระดาษ ด้วยวิธีการตรึงเซลล์ *Phanerochaete chrysosporium* ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีเทคนิค ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , 2542
3. Nemerow, L.N., and Avijit, D., Industrial and hazardous waste treatment. New York: Van Nostrand Reinhold Press., 1991.
4. Loras, V. 1980. Bleaching. In James P. Casey, Pulp and paper, 633-702. (3<sup>rd</sup> ed.) New York : John Wiley and Sons.
5. Hammel, K.E. Organopollutant degradation by ligninolytic fungi. In Lily Y. Young and Carl E. Cerniglia, Microbial transformation and degradation of toxic organic chemicals, 331-346. New York : John Wiley and Sons., 1995
6. Kirk, T.K., and Obst, J.R.. Lignin determination. In Willis A. Wood and Scott T. Kellogg, Method in enzymology , 16 (part B) : 87-100. 1988
7. เกียรติศักดิ์ อุดมสินโรจน์. การบำบัดน้ำเสีย. นนทบุรี: สำนักพิมพ์มิตรนราการพิมพ์. 2539
8. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต. แหล่งน้ำกับปัญหามลพิษ. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2539.
9. Eaton, D. C. Mineralization of polychlorinated biphenyls by *Phanerochaete chrysosporium* : a ligninolytic fungus. Enzyme Microb. Technol. 7: 194-196. 1985.
10. Bumpus, J.A., Aust, S.D. Biodegradation of DDT (1,1,1-tetrachloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethene) by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* . Appl. Environ. Microbiol. 53: 2001-2008. 1987b.
11. Datta, A., Bettermann, A., and Kirk, T.K. Identification of a specific lignin peroxidase among ligninolytic enzyme secreted by *Phanerochaete chrysosporium* during wood decay. Appl. Microbiology. 57(5) : 1453-1459. 1991.
12. Leisola, M., Ulmer, D.C., and Fiechter, A. Factors affecting lignin degradation in lignocellulose by *Phanerochaete chrysosporium* . Arch. Microbiol. 137: 171-175. 1984.



13. Fenn, P., Choi,S., and Kirk, T.K.. Ligninolytic activity of *Phanerochaete chrysosporium* : Physiology of a suppression by ammonia and l-glutamate. Arch.Microbiol . 130: 66-71. 1981.
14. Rield,I.D. Effect of nitrogen supplements on degradation of aspen wood lignin and carbohydrate components by *Phanerochaete chrysosporium*. Appl.Environ.Microbiol. 45: 830-837. 1983a.
15. Rield,I.D. Effect of nitrogen sources on cellulose and synthetic lignin degradation by *Phanerochaete chrysosporium*. Appl.Environ.Microbiol. 45: 838-842. 1983b.
16. Chibata,I. Immobilized Enzymes Tokyo : Kodansha Ltd. 1978.
17. Cheetham, P.S.J., Blunt ,K.W., and Bucke,C. Physical studies on cell immobilation using calcium alginate gels. Biotech. And Bioeng. 21: 2155-2618. 1979.
18. วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. การใช้เอนไซม์ไม่ละลายน้ำและเซลล์ที่ถูกตรึงในอุตสาหกรรม. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2524.
19. ภาวิณี คณาสวัสดิ์. การตรึงเอนไซม์และเซลล์. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2537.
20. Fraser, J.E., and Bickerstaff, G.F. 1997. Entrapment in calcium alginate. In Gordon F. Bickerstaff, Method in biotechnology Vol.1: Immobilization of enzyme and cell, 61-66. Totowa, NJ. : Human Press.
21. Bickerstaff, G.F.1997. Method in biotechnology. Vol.1: Immobilization of enzyme and cell.1-11. Totowa, NJ : Human Press .
22. Bruke., C. 1987. Cell immobilization in calcium alginate. In Klaus Mosbach, Method in enzymology Vol.135 : Immobilized enzymes and cells Part B, 1:175-189. New York:Academic press.
23. Cheetham, P.S.J., Blunt ,K.W., and Bucke,C. 1979. Physical studies on cell immobilation using calcium alginate gels. Biotech. And Bioeng. 21: 2155-2618.
24. สมศักดิ์ ดำรงค์เลิศ. 2528. ฟลูอิดไดเซชัน. พิมพ์ครั้งที่1. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
25. Hakulinen, R., and Mirja, S.S. 1982. Treatment of pulp and paper industry wastewater in an anaerobic fluidized bed reactor. Process Biochemistry March/April:18-22.

26. R.Gälli. 1987. Biodegradation of dichloromethane in wastewater using a fluidized bed bioreactor. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27 : 206-213.
27. Ryhiner, G., Petrozzi, S., and Dunn, I.J. 1988. Operation of a three-phase biofilm fluidized sand bed reactor for aerobic wastewater treatment. Biotechnol. Bioeng. 32: 677-688.
28. Sammaiah Pallerla and Robert P. Chambers. 1996. New urethane prepolymer immobilized fungal bioreactor for decolorization and dechlorination of kraft bleach effluents. Tappi Journal 79(5):155-161.
29. Joyce, T.W., Chang, H-m., Campbell, A.G., Gerrard, Jr. E.D., and Kirk, T.K. 1984. A Continuous biological process to decolorize bleach plant effluents. Biotech. Adv. 2: 301-308.
30. Huynh, V.B., Chang, H-m., Joyce, T.W., and Kirk, T.K. 1985. Dechlorination of chloro-organics by a white-rot fungus. Tappi Journal 68(7) : 98-102.
31. Mileski, G.J., Bumpus, J.A., Jurek, M.A., and Aust, S.D. 1988. Biodegradation of pentachloro phenol by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Appl. Environ. Microbiol. 54(12) : 2885-2889
32. Lewandowski, G., Armenante, P.M., and Daewon Pan. 1990. Reactor design for hazardous waste treatment using a white rot fungus. Water Research 24: 75-82.
33. Alan L. Prouty. 1990. Bench-scale development and evaluation of a fungal bioreactor for color removal from bleach effluents. Appl. Microbiol. Biotechnol. 32 : 490-493.
34. Sayadi S., and Ellouz, R. 1992. Decolorization of olive mill wastewaters by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* : involvement of the lignin degrading system. Appl. Microbiol. and Biotech. 37 : 813-817.
35. Capalach, N., and Prince Sharma. 1992. Biodegradation of textile azo-dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. World Journal of Microbiology and Biotechnology 8 : 309-312.
36. Presnell, T.L., Joyce, T.W., and Chang, H-m. 1992. Dechlorination and detoxification of bleach plant effluent by *Phanerochaete chrysosporium*. Journal of biotechnology 24: 267-275.

37. Ruckentein, E., and Wang, X-B. 1994. Production of lignin peroxidase by *Phanerochaete chrysosporium* on porous poly(styrene-divinylbenzene) carrier and its application to the degrading of 2-chlorophenol. Biotechnol.and Bioeng. 44 : 79-86.
38. Fahy, V., FitzGibbon, F.J., McMullan, G., Singh, D.R., and Marchant, R. 1997. Decolorisation of molasses spent wash by *Phanerochaete chrysosporium* . Biotechnology Letters 19: 97-99.



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

### การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารสำหรับเหนี่ยวนำให้เชื้อราสร้างเอนไซม์ (Induction medium)  
(Gordon A. Lewandoski และคณะ, 1990)

มีองค์ประกอบดังนี้

1. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	2.0	กรัม
2. แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4$ )	0.5	กรัม
3. แคลเซียมคลอไรด์ ( $\text{CaCl}_2$ )	0.1	กรัม
4. แอมโมเนียมคลอไรด์ ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )	0.012	กรัม
5. น้ำตาลกลูโคส ( Glucose )	2.0	กรัม
6. ไทเอมีน ( Thiamine )	0.001	กรัม
7. น้ำกลั่น	1.0	ลิตร

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ข

### วิธีการวิเคราะห์สี

#### หลักการ

สีของน้ำมี 2 ประเภท คือ

1) สีที่แท้จริง (True color) เกิดจากการละลายของสารประกอบที่มีในน้ำ

2) สีที่ปรากฏ (Apparent color) เกิดจากการสะท้อนของสิ่งแขวนลอยอยู่ในน้ำ หรือไม่ก็อาจเกิดจากการสะท้อนของท้องฟ้า การทราบสีที่แท้จริงของน้ำ อาจทำได้โดยการเก็บตัวอย่างน้ำขึ้นมาทำการกรองสิ่งแขวนลอยออกไป ใช้ Millipore filter หรือ ทำการเหวี่ยงแยก แล้วนำส่วนที่เป็นน้ำที่แท้จริงมาทำการเปรียบเทียบสีมาตรฐาน สีมาตรฐานจะได้จากการเจือจางในหลายๆขั้นตอนของสารละลาย Potassium chloroplatinate ( $K_2PtCl_6$ ) และ Cobaltous chloride ( $CoCl_2 \cdot H_2O$ ) หน่วยที่ใช้วัดคือ Platinum cobalt unit (1 unit = 1 mg Pt / L) 1 unit คือ ไส้หมาก , 300 units คือ สีคล้ำมาก

#### การเก็บและรักษาตัวอย่างน้ำ

ถ้ายังไม่ได้ทำการวิเคราะห์สีในทันที ควรเก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ  $4^{\circ}C$  แต่มีช่วงเวลาที่ยอมให้เก็บได้นานที่สุดคือ 2 วัน

#### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
2. กระดาษกรองเบอร์ 1
3. ชุดกรองกรวยบุชเนอร์ (Buchner funnel)
4. เครื่องดูดสุญญากาศ (Suction pump) พร้อมขวดดูดสุญญากาศ

#### วิธีวิเคราะห์

การวัดสี จะวัดในรูปความเข้มของสี ซึ่งจะวัดเป็นค่าการดูดกลืนแสง

1. ปรับค่าความเป็นกรด – เบส (pH) ของตัวอย่างน้ำให้เท่ากับ 7.6 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์
2. เมื่อปรับพีเอช เท่ากับ 7.6 แล้วจะเกิดตะกอนขาวขุ่นขึ้น กรองตะกอนออกด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 โดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศและขวดกรอง
3. นำส่วนที่เป็นน้ำใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 465 นาโนเมตร

### การวัดสีโดยเปรียบเทียบกับแพลทินัมโคบอลต์มาตรฐาน (Platinum Cobalts standard)

#### อุปกรณ์และสารเคมี

1. หลอดเนสเลอร์ (Nessler tubes)
2. สารละลายมาตรฐานคลอโรแพลทินัม (Standard chloroplatinate solution)  
ละลายสารโพแทสเซียมคลอโรแพลทินัม ( $K_2PtCl_6$ ) 1.246 กรัม และสารโคบอลต์คลอไรด์ ( $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ ) 1.0 กรัม ในน้ำกลั่นที่มีกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นอยู่ 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1 ลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มสีเท่ากับ 500 หน่วยสี จากสารละลายนี้นำมาเตรียมสารละลายที่มีความเข้มสีเท่ากับ 50 – 450 หน่วยสี โดยการเจือจาง

#### วิธีการเทียบมาตรฐานของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

1. นำสารละลายมาตรฐานคลอโรแพลทินัมที่มีความเข้มสีตั้งแต่ 50 – 500 หน่วยสี ไปวัดค่าแอมซอร์เบนซ์ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 465 นาโนเมตร
2. นำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าแอมซอร์เบนซ์กับค่าหน่วยสี

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## ภาคผนวก ค

### วิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

#### วิธีวิเคราะห์ปริมาณบีโอดี (BOD)<sup>7</sup>

##### หลักการ

การวิเคราะห์ค่าบีโอดี เป็นการวิเคราะห์เพื่อที่จะทราบถึงปริมาณความสกปรกของน้ำ เพื่อประโยชน์ในการออกแบบระบบบำบัดควบคุมคุณภาพน้ำทิ้ง และประสิทธิภาพของระบบนั้นๆ โดยคิดเปรียบเทียบในรูปของปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ในน้ำเสีย ภายใต้สภาวะที่เหมือนกับเกิดในธรรมชาติที่สุด เพื่อให้การวิเคราะห์เป็นแบบปริมาณวิเคราะห์

การวิเคราะห์ค่าบีโอดี โดยทั่วไปเป็นการวัดปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ชนิดที่ย่อยสลายได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 20<sup>0</sup>ซ เป็นเวลา 5 วัน ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ เนื่องจากออกซิเจนในอากาศสามารถละลายน้ำได้ในจำนวนจำกัด คือ ประมาณ 9 มก./ล ในน้ำบริสุทธิ์ ที่อุณหภูมิ 20<sup>0</sup>ซ ดังนั้นในน้ำเสียที่มีความสกปรกมาก จำเป็นต้องทำให้ปริมาณความสกปรกเจือจางลงอยู่ในระดับที่สมมูลพอดีกับปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่

การวิเคราะห์นี้เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ในน้ำ จึงจำเป็นต้องให้มีสภาพที่พอเหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ กล่าวคือ ไม่มีสารพิษแต่มีอาหารเสริมสำหรับจุลินทรีย์เพียงพอ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เป็นต้น นอกจากนี้การย่อยสลายสารอินทรีย์ให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ จะกระทำโดยจุลินทรีย์หลายชนิด จึงจำเป็นต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เหล่านี้ อย่างเพียงพออยู่ในน้ำตัวอย่างซึ่งจะทำการวิเคราะห์ ถ้าไม่มีหรือมีปริมาณน้อยควรเติมจุลินทรีย์ ซึ่งเรียกว่า “ หัวเชื้อ (seed) ” ลงไป

## การเลือกวิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์หมี 2 วิธี

1. วิธีแบบโดยตรง (Direct Method) ใช้ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีค่าบีโอดีน้อยกว่า 7 มก./ล คือน้ำที่มีความสกปรกน้อย เช่น น้ำธรรมชาติจากแม่น้ำลำคลองที่สะอาด วิธีนี้ไม่ต้องเติมหัวเชื้อ และไม่ต้องทำให้ตัวอย่างเจือจางด้วยน้ำกลั่น นำตัวอย่างน้ำหาค่าบีโอดีได้เลย

2. วิธีแบบเจือจาง (Dilution Method) ใช้ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีค่าบีโอดีเกิน 7 มก./ล คือน้ำที่มีความสกปรกมาก เนื่องจากปริมาณของออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์จะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับจำนวนสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำนั้น เมื่อตัวอย่างน้ำมีสารอินทรีย์จำนวนมาก จึงต้องเจือจางตัวอย่างน้ำเพื่อให้มีออกซิเจนเพียงพอที่แบคทีเรียจะใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์นั้น

วิธีเจือจางจะแบ่งออกเป็น 2 กรณี คือ

ก. ไม่ต้องมีการเติมหัวเชื้อ (no seeding)

วิธีนี้เหมาะสำหรับตัวอย่างน้ำเสียหรือน้ำทิ้งทั่วไป ซึ่งมีจุลินทรีย์เพียงพอ และมีค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายทางชีวภาพ ตัวอย่างน้ำจะต้องไม่ผ่านการเติมคลอรีนหรือความร้อนมาก่อน

ข. ต้องมีการเติมหัวเชื้อ (seeding)

วิธีนี้ใช้สำหรับตัวอย่างน้ำที่ไม่มีแบคทีเรียอยู่เลย หรือมีอยู่ปริมาณน้อยมาก และไม่ active จำเป็นที่จะต้องหาแบคทีเรียจากที่อื่นมาช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียชนิดนั้นๆ น้ำทิ้งที่เป็นกรดหรือด่างสูง ต้องปรับพีเอชให้เป็นกลางก่อนจึงใส่หัวเชื้อ น้ำทิ้งที่อุณหภูมิสูง น้ำทิ้งที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยคลอรีน จะต้องกำจัดคลอรีนก่อน แล้งจึงเติมหัวเชื้อ บางกรณีที่น้ำเสียบางชนิดมีสารพิษ แบคทีเรียจะไม่สามารถอยู่ได้ ถ้าใส่หัวเชื้อลงไปโดยตรงจะทำให้แบคทีเรียตาย จำเป็นต้องเลี้ยงแบคทีเรียให้คุ้นเคยกับตัวอย่างน้ำที่มีสารพิษนั้นก่อน แล้วจึงนำมาใช้เป็นหัวเชื้อต่อไป แหล่งหัวเชื้อหาได้จากน้ำโสโครกจากบ้านเรือน น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ หรืออาจเตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ

## การเก็บและรักษาตัวอย่างน้ำ

หลังจากเก็บตัวอย่างน้ำมาแล้วควรจะทำการวิเคราะห์ทันที แต่ถ้าไม่สามารถทำได้ ควรนำตัวอย่างน้ำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C เมื่อจะทำการวิเคราะห์ ต้องปล่อยให้ตัวอย่างน้ำให้อุณหภูมิห้องเสียก่อน จึงจะทำการวิเคราะห์ได้

## เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดบีโอดี (BOD bottles) หรือขวดอินคิวเบท (incubation bottles) ขนาด 300 มิลลิลิตร ซึ่งมี จุกปิดเป็นจุกแก้วปิดสนิท พร้อมฝาครอบพลาสติก (BOD CAP) เพื่อป้องกันไม่ให้อากาศผ่านเข้าไปในขวดบีโอดีในระหว่างการเพาะเชื้อ สามารถทำได้โดยหล่อหน้าไว้รอบๆ ปากขวดบีโอดีแล้วใช้ฝาครอบพลาสติก (BOD CAP) ครอบปากขวดไว้ เพื่อลดการระเหยของน้ำหล่อก่อนที่จะนำขวดบีโอดีมาใช้ จะต้องนำขวดมาล้างให้สะอาดปราศจากอินทรีย์สารต่างๆ การล้างต้องล้างด้วยสารละลายของกรดโครมิก (chromic acid solution) หลังจากนั้นนำขวดมาล้างด้วยน้ำให้สะอาด ครั้งสุดท้ายล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้งหนึ่งแล้วทำให้แห้ง

2. ตู้อินคิวเบท (Incubator) ซึ่งสามารถควบคุมและปรับอุณหภูมิได้เองโดยอัตโนมัติที่  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$  และต้องเป็นตู้ซึ่งสามารถป้องกันไม่ให้แสงผ่านเข้าไปได้ เพื่อป้องกันการเกิดดีโอโดยการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis)

3. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ เช่น บิวเรตต์ (Burette) ขนาด 25 มิลลิลิตร ขวดเออร์เลนเมเยอร์ (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร กระจกตวง (graduated cylinder) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร และปิเปต (pipette)

4. เครื่องจ่ายลม แบบเดียวกับที่ใช้กับตู้เลี้ยงปลา และหัวจ่ายลม

## สารเคมี

### 1. น้ำกลั่น

จะต้องมีคุณภาพดี กลั่นจากเครื่องกลั่นที่ทำด้วยแก้วและต้องเป็นน้ำกลั่นซึ่งมีปริมาณทองแดงน้อยกว่า 0.001 มก./ล ปราศจากคลอรีน คลอรามีน ความเป็นด่างเนื่องจากไฮดรอกไซด์ อินทรีย์สาร และกรด อาจเตรียมได้โดยการนำมาต้มก่อน และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

### 2. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 8.5 กรัม ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) 21.75 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตาไฮเดรต ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 33.4 กรัม และ แอมโมเนียมคลอไรด์ ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) 1.7 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วเจือจางปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะมีค่าพีเอชเท่ากับ 7.2

ข้อควรระวัง : ให้เททิ้งทันทีถ้าพบเห็นการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในขวดเก็บสารละลาย (stock bottle)

### 3. สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต

ละลายแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 22.5 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 มิลลิลิตร

4. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ละลายแอนไฮดรัสแคลเซียมคลอไรด์ (anhydrous  $\text{CaCl}_2$ ) 27.5 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 มิลลิลิตร

5. สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์

ละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เฮกซาไฮเดรต ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 0.25 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 มิลลิลิตร

6. สารละลายกรดและด่างเข้มข้น 1 โมลาร์ ใช้สำหรับปรับตัวอย่างน้ำที่เป็นกรดและด่างให้เป็นกลางก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์

7. สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ 0.0125 โมลาร์

ละลายแอนไฮดรัสโซเดียมซัลไฟต์ ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) 1.575 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร (สารละลายนี้ไม่อยู่ตัว ต้องเตรียมในวันที่จะใช้เท่านั้น)

8. ไนตริฟิเคชัน อินฮิบิเตอร์ (nitrification inhibitor) ได้แก่ 2.2% 2-คลอโร 6-ไตรคลอโรเมทิลไพริดีน (2-chloro-6-trichloromethyl pyridine หรือ CTCMP)

9. สารละลายกลูโคสและกรดกลูตามิก (Glucose-glutamic acid solution) นำกลูโคสและกรดกลูตามิก ซึ่งอบแห้งที่  $103^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 1 ชั่วโมง อย่างละ 150 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น และเจือจางเป็นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ ทุกครั้งก่อนใช้)

10. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต

ละลายแมงกานีสซัลเฟตเตตราไฮเดรต ( $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) 480 กรัม หรือแมงกานีสซัลเฟตไดไฮเดรต ( $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 400 กรัม หรือ แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 364 กรัม ในน้ำกลั่น กรอง แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะต้องไม่เกิดสีกับน้ำแข็ง เมื่อเติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ในสภาพที่เป็นกรด

11. สารละลายอัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์ (alkali-iodide-azide reagent)

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{NaOH}$ ) 500 กรัม และโซเดียมไอโอไดด์ ( $\text{NaI}$ ) 135 กรัม (หรือ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{KOH}$ ) 700 กรัม และโพแทสเซียมไอโอไดด์ ( $\text{KI}$ ) 150 กรัม) ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมโซเดียมเอไซด์ ( $\text{NaN}_3$ ) 10 กรัม ซึ่งละลายในน้ำกลั่นจำนวน 40 มิลลิลิตร ก่อนที่จะใช้เติมในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้น สารละลายนี้จะต้องไม่เกิดสีกับน้ำแข็งเมื่อทำให้เป็นกรดหรือทำให้เจือจาง

12. กรดกำมะถันเข้มข้น

13. น้ำแข็ง

ละลายแป้ง (Soluble Starch) 5 กรัม ในน้ำที่ร้อน 800 มิลลิลิตร เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด 2-3 นาที ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน ใช้แต่น้ำใส และเติมกรด ซาลิไซลิก (Salicylic acid) 1.25 กรัม ต่อน้ำแป้ง 1 ลิตร

#### 14. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮโอซัลเฟต 0.1 นอร์มัล

ละลายโซเดียมไฮโอซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) จำนวน 24.82 กรัม ในน้ำต้มที่เย็นแล้ว ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เก็บรักษาโดยการเติมคลอโรฟอร์ม 5 มิลลิลิตร หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 กรัมต่อสารละลาย 1 ลิตร

#### 15. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮโอซัลเฟต 0.025 โมลาร์

เจือจางสารละลายโซเดียมไฮโอซัลเฟต 0.1 นอร์มัล จำนวน 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เก็บรักษาโดยการเติมคลอโรฟอร์ม 5 มิลลิลิตร หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 กรัม ต่อสารละลาย 1 ลิตร สารละลายนี้ต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลายมาตรฐานไดโครเมต

### การเตรียมตัวอย่างน้ำก่อนการวิเคราะห์ (Pretreatment)

1. ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำไม่เป็นกลาง จะต้องทำให้มีพีเอช 6.5 - 7.5 ด้วยกรดกำมะถัน 0.5 โมลาร์ หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ และต้องระวังไม่ให้ปริมาตรของตัวอย่างน้ำเปลี่ยนแปลงมากกว่า 0.5%

2. ในกรณีที่น้ำตัวอย่างมีคลอรีนตกค้างจะต้องกำจัดออกก่อน โดยปกติกคลอรีนตกค้างจะลดลงเองเมื่อตั้งทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง แต่ถ้าในตัวอย่างน้ำมีคลอรีนตกค้างปริมาณมาก ๆ จะต้องกำจัดโดยเติมสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ ซึ่งจะทราบปริมาณที่จะต้องเติมไปเท่าใด โดยนำตัวอย่างน้ำมาในปริมาณที่เหมาะสม (ระหว่าง 100 - 1,000 มิลลิลิตร) เติมกรดแอสติก (กรดเข้มข้น+น้ำกลั่น = 1+1 ส่วน) หรือ กรดกำมะถัน (กรดเข้มข้น+น้ำกลั่น = 1+50 ส่วน) 10 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 10 มิลลิลิตร (เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 10 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร) แล้วไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ 0.0125 โมลาร์ โดยใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์ นำปริมาณของสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ที่ใช้ไทเทรตไปคำนวณหาปริมาณโซเดียมซัลไฟต์ที่ต้องใช้เติมมิลลิลิตรลงในตัวอย่างน้ำที่ปรับพีเอชแล้วหลังจากเติมสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ตามปริมาณที่คำนวณได้ลงในตัวอย่างแล้วควรรวให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10-20 นาที ข้อควรระวัง โซเดียมซัลไฟต์ที่มากเกินไปจะใช้ออกซิเจนและทำปฏิกิริยาอย่างช้าๆกับสารประกอบพวกคลอรามินซึ่งอาจพบในตัวอย่างน้ำที่มีคลอรีน



3. ในกรณีตัวอย่างน้ำอิ่มตัวยิ่งยวด (supersaturated) ด้วยออกซิเจนละลาย คือ ตัวอย่างน้ำที่มีออกซิเจนละลายมากกว่า 9 มก./ล ที่  $20^{\circ}\text{C}$  ซึ่งอาจพบได้ในน้ำที่เย็นจัด หรือในน้ำที่มีการสังเคราะห์แสงเกิดขึ้น ให้ลดออกซิเจนละลายอยู่ในชั้นอิ่มตัว โดยเตรียมตัวอย่างให้มีอุณหภูมิ  $20^{\circ}\text{C}$  และบรรจุลงในขวดแก้วเพียงบางส่วนไม่ให้เต็มแล้วเขย่าอย่างแรง หรือโดยการเป่าอากาศอัดที่กรองสะอาดแล้วผ่านลงไปทั้งนี้เพื่อป้องกันการสูญเสียออกซิเจนละลายในการวิเคราะห์

4. การปรับอุณหภูมิของตัวอย่าง ทำให้อุณหภูมิของตัวอย่างคงที่ประมาณ  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$  ก่อนทำการวิเคราะห์

5. ตัวอย่างน้ำที่มีโลหะหนักหรือสารที่เป็นพิษชนิดอื่นๆ เจือปนอยู่ จะต้องศึกษาและกำจัดเสียก่อนเป็นเฉพาะกรณี

6. ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำเกิดไนตริฟิเคชัน ต้องทำการยับยั้งโดยเติม 2-คลอโร 6-ไตรคลอโรเมทิลไพริดีน (2-chloro-6-trichloromethyl pyridine หรือ CTCMP) 3 มิลลิกรัมต่อตัวอย่างน้ำ 300 มิลลิลิตร หรือเติมในตัวอย่างน้ำเจือจางจนมีความเข้มข้น 10 มก./ล ก่อนก็ได้

### วิธีวิเคราะห์ค่าบีโอดีแบบโดยตรง

#### 1. วิธีวิเคราะห์

1.1 นำตัวอย่างน้ำมาปรับอุณหภูมิให้ได้  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$

1.2 เติมหอากาศผ่านหัวจ่ายลม ให้มีออกซิเจนละลายอิ่มตัว ใช้เวลาประมาณ 10 - 15 นาที

1.3 รินตัวอย่างน้ำลงขวดบีโอดีจนเต็ม 3 ขวด ปิดจุกให้สนิท ดูให้มีน้ำหล่อที่ปากขวด นำขวดหนึ่ง มาหาค่าออกซิเจนที่ละลายก่อน ถือว่าเป็นออกซิเจนละลายที่มีเริ่มต้น สมมติเป็น  $\text{DO}_0$  อีกสองขวด นำไปอินคิวเบตอุณหภูมิ  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 5 วัน

1.4 หลังจาก 5 วันแล้ว นำตัวอย่างนั้นมาหาค่าออกซิเจนละลายที่เหลืออยู่ สมมติเป็น  $\text{DO}_5$

#### 2. การคำนวณ

$$\text{ค่าบีโอดี (มก ออกซิเจน / ลิตร)} = \text{DO}_0 - \text{DO}_5$$

เมื่อ  $\text{DO}_0$  = ค่าออกซิเจนละลายที่ไทเทรตได้ในวันแรก

$\text{DO}_5$  = ค่าออกซิเจนละลายที่ไทเทรตได้ในวันที่ 5 ( ค่าเฉลี่ยของ 2 ขวดที่เหลือ)

### วิธีวิเคราะห์แบบเจือจางที่ไม่ต้องเติมหัวเชื้อ (No seed)



### 1. การเตรียมน้ำผสมเชื้อจาง

น้ำเชื้อจาง หมายถึง น้ำสะอาดซึ่งมีออกซิเจนละลายอยู่มากหรือเกือบอิ่มตัว วิธีเตรียมทำได้โดยการพ่นอากาศเข้าไปในน้ำ น้ำสำหรับเชื้อจางต้องมีพีเอชที่เหมาะสม และมีสารที่จำเป็นแก่การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย วิธีเตรียมมีดังนี้

1.1 นำน้ำกลั่นที่ปราศจากสารมีพิษซึ่งกลั่นจากเครื่องกลั่นที่ทำด้วยแก้วมาปรับอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$

1.2 ปรับคุณภาพน้ำให้เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์โดยเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์, แมกนีเซียมซัลเฟต, แคลเซียมคลอไรด์ และ เพอริกคลอไรด์ อย่างละ 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำกลั่น 1,000 มิลลิกรัม

1.3 เติมอากาศให้มีออกซิเจนละลายอิ่มตัว

### 2. การตรวจสอบคุณภาพน้ำผสมเชื้อจาง (dilution water check)

เติมน้ำผสมเชื้อจางที่ยังไม่ได้ใส่หัวเชื้อลงในขวดปิไอดี 3 ขวด ขวดหนึ่ง นำไปหาค่าออกซิเจนละลายทันที อีก 2 ขวดปิดจุกแล้วนำไปอินคิวเบตที่อุณหภูมิ  $20^{\circ}\text{C}$  หลังจากนั้นนำมาหาค่าการใช้ออกซิเจนไป หลังจากอินคิวเบต 5 วัน และไม่ต้อง นำไปใช้ในการคำนวณ ผลต่างของค่าออกซิเจนละลายก่อนและหลัง 5 วัน ที่  $20^{\circ}\text{C}$  ไม่ควรเกิน 0.2 มก./ล และถ้าจะยิ่งดีถ้าไม่เกิน 0.1 มก./ล

### 3. วิธีวิเคราะห์

3.1 การเลือกปริมาณตัวอย่างที่จะใช้ ถ้าไม่ทราบค่าปิไอดีโดยประมาณของตัวอย่างน้ำต้องหาค่าปิไอดีก่อน พร้อมกับพิจารณาลักษณะของตัวอย่างน้ำ แล้วเก็บตัวอย่างน้ำร่วมด้วย เพื่อกะประมาณค่าปิไอดี เช่น น้ำตัวอย่างที่มีค่าของแข็งละลายมาก ควรจะมีค่าปิไอดี ร้อยละ 60-70 ของซีไอดี หรือเมื่อทราบว่าเป็นน้ำเสียชุมชนก็ควรมีค่าปิไอดีระหว่าง 100-300 มก./ล การเลือกปริมาณตัวอย่างน้ำนิยมเลือกให้มีปริมาณออกซิเจนเหลืออยู่อย่างน้อย 1 มก./ล และควรมีการใช้ออกซิเจนอย่างน้อย 2 มก./ล เมื่อทราบค่าปิไอดีโดยประมาณ ควรเลือกปริมาณตัวอย่างที่คาดว่าจะให้ค่าปิไอดีอยู่ในช่วงที่กำหนด แล้วจึงเลือกปริมาณตัวอย่างที่ใช้ให้สูงและต่ำกว่าที่อยู่ติดกันตามตาราง ค-1 เช่น ประมาณค่าปิไอดีไว้ประมาณ 100 มก./ล จะเลือกใช้ปริมาณตัวอย่าง 10.0 มิลลิกรัม เลือกสูงขึ้นเป็น 20.0 มิลลิกรัม และต่ำลงเป็น 5.0 มิลลิกรัม

ตาราง ค-1 การเลือกขนาดตัวอย่างและอัตราเจือจางสำหรับช่วงบีโอดีต่าง ๆ

ปริมาณตัวอย่าง (มิลลิลิตร)	ช่วงบีโอดี (มก./ล)	อัตราเจือจาง
0.02	30,000-105,000	15,000
0.05	12,000-42,000	6,000
0.10	6,000-21,000	3,000
0.20	3,000-10,500	1,500
0.50	1,200-4,200	600
1.0	600-2,100	300
2.0	300-1,050	150
5.0	120-420	60
10.0	60-210	30
20.0	30-105	15
50.0	12-42	6
100.0	6-21	3
300.0	0-7	1

3.2 เมื่อเลือกปริมาณตัวอย่างได้แล้ว ปิเปตตัวอย่างตามจำนวนที่เลือกไว้ลงในขวดบีโอดี ขนาด 300 มิลลิลิตร อย่างละ 3 ขวด เติมน้ำสำหรับเจือจางจนเต็มขวดบีโอดี ต้องระมัดระวังพยายามอย่าให้เกิดฟองอากาศ ปิดฝาให้แน่น นำขวดบีโอดีขวดหนึ่งของแต่ละปริมาณที่เลือก มาหาค่าออกซิเจนละลายที่มีเริ่มต้น สมมติเป็น  $DO_0$  ส่วนอีก 2 ขวดนำไปป่มที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่  $20^{\circ}C$  เป็นเวลา 5 วัน

3.3 เมื่อครบ 5 วัน นำขวดบีโอดีที่ป่มไว้มาหาค่าออกซิเจนละลายที่เหลืออยู่ สมมติเป็น  $DO_5$

#### 4. การคำนวณ

$$\text{ค่าบีโอดี (มก. ออกซิเจน / ลิตร)} = (DO_0 - DO_5) \times \text{อัตราส่วนเจือจาง}$$

เมื่อ  $DO_0$  = ค่าออกซิเจนละลายที่ไทเทรตได้ในวันแรก

$DO_5$  = ค่าออกซิเจนละลายที่ไทเทรตได้ในวันที่ 5

(ค่าเฉลี่ยของ 2 ขวด)

$$\text{อัตราเจือจาง} = \frac{\text{ปริมาตรน้ำเต็มขวดบีโอดี 300 มิลลิลิตร}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้}}$$

### วิธีวิเคราะห์แบบเจือจางที่ต้องเติมหัวเชื้อ (Seeding)

#### 1. วิธีวิเคราะห์

1.1 การเลือกปริมาณตัวอย่าง และวิธีทำเหมือนกับกรณีไม่ต้องเติมหัวเชื้อ เพียงแต่เติมหัวเชื้อปริมาณเท่ากันลงในแต่ละชุด ปริมาตรของหัวเชื้อที่จะใช้ควรมีค่าบีโอดีประมาณ 0.6-1.0 มก./ล เนื่องจากการเติมหัวเชื้อเช่นนี้จะทำให้ปริมาณการใช้ออกซิเจนละลายเพิ่มขึ้น จึงต้องทำการแก้ค่าบีโอดีที่ผิดพลาดเนื่องจากการเติมหัวเชื้อ (Seed correction) ทุกครั้ง เพื่อนำมาคำนวณหาค่าบีโอดีที่แท้จริงของตัวอย่าง

1.2 การแก้ค่าเนื่องจากการเติมหัวเชื้อ กระทำโดยการนำหัวเชื้อมาหาค่าการใช้ออกซิเจนหรือค่าบีโอดี เริ่มด้วยการหาค่าออกซิเจนละลายเริ่มต้น (B 1) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20<sup>0</sup>ซ เป็นเวลา 5 วัน จึงนำมาหาค่าออกซิเจนละลาย (B 2)

#### 2. การคำนวณ

$$\text{ค่าบีโอดี (มก. ออกซิเจน / ลิตร)} = [(D1 - D2) - (B1 - B2) f] \times \text{อัตราเจือจาง}$$

เมื่อ D1 = ค่าออกซิเจนละลายเริ่มต้นของตัวอย่างที่มีการเติมหัวเชื้อ

D2 = ค่าออกซิเจนละลายที่เวลา 5 วัน ของตัวอย่างที่มีการเติมหัวเชื้อ

B1 = ค่าออกซิเจนละลายเริ่มต้นของหัวเชื้อ

B2 = ค่าออกซิเจนละลายที่เวลา 5 วันของหัวเชื้อ

$$f = \frac{\text{ปริมาตรของหัวเชื้อที่เติมลงในขวดบีโอดีตัวอย่าง}}{\text{ปริมาตรของหัวเชื้อที่ใช้ในการทำ Seed correction}}$$

$$\text{อัตราเจือจาง} = \frac{\text{ปริมาตรน้ำเต็มขวดบีโอดี 300 มิลลิลิตร}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้}}$$

### ข้อเสนอแนะในการหาค่าบีโอดี

1. เนื่องจากน้ำกลั่นที่ใช้ อาจจะมีสารเป็นพิษเจือปนอยู่ โดยเฉพาะทองแดงซึ่งจะทำให้หัวเชื้อประสิทธิภาพลดลง มีผลทำให้ค่าบีโอดีที่ได้ต่ำกว่าความเป็นจริง ดังนั้นน้ำกลั่นที่ใช้จะต้องมีปริมาณทองแดงน้อยกว่า 0.001 มก./ล

2. การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ (seed) เพื่อให้ได้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ ในการย่อยสลายจำเป็นต้องเลือกหัวเชื้อที่เหมาะสมกับตัวอย่างแต่ละชนิด โดยทั่วไปใช้น้ำจากน้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อมาก่อนเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์

3. การผสมเชื้อจาก เนื่องจากการวิเคราะห์ค่าบีโอดีอาศัยปฏิกิริยาทางชีวเคมีโดยมีจุลินทรีย์เป็นตัวกลางในการย่อยสลาย สภาวะแวดล้อมจะมีผลต่อการวิเคราะห์มาก ทำให้ค่าบีโอดีที่ได้มีความผันแปรสูง การวิเคราะห์ตัวอย่างหนึ่งๆ จึงมักจะทำการผสมเชื้อจากหลายๆ ความเข้มข้น (โดยทั่วไปไม่น้อยกว่า 3 ความเข้มข้น) ส่วนอัตราส่วนการในการผสมเชื้อจากอาจประมาณจากชนิดตัวอย่าง ตามตาราง ค-2 ที่แสดงการเชื้อจากและชนิดตัวอย่างน้ำ

ตาราง ค-2 การเชื้อจากและชนิดตัวอย่างน้ำ

DILUTION	TYPE OF SAMPLE
0.0 - 1.0 %	STRONG INDUSTRIAL WASTES
1 - 5 %	RAW & SETTLED WASTEWATER
5 - 25 %	BIOLOGICALLY TREATED EFFLUENT
25 - 100 %	POLLUTED RIVER WATERS

4. น้ำสำหรับเชื้อจาก ควรเตรียมในวันที่จะวิเคราะห์ และต้องแน่ใจว่าน้ำเชื้อจากอิมัตด้วยออกซิเจน ภาชนะที่ใส่น้ำเชื้อจากเมื่อใช้เสร็จแล้ว ควรเททิ้ง และล้างให้สะอาดเพื่อป้องกันการเจริญเจริญเติบโตของสาหร่าย

## ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand, COD)<sup>7</sup>

### หลักการ

การวิเคราะห์หาค่าซีโอดี เป็นการวัดความสกปรกของน้ำเสีย โดยคิดเปรียบเทียบในรูปของปริมาณออกซิเจนที่ต้องการใช้ในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ โดยใช้สารเคมีซึ่งมีอำนาจในการออกซิไดส์สูงในสารละลายที่เป็นกรด

## ซีไอดี โดยวิธีรีฟลักซ์แบบเปิด (Open Reflux)

### เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือที่ใช้ในการรีฟลักซ์ (Reflux apparatus) ประกอบด้วย

1. ขวดเออร์เลนเมเยอร์ ขนาดความจุ 250 ลบ.ซม. หรือขวดกลมก้นแบน (flat – bottom flask) ชนิดที่มีปากแบบกรวยจอยท์ด้านใน ขนาด 24/40
2. เครื่องควบแน่น (Condenser) ซึ่งมีแจ็คเก็ต (Jacket) ขนาด 300 มม. มีกรวยจอยท์ด้านนอก ขนาด 24/40
3. เตาชนิด hot plate หรือ heating mantle ซึ่งสามารถให้กำลังไฟฟ้าอย่างน้อย 1.4 วัตต์/ตร.ซม. ที่ผิวหน้าเตา

### รีเอเจนต์

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (Standard potassium dichromates solution) เข้มข้น 0.0417 โมล/ลบ.ดม.
2. กรดซัลฟิวริกรีเอเจนต์
3. สารละลายมาตรฐานไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟตไทแทนท์ (Standard ferrous ammonium sulfate titrant) เข้มข้น 0.25 โมล / ลบ.ดม.
4. สารละลายเฟอโรอินอินดิเคเตอร์ (ferroin indicator solution)
5. เมอร์คิวรี (II) ซัลเฟต ชนิด เออาร์ (Mercury (II) sulfate, analytical grade crystals,  $\text{HgSO}_4$ )
6. กรดซัลฟามิก ชนิด เออาร์ (sulfamic acid, analytical grade)
7. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท

### วิธีวิเคราะห์

1. ใส่เมอร์คิวรี (II) ซัลเฟต ( $\text{HgSO}_4$ ) ประมาณ 0.4 กรัม ลงในขวดรีฟลักซ์ เติมน้ำหรือน้ำที่ช่วยให้เจือจางแล้วลงไป 20 ลบ.ซม. เขย่าให้เข้ากัน เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตจำนวน 10 ลบ.ซม. แล้วค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ซึ่งมีซัลเฟอร์ซัลเฟตเจือปนอยู่ จำนวน 30 ลบ.ซม. ลงไป ใส่ลูกแก้ว 5-6 เม็ด เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเดือดอย่างรุนแรง

2. นำขวดรีฟลักซ์ต่อเข้ากับเครื่องควบแน่น ใช้ปิเปกเกอร์เล็กๆ ปิดปลายด้านบนเปิดของเครื่องควบแน่นเพื่อป้องกันสารต่างๆจากภายนอกหลุดเข้าไป แล้วรีฟลักซ์หรือต้มให้เดือดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น ล้างเครื่องควบแน่นด้วยน้ำกลั่นก่อนที่จะถอดเครื่องควบแน่นออกจากขวดรีฟลักซ์
3. ทำส่วนผสมให้เจือจางลงด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรประมาณ 150 ลบ.ซม. ทำให้เย็นลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วจึงไตเตรตหาปริมาณไดโครเมตที่มากเกินไปด้วยสารละลายมาตรฐานไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้เฟอโรอินเป็นอินดิเคเตอร์ซึ่งโดยทั่วไปใช้ประมาณ 2-3 หยด หรือ 0.1-0.15 ลบ.ซม. ถึงแม้ว่าปริมาณอินดิเคเตอร์ที่ใช้จะไม่มีความสำคัญมากนัก แต่ควรใช้เท่ากันทุกๆตัวอย่าง การเปลี่ยนสีของส่วนผสมเมื่อถึงจุดยุติจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเขียวไปเป็นสีน้ำตาลแดง ควรจะใช้เมื่อตอนที่สีเริ่มเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลแดงทันที ถึงแม้ว่าเมื่อตั้งทิ้งไว้สักครู่หนึ่งสีนั้นอาจเปลี่ยนกลับไปเป็นสีน้ำเงินเขียวใหม่ก็ตาม
4. การทำแบลงค์ควรทำไปพร้อมกับตัวอย่าง ใช้น้ำกลั่น 20.00 ลบ.ซม. แทนตัวอย่างน้ำเตมีรีเอเจนต์ต่างๆที่ใช้ และทำการรีฟลักซ์เช่นเดียวกับตัวอย่างทุกประการ

#### การวิเคราะห์ตัวอย่างมาตรฐาน

เพื่อที่จะตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์และคุณภาพของรีเอเจนต์ที่ใช้ โดยตรวจสอบกับสารละลายกลูโคสหรือโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท (potassium hydrogen phthalate) ซึ่งในทางทฤษฎีเมื่อละลายกลูโคส จำนวน 468.6 มก. ในน้ำกลั่นแล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 ลบ.ซม. จะให้ค่าซีไอดี 500 มก./ลบ.ดม. (กลูโคส 1 กรัม มีค่าซีไอดี 1,067 กรัม) ส่วนโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท ซึ่งอบที่ 120°ซ จนมีน้ำหนักคงที่ จำนวน 425 มก. ละลายในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 ลบ.ซม. จะให้ค่าซีไอดี 500 มก./ลบ.ดม. (โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท 1 กรัม มีค่าซีไอดี 1.176 กรัม)

#### การคำนวณ

$$\text{ซีไอดี (มก./ลบ.ดม.)} = \frac{(A - B) M \times 8,000}{\text{ลบ.ซม. ของตัวอย่าง}}$$

A = ลบ.ซม. ของไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งใช้ไทเทรตสำหรับแบลงค์

B = ลบ.ซม. ของไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งใช้ไทเทรตสำหรับตัวอย่างน้ำ

M = โมล/ลบ.ดม. ของไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต



## ซีไอดี โดยวิธีรีฟลักซ์แบบปิด (Closed Reflux)

### หลักการทั่วไป

สารอินทรีย์ที่ระเหยจะสามารถถูกออกซิไดซ์ได้มากกว่าในระบบเปิดเพราะมีเวลาสัมผัสกับสารออกซิไดซ์ได้นานกว่า ก่อนทำการทดลองควรตรวจสอบว่าปิดหลอดแก้วว่ามีรอยแตกตรงรอยต่อของ TFE liner หรือไม่ การเลือกขนาดของหลอดที่ใช้ขึ้นอยู่กับความไวที่ต้องการ สำหรับตัวอย่างน้ำที่มีค่าซีไอดีต่ำควรใช้หลอดแก้วขนาด 25 x 150 มม. เพราะจะต้องใช้ปริมาตรตัวอย่างน้ำที่มาก

### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ภาชนะที่ใช้ในการย่อยสลาย ควรใช้หลอดทดลองที่เป็นบอโรซิลิเกต ซึ่งมีขนาด 16 x 100 มม. หรือ 20 x 150 มม. หรือ 25 x 150 มม. พร้อมทั้งฝาจุกที่บุด้วย TFE หรือใช้บอโรซิลิเกตแอมพูล ขนาดความจุ 10 ลบ.ซม. เส้นผ่านศูนย์กลาง 19 – 20 มม.
2. ฮีตติงบล็อค เป็นอลูมิเนียมหล่อมีช่องหลายช่องซึ่งมีความลึก 45 ถึง 50 มม. เป็นช่องที่จะให้หลอดหรือแอมพูลตั้งอยู่ได้พอดี
3. เครื่องให้ความร้อนหรือเตาอบให้ความร้อนอยู่ระหว่าง  $150 \pm 2$  °ซ

### รีเอเจนต์

1. น้ำยาย่อยสลายสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ความเข้มข้น 0.0167 โมลาร์
2. กรดซัลฟิวริกรีเอเจนต์
3. เพอโรอิน อินดิเคเตอร์
4. สารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

การคำนวณ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต (FAS)

$$\text{โมลาริตีของ FAS} = \frac{\text{ปริมาตรของ 0.0167 โมลาร์ } K_2Cr_2O_7 \times 0.10}{\text{ปริมาตร FAS ที่ใช้ไทเทรต}}$$

ปริมาตร FAS ที่ใช้ไทเทรต

5. กรดซัลฟามิก เพื่อแก้สารแทรกสอดเนื่องจากไนไตรต์

## 6. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท

### วิธีวิเคราะห์

- ล้างหลอดย้อยสลายนและฝาจุกด้วยกรดซัลฟิวริกร้อยละ 20 ก่อนนำไปใช้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนด้วยสารอินทรีย์
- เลือกใช้ปริมาตรของตัวอย่างน้ำและสารเคมีที่เหมาะสม
- นำตัวอย่างน้ำมาใส่หลอดย้อยสลายน หรือแอมพูล เดิมสารละลายที่ใช้ในการย้อยสลายน ซึ่งได้แก่สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต
- ค่อยๆ เทกรดซัลฟิวริก รีเอเจนต์ ให้ไหลลงก้นหลอดแก้วเพื่อให้ชั้นของกรดอยู่ที่ชั้นตัวอย่างน้ำ และน้ำยอย้อยสลายน
- ปิดจุกหลอดแก้วให้แน่น หรือถ้าใช้แอมพูลก็ให้เชื่อมให้สนิท แล้วคว่ำหลอดแก้วไปมาหลายๆ ครั้ง เพื่อผสมให้เข้ากันอย่างทั่วถึง
- นำหลอดทดลองเหล่านี้ไปใส่ในเครื่องย้อยสลายน หรือเตาอบ ซึ่งได้ทำให้ร้อนถึงอุณหภูมิ 150 ° ซ ก่อน ใช้เวลารีฟลักซ์ 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง โดยนำหลอดทดลองมาวางไว้ใน test tube rack
- เปิดฝาจุก แล้วจึงใส่แท่งแม่เหล็กที่หุ้มด้วย TFE ถ้าใช้แอมพูลให้เทของผสมลงไปในภาชนะที่ใหญ่กว่าเพื่อนำไปไทเทรต เติมเฟอโรอินอินดิเคเตอร์ 0.05-0.1 ลบ.ซม. คนโดยใช้เครื่องกวนชนิดใช้แม่เหล็ก อย่างเร็วในขณะที่ไทเทรต ด้วย 0.1 โมลาร์ FAS จุดยุติจะเปลี่ยนอย่างรวดเร็วจากฟ้าอมเขียวเป็นน้ำตาลแดง ถึงแม้บางครั้งสีฟ้าอมเขียวอาจจะกลับมาให้เห็นอีกในระยะเวลาอันสั้นก็ตาม ให้ถือว่าจุดยุติอยู่ที่สีน้ำตาลแดงครั้งแรก
- รีฟลักซ์น้ำกลั่นแล้วไทเทรตแบบลงคซึ่งมีรีเอเจนต์และปริมาตรน้ำกลั่นเท่ากับปริมาตรของตัวอย่างน้ำที่ใช้

### การคำนวณ

$$\text{ซีไอดี, มก.ออกซิเจน /ลบ.ดม.} = \frac{(A - B) \times M \times 8,000}{\text{ลบ.ซม. ตัวอย่างน้ำ}}$$

โดย A = ลบ.ซม.ของ FAS ที่ใช้ในการไทเทรตแบบลงค

B = ลบ.ซม.ของ FAS ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่างน้ำ

M = โมลาริตีของ FAS

## วิธีวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved oxygen ,DO)<sup>7</sup>

### หลักการ

การหาค่าออกซิเจนละลาย คือการหาปริมาณออกซิเจน ซึ่งละลายในน้ำอันเป็นลักษณะสำคัญที่จะบอกให้ทราบว่าน้ำนั้นมีความเหมาะสมเพียงใดต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำและแนวทางการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในน้ำว่าเป็นแบบใด ใช้ออกซิเจนอิสระหรือไม่ใช้ออกซิเจนอิสระ การหาค่าออกซิเจนละลาย สามารถวิเคราะห์ได้หลายวิธี

1. วัดโดยใช้เครื่อง DO meter (oxygen meter) เป็นเครื่องมือที่สามารถวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในสารละลายเป็น มก / ลิตร ได้โดยตรง
2. วิธีทางเคมี โดยวิธี Azide Modification of Iodometric Method ซึ่งเหมาะสำหรับใช้วิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนในน้ำที่สกปรก เช่น น้ำทิ้ง

### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดบีโอดี (BOD bottle) ขนาด 300 มิลลิลิตร
2. ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 200 มิลลิลิตร
3. บิวเรตต์ (Burette)
4. ขวดเออร์เลนเมเยอร์ (erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร

### สารเคมี

1. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต
 

ละลาย แมงกานีสซัลเฟตเตตราไฮเดรต ( $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) 480 กรัม หรือ แมงกานีสซัลเฟตไดไฮเดรต ( $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 400 กรัมหรือ แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 364 กรัมในน้ำกลั่น กรอง แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
2. สารละลายอัลคาไล-ไอโอดด์-เอไซด์ (alkali-iodide-azide reagent)
 

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{NaOH}$ ) 500 กรัม และโซเดียมไอโอดด์ ( $\text{NaI}$ ) 135 กรัม (หรือ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ( $\text{KOH}$ ) 700 กรัม และโพแทสเซียมไอโอดด์ ( $\text{KI}$ ) 150 กรัม) ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมโซเดียมเอไซด์ ( $\text{NaN}_3$ ) 10 กรัม ซึ่งละลายในน้ำกลั่นจำนวน 40 มิลลิลิตร ก่อนที่จะใช้เติมลงในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้น สารละลายนี้จะต้องไม่เกิดสีกับน้ำแข็งเมื่อทำให้เป็นกรดหรือทำให้เจือจาง

## 3. กรดกำมะถันเข้มข้น

## 4. น้ำแป้ง

ละลายแป้ง (Soluble Starch) 5 กรัม ในน้ำที่ร้อน 800 มิลลิลิตร เติมน้ำให้ได้ ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือด 2-3 นาที ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน ใช้แต่น้ำใส และเติมกรด ซาลิไซลิก (Salicylic acid) 1.25 กรัม ต่อน้ำแป้ง 1 ลิตร การเตรียมน้ำแป้งให้ต้มน้ำบน Hot plate ให้ เดือดก่อน จึงเทแป้งที่ซั่งไว้ลงไป และคอยกวนตลอดเวลาจนน้ำแป้งใส หลังจากนั้นก็เติมกรด ซาลิไซลิก เพื่อกันบูด

## 5. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 นอร์มัล

ละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเพนตาไฮเดรต ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 6.5 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับ ปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ให้ใส่โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 กรัม ลงไปด้วยเพื่อให้ใช้ได้นานขึ้น

## 6. สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไบโอไอเดต 0.025 นอร์มัล

ละลายโปแตสเซียมไบโอไอเดต ( $\text{KH}(\text{IO}_3)_2$ ) 0.8124 กรัม ที่อบแห้ง ที่  $105^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมงก่อนใช้ และปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

## 7. สารละลายโพแทสเซียมฟลูออไรด์ (Potassium fluoride solution)

ละลายโพแทสเซียมฟลูออไรด์ไดไฮเดรต ( $\text{KF} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 40 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับ ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

หมายเหตุ : สารละลายนี้ใช้เมื่อน้ำตัวอย่างมีไอออน  $\text{Fe}(\text{III})$  มากกว่า 1 มก./ล สามารถกำจัดการขัดขวางปฏิกิริยาจากไอออน  $\text{Fe}(\text{III})$  ได้ถึงความเข้มข้น 200 มก./ล

### การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต

1. ละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) ประมาณ 2 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 100 - 150 มิลลิลิตร ในขวดเออร์เลนเมเยอร์

2. เติมกรดกำมะถันเข้มข้น จำนวน 2-3 หยด

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไบโอไอเดต 20 มิลลิลิตร

4. เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 200 มิลลิลิตร

5. ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต โดยใช้แป้งเป็นอินดิเคเตอร์ 3 หยดเมื่อถึงจุดยุติ สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นไม่มีสี

6. คำนวณหาความเข้มข้นและปรับความเข้มข้นให้ได้ 0.025 นอร์มัล

### วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตสารละลายแมงกานีสซัลเฟต 1.0 มิลลิลิตร และอัลคาไล-ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ 1.0 มิลลิลิตร ลงในขวดปิเปตที่ใส่น้ำตัวอย่าง โดยให้ปลายปิเปตอยู่เหนือผิวน้ำตัวอย่างเล็กน้อย

หมายเหตุ : ปิดจุกขวดระวังอย่าให้มีฟองอากาศ โดยค่อย ๆ เอียงจุกลงไปผสมให้เข้ากันโดยคว่ำขวดขึ้นลงหลาย ๆ ครั้ง

2. ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจนได้น้ำใสประมาณ 1/2 ขวด

3. เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตร โดยต้องปิดจุกก่อนตะกอน (Oxidize flocc) จะล้นปากขวด เขย่าให้เข้ากันจนตะกอนในขวดหายหมดไป

4. ถ้าใช้ขวดปิเปต ขนาด 300 มิลลิลิตร จะใช้ตัวอย่างน้ำจากขวดในข้อ 3 เท่ากับ 201 มิลลิลิตร เพื่อนำไปไทเทรต ปริมาตรตัวอย่างนี้มีค่าเท่ากับปริมาตรตัวอย่างน้ำเริ่มต้น 200 มิลลิลิตร เนื่องจากมีการสูญเสียตัวอย่างน้ำจากขวดปิเปต โดยการแทนที่ของสารละลายเคมีที่เติม มิลลิลิตรไปทั้งสิ้น 2 มิลลิลิตร ดังนั้น ปริมาตรตัวอย่าง ซึ่งใช้ในการไทเทรต จึงควรเท่ากับ

$$200 \times 300 = \underline{201 \text{ มิลลิลิตร}}$$

(300-2)

5. ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไดโครเมต 0.025 นอร์มัล จนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแบ่ง 3 หยด จะได้สีน้ำเงินเข้ม ไทเทรตต่อจนสีน้ำเงินหายไป อ่านปริมาตรของสารละลายโซเดียมไดโครเมตที่ใช้ไทเทรต ตัวอย่างน้ำ 201 มิลลิลิตร

#### การคำนวณ

สารละลายมาตรฐานโซเดียมไดโครเมต 1.0 มิลลิลิตร = ออกซิเจนที่ละลาย 1.0 มก./ล

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ง

### การเทียบมาตรฐาน (Calibration)

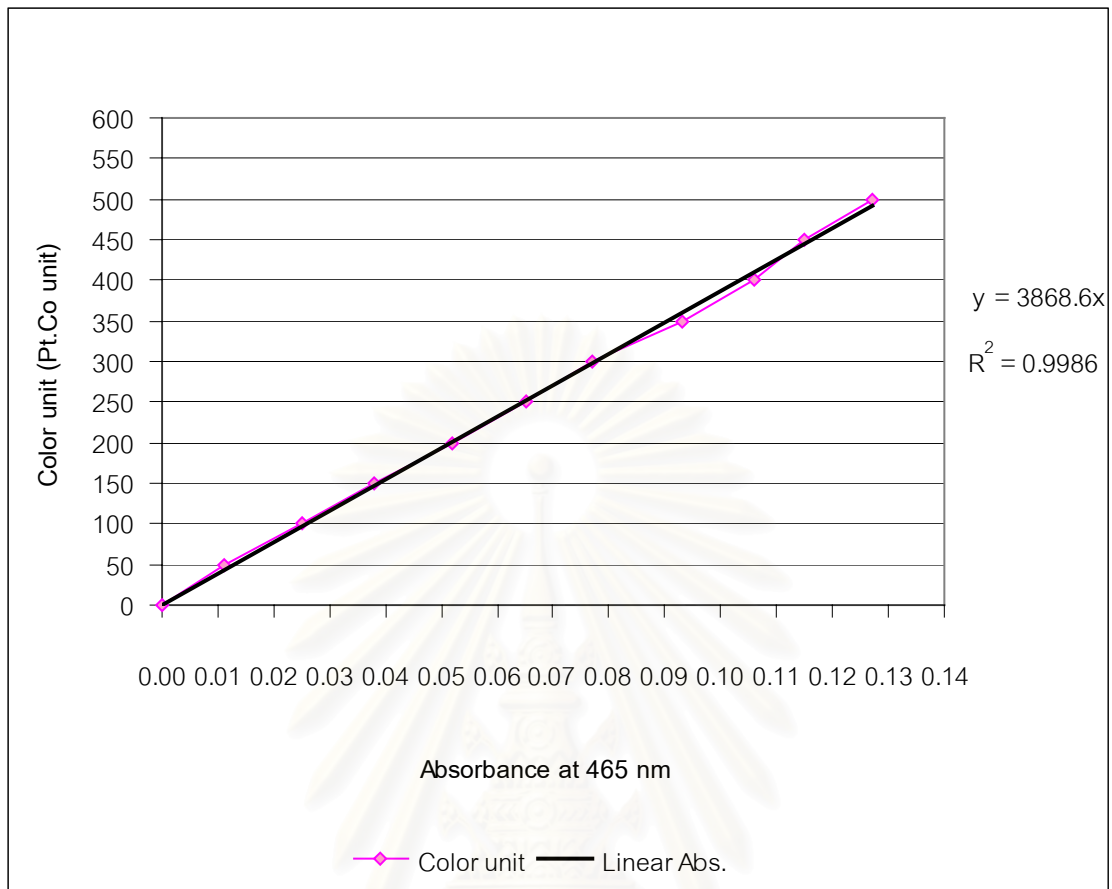
การเทียบมาตรฐานของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์เพื่อใช้ในการคำนวณค่าหน่วยสี (Color unit , Pt.Co unit)

ตาราง ง-1 ข้อมูลการเทียบมาตรฐานของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์เพื่อใช้ในการคำนวณค่าหน่วยสี (Color unit , Pt.Co unit)

ค่าหน่วยสี (Color unit, Pt.Co unit)	แอมป์แบนด์ที่ 465 นาโนเมตร
0	0.000
50	0.011
100	0.025
150	0.038
200	0.052
250	0.065
300	0.077
350	0.093
400	0.106
450	0.115
500	0.127

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูป ง-1 กราฟมาตรฐานของการเทียบมาตรฐานเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์เพื่อใช้  
คำนวณค่า หน่วยสี (Color unit , Pt.Co unit)

จากกราฟมาตรฐานจะสามารถคำนวณค่าหน่วยสีได้ดังนี้

$$\text{ค่าหน่วยสี (Color unit, Pt.Co unit)} = 3868.6 \times \text{ค่าแอมซอร์เบ้นซ์ที่วัดได้}$$

## ภาคผนวก จ

### การคำนวณ

#### Lignin Peroxidase Assay

**หลักการ:** ปฏิริยาของลิกนินเปอร์ออกซิเดส และโมเลกุลลิกนิน เป็นขั้นตอนที่ทำปฏิริยา 2 ครั้ง โดยที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำปฏิริยากับเปอร์ออกซิเดส ได้ผลิตภัณฑ์เป็นอนุมูลอิสระของออกซิเจน จากนั้นอนุมูลอิสระของออกซิเจนจึงเข้าทำปฏิริยาโมเลกุลลิกนิน

**หลักการคำนวณ IU (Beer's law)**

$$A = abc$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลง

a = molar coefficient of product (เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของสาร ซึ่งสารแต่ละชนิดไม่เท่ากัน)

b = ความยาวคิวเวต

c = ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ (ที่เราจะอ่านออกมา)

ต้องการ  $\Delta$ Abs = Absorbency changed in 1 minute

**ตัวอย่าง** จากสูตร ถ้า OD = 0.209 = A

a = 10,000 (ปรกติ veratryl = 9,300)

b = 1

แทนค่า  $\therefore 0.209 = 10,000 (1) c$

$$c = 0.209 \times 10^{-4} \text{ M / min}$$

แต่ปฏิริยาเกิดในคิวเวต = Reaction Mixture

$$\therefore c = 0.209 \times 10^{-4} \text{ mol / l}$$

$$= 0.209 \times 10^{-4} \times 10^{-3} \text{ mol / ml}$$

$$= 0.209 \times 10^{-1} \text{ } \mu\text{mol / ml / min}$$

ถ้าใช้เอนไซม์ 0.1 ml

$$c = 0.209 \times 10^{-1} \text{ } \mu\text{mol / ml / min}$$

$$= 0.209 \text{ U / ml} \longrightarrow \text{IU}$$

**Lignin Peroxidase** (310 nm)

20 mM Veratryl Alcohol 0.1 ml

0.1 M Na-tartrate buffer pH 3 0.7 ml

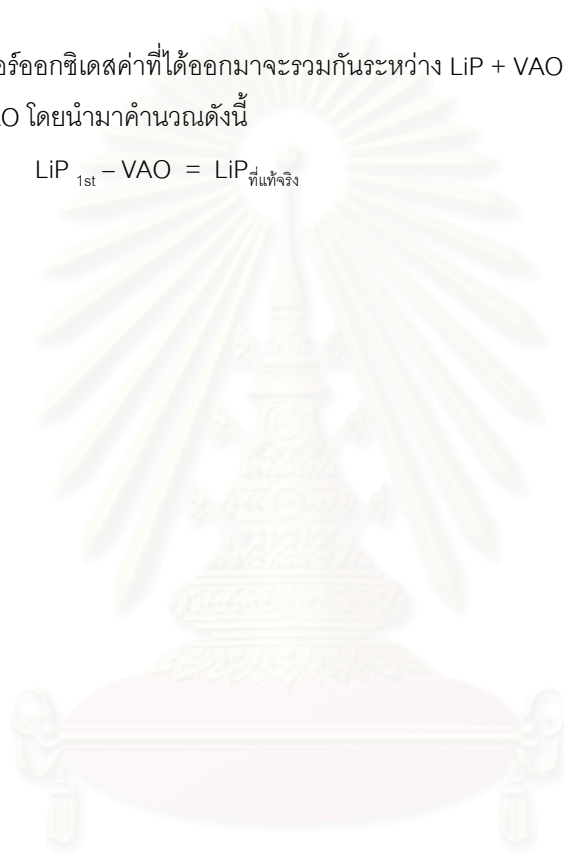
2.5 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.1 ml
Sample	0.1 ml

VAO (Veratryl Alcohol Oxidase) (310 nm)

20 mM Veratryl Alcohol	0.1 ml
0.1 M Na-tartrate buffer pH 3	0.8 ml
Sample	0.1 ml

แต่ปฏิกิริยารีดอกซินเปอร์ออกซิเดสค่าที่ได้ออกมาจะรวมกันระหว่าง LiP + VAO ดังนั้นถ้าต้องการค่าที่แท้จริง จะต้องวัดทั้ง LiP และ VAO โดยนำมาคำนวณดังนี้

$$\text{LiP}_{1\text{st}} - \text{VAO} = \text{LiP}_{\text{ที่แท้จริง}}$$



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ฉ

### ข้อมูลการทดลอง

ตาราง ฉ-1 ข้อมูลการทดลองการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* ในอาหารเหลว PDB

Time(Days )	dry weight (mg / 100ml)				STDEV
	sample 1	sample2	sample3	average	
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.000
1	101.4	105.7	103.6	103.6	2.150
2	165.2	168.4	167.6	167.1	1.665
3	248.4	249.3	242.9	246.9	3.465
4	285.8	290.8	288.3	288.3	2.500
5	343.0	348.5	346.0	345.8	2.754
6	486.9	488.2	485.4	486.8	1.401
7	590.6	593.7	592.4	592.2	1.557
8	586.1	590.2	590.1	588.8	2.339
9	584.7	587.3	587.8	586.6	1.664
10	579.8	585.5	585.9	583.7	3.412

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

WASTE WATER TREATMENT DATA for PULPMILL SCL

Month : December 2001

Report Env. 19

Date	pH	SS	DS	COD	BOD	Grade	Product	Flow	Mill	Different	Index	Ssload		BOD load		COD load	
		ppm	ppm	ppm	ppm							TON	m3/D	m3/D	%	m3/Ton	Kg/D
01-Nov-01	7.08	214	2,634	1,303	368	EUCA	223.2	12,020	12,487	-3.74%	53.85	2,572	11.52	4,423	19.82	15,662	70.17
02-Nov-01	6.97	258	2,598	2,966	794	EUCA	231.6	12,861	12,398	3.73%	55.53	3,318	14.33	10,212	44.09	38,146	164.71
03-Nov-01	7.12	332	3,172	1,775	489	EUCA	226.8	12,994	11,650	11.54%	57.29	4,314	19.02	6,354	28.02	23,064	101.69
04-Nov-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	150.6	12,719	10,265	23.91%	84.46	0	0.00	0	0.00	0	0.00
05-Nov-01	9.31	144	2,536	2,500	675	EUCA	235.8	12,207	12,351	-1.17%	51.77	1,758	7.45	8,240	34.94	30,518	129.42
06-Nov-01	8.72	276	2,208	1,259	357	EUCA	228.0	12,199	12,224	-0.20%	53.50	3,367	14.77	4,355	19.10	15,359	67.36
07-Nov-01	7.19	244	2,060	2,025	553	EUCA	231.0	11,789	11,895	-0.89%	51.03	2,877	12.45	6,519	28.22	23,873	103.35
08-Nov-01	6.99	316	2,224	1,208	344	EUCA	178.2	11,873	11,566	2.65%	66.63	3,752	21.05	4,084	22.92	14,343	80.49
09-Nov-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	235.8	12,629	12,629	0.00%	53.56	0	0.00	0	0.00	0	0.00
10-Nov-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	231.6	11,912	11,925	-0.11%	51.43	0	0.00	0	0.00	0	0.00
11-Nov-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	228.0	12,523	13,349	-6.19%	54.93	0	0.00	0	0.00	0	0.00
12-Nov-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	238.8	11,706	13,273	-11.81%	49.02	0	0.00	0	0.00	0	0.00
13-Nov-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	230.4	11,404	13,063	-12.70%	49.50	0	0.00	0	0.00	0	0.00
14-Nov-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	229.2	11,339	13,191	-14.04%	49.47	0	0.00	0	0.00	0	0.00
15-Nov-01	7.05	606	2,514	2,260	613	EUCA	213.0	10,172	13,149	-22.64%	47.76	6,164	28.94	6,235	29.27	22,989	107.93
16-Nov-01	6.89	296	2,712	1,633	453	EUCA	233.4	9,822	11,554	-14.99%	42.08	2,907	12.46	4,449	19.06	16,039	68.72
17-Nov-01	7.02	280	2,440	2,744	737	EUCA	238.8	11,909	12,196	-2.35%	49.87	3,335	13.96	8,777	36.75	32,678	136.84
18-Nov-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	185.4	9,546	13,362	-28.56%	51.49	0	0.00	0	0.00	0	0.00
19-Nov-01	9.44	562	2,470	990	288	DOWN	0.0	6,901	8,073	-14.52%	0.00	3,878	0.00	1,987	0.00	6,832	0.00
20-Nov-01	10.71	1,958	9,034	2,165	589	DOWN	0.0	3,618	2,043	77.09%	0.00	7,084	0.00	2,131	0.00	7,833	0.00
21-Nov-01	10.39	612	8,600	846	251	DOWN	0.0	2,516	2,202	14.26%	0.00	1,540	0.00	632	0.00	2,129	0.00
22-Nov-01	9.22	188	280	302	112	DOWN	0.0	3,322	1,816	82.93%	0.00	625	0.00	372	0.00	1,003	0.00
23-Nov-01	9.22	188	280	302	112	DOWN	0.0	2,599	1,605	61.93%	0.00	489	0.00	291	0.00	785	0.00
24-Nov-01	8.57	168	612	340	122	DOWN	0.0	2,063	1,500	37.53%	0.00	347	0.00	252	0.00	701	0.00
25-Nov-01	0.00	0	0	0	0	DOWN	0.0	2,122	1,503	41.18%	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
26-Nov-01	9.86	276	1,212	1,367	384	DOWN	0.0	1,643	1,500	9.53%	0.00	453	0.00	631	0.00	2,246	0.00
27-Nov-01	9.84	252	268	171	78	DOWN	0.0	1,362	1,500	-9.20%	0.00	343	0.00	106	0.00	233	0.00
28-Nov-01	9.39	120	496	583	184	DOWN	0.0	1,633	1,500	8.87%	0.00	196	0.00	300	0.00	952	0.00
29-Nov-01	8.95	148	144	1,614	448	DOWN	0.0	3,029	1,500	101.93%	0.00	448	0.00	1,357	0.00	4,889	0.00
30-Nov-01	8.35	418	74	375	131	DOWN	0.0	2,822	1,500	88.13%	0.00	1,180	0.00	370	0.00	1,058	0.00
Maximum	10.71	1,958	9,034	2,960	794		238.8	12,994	13,362	101.93%	84.46	7,084	28.94	10,212	44.09	38,146	164.71
Average	8.49	374	2,313	1,368	385		132.3	8,175	8,292	-1.41%	61.78	2,426	12.83	3,432	18.16	12,444	65.83
SD	4.10	368	2,269	956	256		111.4	4,616	5,237	34.98%	27.82	1,986	8.20	3,132	14.32	11,594	52.70

WASTE WATER TREATMENT DATA for PULPMILL SCL

Month : December 2001

Report Env. 19

Date	pH	SS ppm	DS ppm	COD ppm	BOD ppm	Grade	Product TON	Flow m3/D	Mill m3/D	Different %	Index m3/Ton	Ssload		BOD load		COD load	
												Kg/D	Kg/Ton	Kg/D	Kg/Ton	Kg/D	Kg/Ton
01-Dec-01	8.24	1,218	142	2,250	611	DOWN	0.0	3,158	1,500	110.53%	0.00	3,846	0.00	1,930	0.00	7,106	0.00
02-Dec-01	0.00	0	0	0	0	DOWN	0.0	2,307	1,500	53.80%	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
03-Dec-01	10.43	358	406	452	150	DOWN	0.0	4,091	3,111	31.50%	0.00	1,465	0.00	614	0.00	1,849	0.00
04-Dec-01	10.92	58	2,870	833	248	DOWN	0.0	3,946	2,778	42.04%	0.00	229	0.00	979	0.00	3,287	0.00
05-Dec-01	0.00	0	0	0	0	DOWN	0.0	7,141	5,795	23.23%	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
06-Dec-01	9.46	610	1,458	1,319	372	EUCA	99.0	11,765	10,918	7.76%	118.84	7,177	72.49	4,377	44.21	15,518	156.75
07-Dec-01	11.32	236	2,640	1,572	437	EUCA	228.6	10,961	10,375	5.65%	47.95	2,587	11.32	4,790	20.95	17,231	75.37
08-Dec-01	6.89	280	2,352	1,779	490	EUCA	215.4	12,351	10,103	22.25%	57.34	3,458	16.06	6,052	28.10	21,972	102.01
09-Dec-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	220.8	10,293	9,721	5.88%	46.62	0	0.00	0	0.00	0	0.00
10-Dec-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	230.4	9,330	8,909	4.73%	40.49	0	0.00	0	0.00	0	0.00
11-Dec-01	6.73	162	2,614	1,767	487	EUCA	230.4	10,215	8,981	13.74%	44.34	1,655	7.18	4,975	21.59	18,050	78.34
12-Dec-01	8.08	280	3,568	2,080	567	EUCA	231.0	11,113	8,340	33.25%	48.11	3,112	13.47	6,301	27.28	23,115	100.07
13-Dec-01	8.30	346	3,126	1,110	319	EUCA	231.0	10,763	8,360	28.74%	46.59	3,724	16.12	3,433	14.86	11,947	51.72
14-Dec-01	9.03	228	2,756	1,644	455	EUCA	231.0	7,188	8,340	-13.81%	31.12	1,639	7.09	3,271	14.16	11,817	51.16
15-Dec-01	9.17	484	2,546	1,458	408	EUCA	202.2	8,224	8,585	-4.21%	40.67	3,898	19.28	3,355	16.59	11,991	59.30
16-Dec-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	238.8	12,557	8,370	50.02%	52.58	0	0.00	0	0.00	0	0.00
17-Dec-01	9.04	286	2,830	3,221	808	EUCA	243.4	10,078	8,772	14.89%	41.41	2,882	11.84	8,143	33.46	32,461	133.37
18-Dec-01	9.52	258	2,918	1,344	379	EUCA	244.8	9,578	8,531	12.27%	39.13	2,471	10.09	3,630	14.83	12,873	52.59
19-Dec-01	8.57	284	2,616	1,397	392	EUCA	231.0	10,610	8,715	21.74%	45.93	3,013	13.04	4,159	18.00	14,822	64.17
20-Dec-01	9.04	214	2,610	1,893	516	EUCA	240.6	10,770	9,017	79.44%	44.76	2,305	9.58	5,557	23.10	20,388	84.74
21-Dec-01	8.90	160	2,716	1,862	511	EUCA	235.2	9,766	8,949	9.13%	41.52	1,563	6.64	4,990	21.22	18,184	77.31
22-Dec-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	233.4	9,848	8,537	15.36%	42.19	0	0.00	0	0.00	0	0.00
23-Dec-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	237.0	7,198	9,161	-21.43%	30.37	0	0.00	0	0.00	0	0.00
24-Dec-01	8.55	546	2,570	2,333	632	EUCA	225.6	8,025	8,437	-4.88%	35.57	4,382	19.42	5,072	22.48	18,722	82.99
25-Dec-01	9.22	716	2,732	1,673	463	EUCA	240.0	9,878	9,051	9.14%	41.16	7,073	29.47	4,574	19.06	16,526	68.86
26-Dec-01	8.63	514	2,830	1,347	379	EUCA	225.0	11,301	9,217	22.61%	50.23	5,809	25.82	4,283	19.04	15,222	67.66
27-Dec-01	9.07	316	2,860	535	172	EUCA	241.8	8,804	8,046	9.42%	36.41	2,782	11.51	1,514	6.26	4,710	19.48
28-Dec-01	9.13	244	3,296	1,250	355	EUCA	240.0	8,739	8,825	-0.97%	36.41	2,132	8.88	3,102	12.93	10,924	45.52
29-Dec-01	8.92	202	3,154	1,352	381	EUCA	243.0	9,838	8,170	20.42%	40.49	1,987	8.18	3,748	15.43	13,301	54.74
30-Dec-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	234.0	8,657	8,520	1.61%	37.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
31-Dec-01	0.00	0	0	0	0	EUCA	238.2	10,147	8,373	21.19%	42.60	0	0.00	0	0.00	0	0.00
Maximum	11.32	1,218	3,568	3,221	808		244.8	12,557	10,918	110.53%	118.84	7,177	72.49	8,143	44.21	32,461	156.75
Average	8.96	363	2,528	1,567	433		190.7	8,988	7,936	13.27%	47.13	3,145	11.70	4,039	15.03	14,637	54.47
SD	4.23	267	1,358	884	236		88.7	2,602	2,404	23.92%	22.51	2,060	14.19	2,386	12.13	8,918	44.53



WASTE WATER TREATMENT DATA for PULPMILL SCL

Month : December 2001

Report Env. 19

Date	pH	SS ppm	DS ppm	COD ppm	BOD ppm	Grade	Product TON	Flow m3/D	Mill m3/D	Different %	Index m3/Ton	Ssload		BOD load		COD load	
												Kg/D	Kg/Ton	Kg/D	Kg/Ton	Kg/D	Kg/Ton
01-Jan-02	0.00	0	0	0	0	EUCA	237.6	7,709	8,423	-8.48%	32.45	0	0.00	0	0.00	0	0.00
02-Jan-02	8.52	560	3,224	2,729	733	EUCA	195.6	6,762	6,860	-1.43%	34.57	3,787	19.36	4,957	25.34	18,453	94.34
03-Jan-02	10.45	442	3,810	1,562	434	EUCA	158.4	11,804	7,160	64.86%	74.52	5,217	32.94	5,123	32.34	18,438	116.40
04-Jan-02	8.32	264	2,748	2,710	728	EUCA	224.4	11,990	10,530	13.87%	53.43	3,165	14.11	8,729	38.90	32,493	144.80
05-Jan-02	8.93	444	2,356	1,216	346	EUCA	235.2	12,439	9,030	37.75%	52.89	5,523	23.48	4,304	18.30	15,126	64.31
06-Jan-02	0.00	0	0	0	0	EUCA	235.2	14,509	9,400	54.35%	61.69	0	0.00	0	0.00	0	0.00
07-Jan-02	8.07	518	3,026	1,893	519	EUCA	247.8	10,598	9,217	14.98%	42.77	5,490	22.15	5,500	22.20	20,062	80.96
08-Jan-02	8.76	568	2,996	1,562	434	EUCA	247.8	10,756	9,513	13.07%	43.41	6,109	24.65	4,668	18.84	16,801	67.80
09-Jan-02	8.68	300	3,276	1,540	429	EUCA	258.0	10,355	9,210	12.43%	40.14	3,107	12.04	4,442	17.22	15,957	61.85
10-Jan-02	9.16	246	3,218	1,893	519	EUCA	186.6	9,836	7,614	29.18%	52.74	2,420	12.94	5,105	27.36	18,620	99.78
11-Jan-02	9.03	300	3,056	1,767	487	EUCA	243.6	10,828	9,751	11.05%	44.45	3,248	13.33	5,273	21.65	19,133	78.54
12-Jan-02	9.17	544	3,132	1,918	526	EUCA	245.4	8,957	9,059	-1.13%	36.50	4,873	19.86	4,711	19.20	17,180	70.01
13-Jan-02	0.00	0	0	0	0	EUCA	250.8	8,345	8,867	-5.89%	33.27	0	0.00	0	0.00	0	0.00
14-Jan-02	8.83	516	3,444	1,837	505	EUCA	251.4	10,297	8,619	19.47%	40.96	5,313	21.13	5,200	20.68	18,916	75.24
15-Jan-02	8.95	272	3,608	1,600	444	EUCA	235.2	10,237	9,314	9.91%	43.52	2,784	11.84	4,545	19.32	16,379	69.64
16-Jan-02	8.74	322	3,234	650	457	EUCA	247.2	9,861	8,916	10.60%	39.89	3,175	12.84	4,506	18.23	6,410	25.93
17-Jan-02	8.53	408	2,936	1,661	460	EUCA	248.0	11,792	9,207	28.08%	47.36	4,811	19.32	5,424	21.78	19,587	78.66
18-Jan-02	8.52	270	2,878	1,297	367	EUCA	248.4	11,373	9,386	21.17%	45.79	3,071	12.36	4,174	16.80	14,751	59.38
19-Jan-02	8.60	410	2,750	1,892	519	EUCA	250.2	9,179	8,817	4.11%	36.69	3,763	15.04	4,764	19.04	17,367	69.41
20-Jan-02	0.00	0	0	0	0	EUCA	249.6	9,708	9,611	1.01%	38.89	0	0.00	0	0.00	0	0.00
21-Jan-02	8.54	428	3,000	1,985	543	EUCA	243.0	10,721	9,189	16.67%	44.12	4,589	18.88	5,822	23.96	21,281	87.58
22-Jan-02	8.27	204	2,882	1,527	426	EUCA	244.8	9,119	9,390	-2.89%	37.25	1,860	7.60	3,885	15.87	13,925	56.88
23-Jan-02	8.87	240	3,028	1,800	495	EUCA	259.8	10,190	9,360	8.87%	39.22	2,446	9.41	5,044	19.42	18,342	70.60
24-Jan-02	9.08	272	3,084	1,254	356	EUCA	195.0	9,246	8,140	13.59%	47.42	2,515	12.90	3,292	16.88	11,594	59.46
25-Jan-02	9.73	770	2,642	1,607	446	EUCA	241.8	12,870	9,040	42.37%	53.23	9,910	40.98	5,740	23.74	20,682	85.53
26-Jan-02	9.41	292	3,356	3,684	978	EUCA	252.0	10,822	9,260	16.87%	42.94	3,160	12.54	10,584	42.00	39,868	158.21
27-Jan-02	0.00	0	0	0	0	EUCA	247.8	8,722	8,937	-2.47%	35.20	0	0.00	0	0.00	0	0.00
28-Jan-02	8.54	288	2,396	1,071	309	EUCA	253.2	11,208	8,829	26.95%	44.27	3,228	12.75	3,463	13.68	12,004	47.41
29-Jan-02	9.25	956	2,592	1,381	388	EUCA	240.6	8,688	9,444	-8.01%	36.11	8,306	34.52	3,371	14.01	11,998	49.87
30-Jan-02	8.94	298	2,998	1,539	429	EUCA	246.0	8,035	9,080	-11.51%	32.66	2,394	9.73	3,447	14.01	12,366	50.27
31-Jan-02	8.45	210	3,396	1,608	446	EUCA	261.0	8,094	9,380	-13.71%	31.01	1,700	6.51	3,610	13.83	13,015	49.87
Maximum	10.45	956	3,810	3,684	978		261.0	14,509	10,530	64.86%	74.52	9,910	40.98	10,584	42.00	39,868	158.21
Average	8.86	398	3,041	1,738	489		238.1	10,163	8,986	13.10%	42.68	4,076	14.35	4,988	17.57	17,721	62.41
SD	3.34	221	1,179	842	223		23.2	1,665	731	18.64%	9.31	2,331	10.11	2,359	10.30	8,906	38.84

WASTE WATER TREATMENT DATA for PULPMILL SCL

Month : December 2001

Report Env. 19

Date	pH	SS ppm	DS ppm	COD ppm	BOD ppm	Grade	Product	Flow TON	Mill m3/D	Different %	Index m3/Ton	Ssload		BOD load		COD load	
												Kg/D	Kg/Ton	Kg/D	Kg/Ton	Kg/D	Kg/Ton
01-Feb-02	8.49	232	3,536	1,350	380	EUCA	240.6	9,557	9,059	5.50%	39.72	2,217	9.22	3,632	15.09	12,902	53.62
02-Feb-02	8.97	174	3,762	902	265	EUCA	236.4	8,076	9,058	-10.84%	34.16	1,405	5.94	2,140	9.05	7,285	30.81
03-Feb-02	0.00	0	0	0	0	EUCA	225.6	7,241	8,911	-18.74%	32.10	0	0.00	0	0.00	0	0.00
04-Feb-02	8.49	176	2,932	408	139	EUCA	232.2	10,101	9,312	8.47%	43.50	1,778	7.66	1,404	6.05	4,121	17.75
05-Feb-02	8.84	350	2,870	1,558	434	EUCA	235.8	10,938	8,688	25.90%	46.39	3,828	16.24	4,747	20.13	17,041	72.27
06-Feb-02	8.32	316	2,784	1,440	403	EUCA	241.2	11,783	9,086	29.68%	48.85	3,723	15.44	4,749	19.69	16,968	70.35
07-Feb-02	8.88	236	2,592	2,120	577	EUCA	235.8	12,263	8,404	45.92%	52.01	2,894	12.27	7,076	30.01	25,998	110.25
08-Feb-02	8.93	380	3,148	1,480	413	EUCA	237.6	13,246	8,999	47.19%	55.75	5,033	21.18	5,471	23.02	19,604	82.51
09-Feb-02	8.76	280	3,224	3,474	924	EUCA	239.4	12,024	9,066	32.63%	50.23	3,367	14.06	11,110	46.41	41,771	174.48
10-Feb-02	0.00	0	0	0	0	EUCA	241.8	10,086	8,965	12.50%	41.71	0	0.00	0	0.00	0	0.00
11-Feb-02	8.04	228	2,792	1,480	413	EUCA	243.6	9,000	9,099	-1.09%	36.95	2,052	8.42	3,717	15.26	13,320	54.68
12-Feb-02	7.72	272	2,592	1,897	520	EUCA	244.8	8,555	8,926	-4.16%	34.95	2,327	9.51	4,449	18.17	16,229	66.29
13-Feb-02	8.34	210	2,674	1,297	367	EUCA	242.4	9,206	9,044	1.79%	37.98	1,933	7.98	3,379	13.94	11,940	49.26
14-Feb-02	8.15	264	2,156	1,824	502	EUCA	234.6	11,101	8,960	23.90%	47.32	2,931	12.49	5,573	23.75	20,248	86.31
15-Feb-02	8.87	242	1,930	1,378	387	EUCA	235.8	9,701	8,700	11.51%	41.14	2,348	9.96	3,754	15.92	13,368	56.69
16-Feb-02	7.82	258	2,746	1,605	446	EUCA	238.8	9,474	9,350	1.33%	39.67	2,444	10.24	4,255	17.69	15,206	63.68
17-Feb-02	0.00	0	0	0	0	EUCA	239.4	8,621	8,951	-3.69%	36.01	0	0.00	0	0.00	0	0.00
18-Feb-02	9.12	418	3,210	2,013	550	EUCA	237.0	9,917	9,210	7.68%	41.84	4,145	17.48	5,454	23.01	19,963	84.23
19-Feb-02	8.55	288	2,016	1,026	297	EUCA	230.4	10,509	9,200	14.23%	45.61	3,027	13.14	3,121	13.55	10,782	46.80
20-Feb-02	9.22	220	2,568	1,378	387	EUCA	220.8	11,900	8,720	36.47%	53.89	2,618	11.86	4,605	20.86	16,398	74.27
21-Feb-02	8.98	1,126	1,442	1,489	416	EUCA	221.4	10,797	8,782	22.94%	48.77	12,157	54.91	4,492	20.29	16,077	72.61
22-Feb-02	9.19	238	2,730	1,680	465	EUCA	231.6	11,693	9,198	27.13%	50.49	2,783	12.02	5,437	23.48	19,644	84.82
23-Feb-02	9.16	256	3,228	1,600	444	EUCA	232.2	11,467	8,788	30.48%	49.38	2,936	12.64	5,091	21.93	18,347	79.01
24-Feb-02	0.00	0	0	0	0	EUCA	235.8	12,560	9,170	36.97%	53.27	0	0.00	0	0.00	0	0.00
25-Feb-02	9.49	1,400	3,520	2,640	710	EUCA	235.2	10,745	8,561	25.51%	45.68	15,043	63.96	7,629	32.44	28,367	120.61
26-Feb-02	0.00	0	0	0	0	EUCA	236.4	10,139	9,351	8.43%	42.89	0	0.00	0	0.00	0	0.00
27-Feb-02	9.14	612	3,328	1,744	481	EUCA	233.4	10,594	8,916	18.82%	45.39	6,484	27.78	5,096	21.83	18,467	79.16
28-Feb-02	9.41	366	2,346	1,581	439	EUCA	208.2	10,108	9,638	4.88%	48.55	3,700	17.77	4,437	21.31	15,981	76.76
Maximum	9.49	1,400	3,762	3,474	924		244.8	13,246	9,638	47.19%	55.75	15,043	63.96	11,110	46.41	41,771	174.48
Average	8.73	371	2,788	1,625	450		234.6	10,407	9,004	15.58%	44.37	3,964	13.88	4,817	16.87	17,393	60.90
SD	3.44	307	1,200	830	223		7.8	1,426	263	16.90%	6.41	3,331	14.51	2,569	10.89	9,572	40.54

ตาราง จ-2 (ต่อ)

Year 2001

PULPMILL

Data			Month												YTD
			Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	
FLOW	Average	m3/D	10,299.9	9,077.0	10,704.2	11,042.5	11,157.4	11,787.0	11,510.5	11,055.3	12,240.6	11,469.0	8,175.1	8,988.4	10,625.6
		m3/Ton	46.7	52.2	53.0	48.7	49.1	68.8	60.1	52.6	53.9	56.7	61.8	47.1	54.2
	Maximum	m3/D	13,087.0	12,558.0	13,832.0	11,990.0	13.2	14,362.0	14,325.0	12,002.0	14,392.0	13,393.0	12,994.0	12,557.0	14,392.0
		m3/Ton	62.9	63.4	250.7	63.0	68.6	119.8	394.3	203.2	77.2	193.0	84.5	118.8	394.3
	SD	m3/D	1,211.9	3,485.5	1,460.4	953.9	945.8	3,108.4	2,312.8	682.6	978.4	1,296.6	4,616.3	2,602.2	1,971.2
		m3/Ton	6.3	5.6	37.8	4.9	6.4	12.6	63.6	31.0	6.6	26.9	9.0	16.2	18.9
SS	Average	m3/D	382.0	243.8	336.1	366.0	224.3	367.4	317.8	484.4	370.3	306.3	374.1	363.2	344.6
		m3/Ton	3,935.8	1,884.7	3,675.6	3,781.1	2,527.6	3,783.6	3,785.7	5,400.8	4,457.6	3,471.4	2,426.0	3,144.9	3,522.9
		Kg/Ton	15.0	8.9	15.8	12.2	8.6	19.1	15.9	21.5	16.4	13.8	12.8	11.7	14.3
	Maximum	m3/D	900.0	744.0	1,304.0	1,600.0	338.0	1,382.0	1,952.0	3,142.0	1,260.0	1,028.0	1,958.0	1,218.0	3,142.0
		m3/Ton	8,989.2	5,377.4	15,666.3	11,088.4	3,699.7	10,804.2	23,152.7	35,303.5	13,253.9	11,451.9	7,084.0	7,176.6	35,303.5
		Kg/Ton	41.8	25.2	68.0	95.9	15.7	116.4	98.7	149.3	58.7	49.4	28.9	72.5	149.3
	SD	m3/D	173.6	171.6	278.3	343.8	38.5	304.1	373.9	612.6	268.0	217.2	390.3	248.4	285.0
		m3/Ton	1,727.7	1,330.7	3,240.4	2,749.5	452.7	2,622.6	4,504.2	6,926.2	3,055.6	2,461.4	1,965.8	1,748.1	2,732.1
		Kg/Ton	10.1	6.9	15.1	19.2	5.0	23.8	20.2	29.1	13.9	13.0	9.1	14.7	15.0
BOD	Average	m3/D	479.5	357.0	558.6	397.6	473.2	438.6	417.5	519.7	461.6	419.7	384.9	433.3	445.1
		m3/Ton	5,014.0	3,263.2	6,148.0	4,367.1	5,333.3	5,309.7	5,045.6	5,670.4	5,607.0	4,852.5	3,432.3	4,038.6	4,840.1
		Kg/Ton	19.1	15.4	26.5	14.1	18.2	26.9	21.3	22.6	20.6	19.3	18.2	15.0	19.8
	Maximum	m3/D	860.0	663.0	372.0	575.0	656.0	984.0	630.0	2,025.0	1,346.0	731.0	794.0	808.0	2,025.0
		m3/Ton	9,069.6	6,676.4	44,253.0	6,576.3	7,070.4	12,884.5	8,681.4	19,753.9	16,257.0	8,482.5	10,211.6	8,143.0	44,253.0
		Kg/Ton	38.2	31.3	264.4	27.7	45.0	58.7	43.7	411.5	73.4	39.1	44.1	44.2	411.5
	SD	m3/D	132.8	132.5	658.4	108.2	71.3	164.3	133.9	330.4	217.8	137.9	219.5	149.0	204.7
		m3/Ton	1,599.7	1,738.0	7,912.4	1,235.6	844.6	2,607.8	1,904.9	3,199.4	2,644.2	1,796.9	3,242.2	1,781.9	2,542.3
		Kg/Ton	10.3	8.9	48.4	9.9	11.0	15.2	12.7	71.4	14.1	11.7	15.7	11.8	20.1
COD	Average	m3/D	1,737.6	1,259.0	1,561.4	1,418.1	1,725.1	1,577.7	1,495.6	1,668.6	1,512.6	1,504.5	1,368.0	1,566.9	1,532.9
		m3/Ton	18,178.5	11,548.2	16,815.3	15,571.3	19,431.8	19,171.6	18,113.9	18,447.0	18,380.5	17,421.1	12,444.3	14,637.1	16,680.1
		Kg/Ton	69.2	54.6	72.5	50.4	66.2	97.0	76.3	73.6	67.4	69.4	65.8	54.5	68.1
	Maximum	m3/D	3,223.0	2,456.0	3,242.0	2,110.0	2,429.0	3,708.0	2,327.0	2,838.0	2,464.0	2,722.0	2,966.0	3,221.0	3,708.0
		m3/Ton	33,989.8	24,731.9	35,520.6	24,132.1	26,179.8	48,552.6	32,066.1	33,477.0	30,839.4	31,586.1	381,457.0	32,461.2	48,552.6
		Kg/Ton	143.1	115.8	325.9	101.6	166.5	221.1	158.6	384.1	129.5	142.8	164.7	156.7	384.1
SD	m3/D	518.8	518.0	711.8	422.6	284.6	641.8	522.8	479.7	457.1	538.6	857.6	607.5	546.7	
	m3/Ton	6,161.5	6,445.8	8,294.3	4,791.8	3,268.4	9,875.1	7,274.2	5,483.6	5,636.1	6,898.9	12,088.0	6,960.2	6,931.5	
	Kg/Ton	38.2	32.7	63.7	35.9	40.6	56.4	46.8	73.2	36.8	42.8	57.9	43.3	47.4	

PULP GROUP

Data			Month												YTD
			Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	
Average	SS	ppm	18.2	28.2	24.4	30.5	24.6	17.8	22.9	26.2	23.7	25.7	28.0	32.3	25.3
		BOD	ppm	28.0	32.5	20.8	19.1	19.4	15.7	20.4	21.8	22.8	20.7	24.0	24.3
	COD	ppm	210.8	247.0	155.9	146.2	147.8	119.8	132.2	131.0	140.5	124.5	139.5	145.9	153.4
		pH Inlet	7.6	8.2	7.6	7.2	6.5	9.2	7.0	7.3	7.1	7.4	8.5	9.0	7.7
	Ph Outlet		8.0	7.7	7.2	7.1	6.9	6.9	7.2	6.9	6.7	7.0	7.0	7.1	7.1
		Maximum	SS ppm	42.0	44.0	44.0	48.0	47.0	42.0	40.0	50.0	40.0	45.0	48.0	48.0
Minimum	BOD ppm	39.0	50.0	50.0	28.0	27.0	35.0	38.0	38.0	40.0	40.0	34.0	47.0	50.0	
	COD ppm	292.0	370.0	339.0	212.0	200.0	258.0	220.0	217.0	231.0	231.0	197.0	269.0	370.0	
	pH Inlet	10.0	11.8	10.1	9.9	7.3	11.6	10.0	9.8	10.6	10.1	10.7	11.3	11.8	
	Ph Outlet		8.3	8.0	7.9	7.4	7.4	7.7	7.6	7.2	7.1	8.0	7.8	7.8	8.3
		SD	SS ppm	5.0	6.0	9.0	12.0	8.0	7.0	8.0	8.0	13.0	8.0	16.0	12.0
SD	BOD	ppm	19.0	11.0	9.0	13.0	15.0	8.0	11.0	16.0	17.0	10.0	15.0	11.0	8.0
		COD ppm	149.0	88.0	69.0	101.0	114.0	59.0	82.0	99.0	103.0	45.0	37.0	74.0	37.0
	pH Inlet		6.4	6.6	6.6	5.1	4.3	4.6	4.4	5.1	5.9	6.5	6.9	6.7	4.3
		Ph Outlet	7.4	7.4	5.0	6.4	6.5	4.7	6.7	6.3	6.0	5.7	6.2	6.4	4.7
	SS	ppm	9.3	12.2	11.0	11.5	12.0	8.9	8.7	12.4	7.0	10.5	9.6	12.8	10.5
		BOD ppm	5.8	11.3	10.1	4.4	3.6	6.3	6.6	5.8	6.4	7.1	5.1	8.6	6.8
COD	ppm	42.6	81.9	70.6	31.5	25.5	45.7	33.9	31.1	41.9	40.6	34.7	45.7	43.8	
	pH Inlet	0.8	1.6	0.9	1.0	0.6	1.7	1.3	1.0	1.1	0.9	1.3	1.1	1.1	
Ph Outlet		0.2	0.2	0.5	0.3	0.2	0.7	0.2	0.2	0.3	0.4	0.5	0.3	0.3	





ตาราง ข-2(ต่อ)

EFFLUENT DATA for PUPL GROUP TREATMENT PLANT

Month November 2001

Date	INLET PG.1					OUTLET PRESED					AERATION # 1					OUTLET FINAL				
	pH	SS ppm	DS ppm	COD ppm	BOD ppm	pH	SS ppm	COD ppm	BOD ppm	BODload Kg/D	MLSS ppm	V30 ml/l	SVI ml/g	FM	pH	SS ppm	COD ppm	BOD ppm	Nitrogen mg/l	
01-Nov-01	6.06	800	2,156	2,109	798	5.53	192	2,297	741	20,430	2,924	630	215	0.241	6.84	23	37	23	0.170	
02-Nov-01	6.02	932	2,312	2,331	873	6.08	136	4,611	1,517	43,963	3,372	813	241	0.450	6.84	26	178	30	0.220	
03-Nov-01	6.01	1,120	2,472	2,704	998	5.11	308	2,451	792	20,582	2,348	606	258	0.302	6.72	33	183	31	0.220	
04-Nov-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	593	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
05-Nov-01	7.20	1,616	2,616	3,500	1,266	6.03	292	2,083	667	18,940	2,240	253	113	0.292	6.90	41	173	30	0.390	
06-Nov-01	6.42	1,132	1,896	1,183	487	5.82	584	2,028	650	17,623	1,896	273	144	0.321	7.12	48	159	27	0.220	
07-Nov-01	6.40	1,024	1,760	2,250	846	5.49	244	1,750	557	13,487	2,592	273	105	0.179	6.99	31	140	23	0.450	
08-Nov-01	6.10	664	1,812	1,917	613	5.90	304	2,000	641	16,624	1,944	313	161	0.295	6.97	26	123	20	0.310	
09-Nov-01	0.00	0	0	0	0	5.00	216	2,014	0	0	2,168	440	203	0.000	6.87	21	138	23	0.000	
10-Nov-01	0.00	0	0	0	0	0.00	484	2,400	775	20,989	1,732	380	219	0.418	0.00	16	125	21	0.000	
11-Nov-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	486	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
12-Nov-01	0.00	0	0	0	0	0.00	414	2,137	687	18,318	0	253	0	0.000	0.00	31	151	25	0.000	
13-Nov-01	0.00	0	0	0	0	0.00	548	2,384	770	18,948	0	326	0	0.000	0.00	25	145	24	0.000	
14-Nov-01	0.00	0	0	0	0	0.00	352	1,928	617	12,323	0	320	0	0.000	0.00	32	181	31	0.000	
15-Nov-01	6.53	1,648	2,236	3,041	1,112	6.74	532	2,301	742	17,936	1,768	350	198	0.350	6.92	48	197	34	0.340	
16-Nov-01	6.15	1,004	1,924	2,171	819	6.16	684	2,318	748	17,889	1,124	273	243	0.549	6.74	44	173	29	0.500	
17-Nov-01	6.38	516	2,024	2,122	803	5.56	372	2,415	780	20,814	1,256	350	279	0.571	6.84	31	146	25	0.220	
18-Nov-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	340	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
19-Nov-01	7.53	2,528	1,924	3,750	1,350	7.33	396	2,100	674	14,257	1,808	260	144	0.272	6.43	23	126	21	0.340	
29-Nov-01	6.51	2,268	2,244	4,055	1,453	6.38	1,648	4,221	1,386	26,179	1,896	213	112	0.476	7.79	32	149	25	0.280	
20-Nov-01	7.38	2,428	2,600	3,494	1,264	9.55	352	2,430	785	14,203	2,048	290	142	0.239	6.21	20	102	16	0.280	
21-Nov-01	6.84	2,712	2,592	4,846	1,719	7.08	428	1,962	628	12,095	1,108	0	0	0.376	6.50	21	92	15	0.310	
22-Nov-01	6.67	1,244	2,268	3,094	1,129	6.22	616	2,913	947	14,577	1,204	233	194	0.417	7.43	22	145	24	0.000	
23-Nov-01	6.67	1,244	2,268	3,094	1,129	6.22	616	2,913	947	10,145	1,204	220	183	0.291	7.43	22	145	24	0.220	
24-Nov-01	6.63	100	2,404	1,834	706	6.51	584	2,755	894	12,140	1,432	300	209	0.292	7.83	19	148	25	0.220	
25-Nov-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	320	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
26-Nov-01	6.91	3,636	2,468	5,668	1,995	6.81	168	1,250	389	5,544	1,444	166	115	0.132	6.66	23	93	15	0.390	
27-Nov-01	6.57	2,016	2,512	3,686	1,328	6.41	660	2,657	861	13,215	1,344	200	149	0.339	7.43	22	103	17	0.450	
28-Nov-01	6.61	1,896	2,216	3,833	1,378	6.50	824	3,333	1,088	18,555	1,520	246	162	0.421	7.84	23	123	20	0.000	
30-Nov-01	6.67	1,420	2,444	2,833	1,042	6.51	680	3,667	1,200	20,113	1,800	233	129	0.385	7.29	48	153	26	0.390	



ตาราง ข-2(ต่อ)

EFFLUENT DATA for PUPL GROUP TREATMENT PLANT

Month November 2001

Date	INLET PG.1					OUTLET PRESED					AERATION # 1					OUTLET FINAL				
	pH	SS ppm	DS ppm	COD ppm	BOD ppm	pH	SS ppm	COD ppm	BOD ppm	BODload Kg/D	MLSS ppm	V30 ml/l	SVI ml/g	FM	pH	SS ppm	COD ppm	BOD ppm	Nitrogen mg/l	
01-Dec-01	6.50	2,408	2,128	5,250	1,855	6.20	1,632	4,250	1,396	25,670	2,124	266	125	0.417	7.02	41	170	29	0.310	
02-Dec-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	260	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
03-Dec-01	7.76	1,272	2,304	3,288	1,195	6.49	884	3,205	1,045	20,239	2,212	243	110	0.315	6.94	44	148	25	0.220	
04-Dec-01	6.87	1,856	2,996	3,250	1,182	6.62	592	3,083	1,004	17,931	1,848	260	141	0.335	6.93	44	140	23	0.390	
05-Dec-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	260	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
06-Dec-01	7.85	888	2,788	4,426	1,577	6.45	464	2,979	969	24,346	1,828	230	126	0.459	6.82	41	129	21	0.340	
07-Dec-01	6.57	904	2,308	3,145	1,147	7.25	136	2,648	858	21,989	2,124	255	120	0.357	7.79	38	139	23	0.280	
08-Dec-01	6.40	1,248	2,856	3,526	1,275	6.48	120	2,930	953	24,026	2,380	327	137	0.348	7.53	45	156	26	0.080	
09-Dec-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	320	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
10-Dec-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	610	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
11-Dec-01	6.59	1,356	3,372	4,767	1,692	5.78	784	2,795	908	21,669	2,740	466	170	0.273	6.43	46	243	42	0.220	
12-Dec-01	5.81	2,172	2,668	4,720	1,676	6.03	2,048	5,120	1,688	34,334	3,680	600	163	0.322	6.88	47	269	47	0.390	
13-Dec-01	6.04	2,224	2,320	4,603	1,637	6.00	3,392	5,737	1,895	37,352	5,796	786	136	0.222	6.78	43	207	36	0.250	
14-Dec-01	8.03	1,684	2,260	3,090	1,128	6.72	508	1,808	577	10,103	5,864	866	148	0.059	6.55	47	164	28	0.360	
15-Dec-01	8.03	1,310	2,742	2,188	903	6.55	652	1,688	614	12,369	7,224	933	129	0.059	7.00	48	95	12	0.180	
16-Dec-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	920	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
17-Dec-01	8.53	1,520	2,832	4,552	1,620	6.01	1,356	3,807	1,247	30,669	6,284	933	148	0.168	7.31	32	142	24	0.360	
18-Dec-01	7.93	1,416	2,496	4,225	1,510	5.85	660	2,282	735	17,120	4,500	866	192	0.131	7.14	31	162	27	0.390	
19-Dec-01	7.35	3,064	2,924	3,616	1,305	5.80	2,644	4,849	1,597	36,900	2,280	280	123	0.558	7.30	24	152	26	0.340	
20-Dec-01	7.97	2,104	2,644	4,752	1,687	6.04	464	2,819	916	20,819	2,416	480	199	0.297	7.26	15	129	21	0.220	
21-Dec-01	7.12	2,192	2,908	5,103	1,805	5.78	544	4,138	1,358	31,986	2,548	800	314	0.433	6.98	16	127	21	0.000	
22-Dec-01	8.22	2,272	2,820	6,329	2,217	6.03	384	2,219	714	16,861	2,668	426	160	0.218	7.08	14	128	21	0.000	
23-Dec-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	433	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
24-Dec-01	7.10	350	2,664	5,667	1,995	5.80	2,152	4,867	1,603	29,498	2,717	306	113	0.375	7.20	34	160	27	0.310	
25-Dec-01	7.99	1,608	2,444	4,327	1,544	7.18	296	1,878	600	12,457	2,992	406	136	0.144	6.71	17	104	17	0.280	
26-Dec-01	8.42	1,392	2,428	3,755	1,352	6.82	460	2,939	956	25,389	2,746	406	148	0.319	7.08	12	91	14	0.220	
27-Dec-01	7.69	1,856	2,692	3,973	1,425	6.53	830	2,757	895	20,599	1,880	480	255	0.378	7.28	23	120	20	0.560	
28-Dec-01	8.46	1,748	2,704	3,000	1,098	6.55	820	2,300	708	14,508	2,152	530	246	0.232	7.16	25	107	17	0.510	
29-Dec-01	7.20	860	2,612	2,958	1,084	6.12	444	1,099	338	7,374	2,860	500	175	0.089	7.27	17	74	11	0.390	
30-Dec-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	520	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
31-Dec-01	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	600	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	

ตาราง ข-2(ต่อ)

EFFLUENT DATA for PUPL GROUP TREATMENT PLANT

Month November 2001

Date	INLET PG.1					OUTLET PRESED					AERATION # 1					OUTLET FINAL				
	pH	SS ppm	DS ppm	COD ppm	BOD ppm	pH	SS ppm	COD ppm	BOD ppm	BODload Kg/D	MLSS ppm	V30 ml/l	SVI ml/g	FM	pH	SS ppm	COD ppm	BOD ppm	Nitrogen mg/l	
01-Jan-02	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	790	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
02-Jan-02	6.87	1,248	2,676	4,356	1,554	5.75	2,312	4,586	1,509	28,134	2,788	0	0	0.348	7.03	17	87	14	0.840	
03-Jan-02	7.11	2,888	2,920	5,425	1,913	6.70	976	2,384	770	19,230	3,208	340	106	0.207	7.44	15	99	16	0.460	
04-Jan-02	7.72	2,880	3,060	4,343	1,549	5.96	1,276	3,380	1,104	29,695	2,356	386	164	0.435	7.35	14	104	17	0.170	
05-Jan-02	7.09	1,780	2,952	4,703	1,670	6.11	2,492	4,216	1,385	41,427	2,188	380	174	0.653	7.44	16	91	14	0.340	
06-Jan-02	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	480	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
07-Jan-02	6.94	1,820	2,956	4,510	1,606	6.18	2,336	4,510	1,483	40,284	3,164	800	253	0.439	7.25	26	122	20	0.210	
08-Jan-02	7.46	2,196	2,964	4,274	1,526	6.21	644	2,795	908	22,527	2,634	880	334	0.295	7.48	30	132	22	0.160	
09-Jan-02	7.30	1,268	2,796	3,162	1,152	6.44	1,136	2,919	949	23,159	5,690	830	146	0.140	7.35	26	123	20	0.240	
10-Jan-02	7.98	1,444	2,804	2,416	902	6.74	224	1,933	618	13,846	3,428	620	181	0.139	7.20	26	139	23	0.250	
11-Jan-02	7.05	1,020	3,192	3,699	1,333	6.70	716	2,219	714	18,008	2,972	373	126	0.209	7.11	16	118	19	0.080	
12-Jan-02	7.61	2,620	2,388	4,163	1,489	7.02	728	2,286	737	15,261	3,600	526	146	0.146	7.25	12	121	20	0.170	
13-Jan-02	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	440	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
14-Jan-02	7.62	3,060	3,284	4,327	1,544	6.64	728	2,612	846	20,246	3,944	533	135	0.177	6.93	16	108	17	0.000	
15-Jan-02	5.85	540	3,588	2,933	1,075	6.55	964	3,493	1,142	25,776	3,312	520	157	0.267	7.34	19	107	17	0.110	
16-Jan-02	5.98	292	2,744	1,971	752	6.75	348	3,000	976	24,501	4,828	0	0	0.175	7.31	22	124	21	0.280	
17-Jan-02	6.24	628	2,552	2,293	860	6.36	824	3,171	1,034	26,515	5,256	746	142	0.174	7.33	26	137	23	0.170	
18-Jan-02	6.18	244	2,396	1,297	525	6.30	852	2,486	804	20,221	3,248	726	224	0.215	7.22	28	138	23	0.310	
19-Jan-02	6.08	152	2,468	2,162	816	6.07	380	2,270	732	14,837	2,640	646	245	0.194	7.06	33	138	23	0.220	
20-Jan-02	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	613	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
21-Jan-02	6.44	196	2,608	1,745	767	6.39	784	2,291	739	16,308	1,956	626	320	0.287	7.00	18	113	19	0.360	
22-Jan-02	6.29	784	2,356	2,400	896	6.32	464	2,400	775	17,897	3,816	633	166	0.162	7.24	22	118	19	0.200	
23-Jan-02	6.46	272	2,236	1,309	529	6.66	988	2,618	848	21,585	3,260	0	0	0.228	7.27	13	105	17	0.170	
24-Jan-02	6.58	66	2,322	1,200	493	6.55	1,464	2,945	958	20,419	3,052	0	0	0.231	7.20	16	96	15	0.340	
25-Jan-02	6.52	192	2,440	964	413	6.66	714	2,250	725	18,053	2,892	470	163	0.215	7.34	18	99	16	0.224	
26-Jan-02	6.53	90	2,542	1,158	478	6.51	1,948	3,158	1,029	23,559	2,688	860	320	0.302	7.38	20	103	17	0.200	
27-Jan-02	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	81	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
28-Jan-02	6.30	624	2,556	1,286	521	6.26	1,556	3,429	1,120	27,552	2,684	633	236	0.354	6.53	13	90	14	0.170	
29-Jan-02	6.54	640	2,952	1,805	696	6.25	1,420	3,504	1,146	25,853	2,452	613	250	0.364	7.14	18	106	17	0.340	
30-Jan-02	7.40	2,656	2,988	3,823	1,375	6.67	484	1,550	490	11,559	1,924	433	225	0.207	6.84	16	106	17	0.220	
31-Jan-02	6.11	346	2,670	1,647	643	6.33	1,152	2,118	680	15,085	1,948	230	118	0.267	7.02	22	114	19	0.280	

ตาราง ข-2(ต่อ)

EFFLUENT DATA for PUPL GROUP TREATMENT PLANT

Month November 2001

Date	INLET PG.1					OUTLET PRESED					AERATION # 1					OUTLET FINAL				
	pH	SS ppm	DS ppm	COD ppm	BOD ppm	pH	SS ppm	COD ppm	BOD ppm	BODload Kg/D	MLSS ppm	V30 ml/l	SVI ml/g	FM	pH	SS ppm	COD ppm	BOD ppm	Nitrogen mg/l	
01-Feb-02	6.31	752	2,792	1,737	673	6.54	380	1,421	447	9,553	2,632	246	93	0.125	6.88	17	95	15	0.310	
02-Feb-02	6.42	824	3,156	1,725	669	6.69	404	1,725	549	11,036	2,728	306	112	0.139	6.80	11	113	18	0.340	
03-Feb-02	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	293	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
04-Feb-02	6.29	418	2,434	1,647	643	6.34	284	1,804	575	12,915	3,172	413	111	0.120	6.81	10	91	14	0.840	
05-Feb-02	6.03	128	2,392	1,481	587	6.55	318	1,823	582	14,759	2,220	420	189	0.229	7.14	14	97	15	1.120	
06-Feb-02	6.01	144	2,260	1,440	573	6.49	460	2,720	883	22,064	2,448	533	218	0.311	7.10	15	90	14	0.560	
07-Feb-02	5.95	132	2,384	1,920	734	6.37	484	1,920	614	14,899	2,388	530	222	0.215	7.11	13	102	18	0.360	
08-Feb-02	6.15	2,340	2,516	4,160	1,488	6.30	1,296	4,240	1,393	41,663	1,584	630	398	0.907	7.17	15	109	18	0.140	
09-Feb-02	6.17	1,296	2,224	3,158	1,151	6.06	1,276	3,395	1,109	32,991	1,820	607	334	0.625	7.00	22	126	21	0.220	
10-Feb-02	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	620	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
11-Feb-02	7.05	1,304	2,624	3,200	1,165	5.79	780	3,008	979	24,881	4,140	493	119	0.207	6.56	40	176	30	0.340	
12-Feb-02	5.96	336	2,220	1,784	689	6.03	1,284	3,811	1,249	27,663	2,212	493	223	0.431	6.48	38	152	26	0.280	
13-Feb-02	6.38	184	2,112	1,703	662	6.74	392	2,108	677	17,077	1,652	520	315	0.356	6.81	22	159	27	0.280	
14-Feb-02	6.29	168	1,956	892	389	6.50	984	2,189	704	18,423	2,160	566	262	0.294	6.70	16	114	19	0.220	
15-Feb-02	6.38	200	1,520	973	416	6.64	1,836	2,270	732	17,901	2,094	560	267	0.295	6.90	10	104	17	0.250	
16-Feb-02	6.47	90	1,814	973	416	6.78	532	1,784	568	13,557	2,740	586	214	0.171	6.65	6	84	13	0.280	
17-Feb-02	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	620	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
18-Feb-02	8.65	2,148	2,472	3,705	1,335	6.75	520	618	520	11,428	5,310	906	171	0.074	6.59	10	84	13	0.220	
19-Feb-02	6.74	168	1,664	2,211	832	6.78	480	1,579	500	11,503	3,252	813	250	0.122	6.96	8	95	15	0.340	
20-Feb-02	6.75	88	1,800	1,135	471	6.97	384	1,297	405	9,703	2,300	226	98	0.145	6.75	9	84	13	0.220	
21-Feb-02	7.35	2,408	2,652	4,752	1,687	6.73	480	2,174	699	15,277	2,780	286	103	0.189	6.96	8	87	14	0.170	
22-Feb-02	6.90	92	2,480	960	411	6.89	316	1,040	319	7,697	2,104	306	145	0.126	7.01	9	83	13	0.310	
23-Feb-02	6.70	62	2,322	1,040	467	6.59	2,024	2,720	883	20,441	4,440	393	89	0.159	7.02	11	90	14	0.170	
24-Feb-02	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	440	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
25-Feb-02	8.90	2,652	2,992	4,880	1,730	6.43	2,416	4,640	1,527	34,626	6,156	873	142	0.194	7.14	15	128	21	0.000	
26-Feb-02	0.00	0	0	0	0	0.00	0	0	0	0	0	860	0	0.000	0.00	0	0	0	0.000	
27-Feb-02	7.23	1,172	2,820	3,120	1,138	6.31	412	2,720	883	22,493	4,920	886	180	0.158	7.10	24	147	25	0.000	
28-Feb-02	6.49	88	2,212	1,784	689	6.64	656	1,622	514	11,431	2,140	920	430	0.184	7.30	28	136	23	0.000	

จ-3 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium*  
ในการลดสีของน้ำเสียในระดับขวดเขย่า

เวลา	ค่าการดูดกลืนแสง	% สีที่ลดลง
0	0.436	0.00
15	0.247	43.35
30	0.234	46.33
45	0.232	46.79
60	0.230	47.25
75	0.231	47.02
90	0.229	47.48
105	0.231	47.02

จ-4 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium*  
ในการลดสีของน้ำเสียในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไธซ์เบด

เวลา	ค่าการดูดกลืนแสง	% สีที่ลดลง
0	0.402	0.00
1	0.264	34.33
2	0.272	32.34
3	0.278	30.85
4	0.271	32.59
5	0.267	33.58
6	0.270	32.84
7	0.268	33.33
8	0.267	33.58
9	0.266	33.83
average	0.283	33.03
maximum	0.402	34.33
STDEV	0.004	1.03

ตาราง จ-5 ข้อมูลการทดลองเวลาที่เหมาะสมในการใช้เซลล์ตรึงเชื้อรา *P. chrysosporium* ในการลดสีน้ำเสีย ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิดไคซ์เบด 2 เครื่องที่ต่ออนุกรม

เวลา	A1	Color Unit A1	A2	Color Unit A2	%reductionA	B1	Color Unit B1	B2	Color Unit B2	%reduction B
0	0.081	313.357	0.066	255.328	0.00	0.436	1686.710	0.296	1145.165	0.00
15	0.066	255.328	0.053	205.036	19.70	0.296	1145.106	0.201	777.589	32.09
30	0.065	251.459	0.052	201.167	20.00	0.299	1156.711	0.205	793.063	31.44
45	0.068	263.065	0.055	212.773	19.12	0.300	1160.580	0.203	785.326	32.33
60	0.067	259.196	0.054	208.904	19.40	0.298	1152.843	0.204	789.194	31.54
75	0.066	255.328	0.055	212.773	16.67	0.299	1156.711	0.201	777.589	32.78
90	0.069	266.933	0.056	216.642	18.84	0.300	1160.580	0.203	785.326	32.33
105	0.066	255.328	0.054	208.904	18.18	0.298	1152.843	0.200	773.720	32.89

เวลา	A1	%reductionA1	A2	%reduction A2	เวลา	B1	%reduction B1	B2	%reduction B2
0	0.081	0.00	0.056	-	0	0.436	0.00	0.296	-
15	0.066	18.52	0.053	5.36	15	0.296	32.11	0.201	32.09
30	0.065	19.75	0.052	7.14	30	0.299	31.42	0.205	30.74
45	0.068	16.05	0.055	1.79	45	0.300	31.19	0.203	31.42
60	0.067	17.28	0.054	3.57	60	0.298	31.65	0.204	31.08
75	0.066	18.52	0.055	1.79	75	0.299	31.42	0.201	32.09
90	0.069	14.81	0.056	0.00	90	0.300	31.19	0.203	31.42
105	0.066	18.52	0.054	3.57	105	0.298	31.65	0.200	32.43

ตาราง ฉ-6 ข้อมูลการศึกษาระยะเวลาที่เม็ดเซลล์ตรึงเชื้อรา *P.chrysosporium* สามารถทำงาน  
ต่อเนื่องได้นานที่สุด ในระดับขวดเซย่า

day	B pure pH 4.5					
	enzyme activities (IU)			color (Color unit)		
	morning	evening	%increase	morning	evening	%reduction
1	0.67042	0.92072	27.19	0.23239	0.13540	41.74
2	0.67286	0.91380	26.37	0.24037	0.13951	41.96
3	0.66921	0.92233	27.44	0.26840	0.15627	41.78
4	0.67592	0.91086	25.79	0.27438	0.15974	41.78
5	0.66559	0.91693	27.41	0.25389	0.14877	41.40
6	0.68340	0.91671	25.45	0.26556	0.15396	42.02
7	0.71642	0.92627	22.66	0.25853	0.15072	41.70
8	0.70035	0.92516	24.30	0.26883	0.15581	42.04
9	0.70468	0.91919	23.34	0.26023	0.15160	41.74
10	0.70465	0.92085	23.48	0.25004	0.14680	41.29
11	0.70883	0.91928	22.89	0.25726	0.15097	41.32
12	0.72110	0.92480	22.03	0.25975	0.14993	42.28
13	0.71851	0.92024	21.92	0.26169	0.15072	42.40
14	0.71550	0.92003	22.23	0.26101	0.15008	42.50
15	0.70835	0.91737	22.79	0.25968	0.14996	42.25

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตาราง ข-6 (ต่อ)

day	B pure pH 4.5					
	enzyme activities (IU)			color (Color unit)		
	morning	evening	%increase	morning	evening	%reduction
16	0.70431	0.91797	23.28	0.26026	0.15101	41.98
17	0.71316	0.92112	22.58	0.25973	0.15127	41.76
18	0.71053	0.92060	22.82	0.25985	0.14876	42.75
19	0.71000	0.92014	22.84	0.25895	0.14829	42.73
20	0.71087	0.92251	22.94	0.25882	0.14851	42.62
21	0.70772	0.92041	23.11	0.25970	0.15174	41.57
22	0.71171	0.92052	22.68	0.25994	0.15213	41.48
23	0.70661	0.92009	23.20	0.25996	0.14975	42.40
24	0.71066	0.92389	23.08	0.25979	0.15021	42.18
25	0.70515	0.92044	23.39	0.25967	0.14986	42.29
26	0.70901	0.92077	23.00	0.25967	0.15230	41.35
27	0.70907	0.92105	23.02	0.25961	0.15100	41.83
28	0.70264	0.92104	23.71	0.25959	0.14978	42.30
29	0.70854	0.92109	23.08	0.25957	0.14997	42.22
30	0.70836	0.92118	23.10	0.25963	0.15310	41.03
31	0.70821	0.92105	23.11	0.25971	0.15276	41.18
average	0.70233	0.92027	23.68	0.25892	0.15034	41.93
maximum	0.72110	0.92627	27.44	0.27438	0.15974	42.75
STDEV	0.01549	0.00304	1.56460	0.00742	0.00432	0.46709

ตาราง ฉ-7 ข้อมูลการศึกษาระยะเวลาที่เม็ดเซลล์รีงเชื้อรา *P.chrysosporium* สามารถทำงาน  
ต่อเนื่องได้นานที่สุดในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพฟลูอิด์เบด

day	B dilute pH 4.5					
	enzyme activities (IU)			color (Color unit)		
	morning	evening	%increase	morning	evening	%reduction
1	1.23637	1.54420	24.90	0.17051	0.11505	32.53
2	1.24117	1.55493	25.28	0.17232	0.11672	32.26
3	1.24247	1.53533	23.57	0.17192	0.11610	32.47
4	1.25660	1.55377	23.65	0.17301	0.11546	33.26
5	1.22393	1.54000	25.82	0.17194	0.11583	32.63
6	1.23290	1.56067	26.59	0.17230	0.11603	32.66
7	1.23891	1.55650	25.64	0.17200	0.11842	31.15
8	1.23896	1.58697	28.09	0.17636	0.11992	32.00
9	1.23368	1.55000	25.64	0.17626	0.11836	32.85
10	1.23200	1.56353	26.91	0.17798	0.11818	33.60
11	1.23770	1.55459	25.60	0.17346	0.11701	32.54
12	1.23783	1.55563	25.67	0.17375	0.11720	32.55
13	1.23750	1.55570	25.71	0.17390	0.11725	32.57
14	1.23700	1.55774	25.93	0.17410	0.11824	32.09
15	1.23504	1.55813	26.16	0.17420	0.11802	32.25

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง จ-7 (ต่อ)

day	B dilute pH 4.5					
	enzyme activities (IU)			color (Color unit)		
	morning	evening	%increase	morning	evening	%reduction
16	1.23615	1.55995	26.19	0.17443	0.11786	32.43
17	1.23648	1.55987	26.15	0.17464	0.11805	32.41
18	1.23623	1.56021	26.21	0.17491	0.11801	32.53
19	1.23596	1.55753	26.02	0.17476	0.11782	32.58
20	1.23619	1.55829	26.06	0.17461	0.11776	32.56
21	1.23661	1.55776	25.97	0.17428	0.11772	32.45
22	1.23650	1.55808	26.01	0.17436	0.11684	32.99
23	1.23636	1.55833	26.04	0.17442	0.11408	34.59
24	1.23625	1.55859	26.07	0.17447	0.11592	33.56
25	1.23618	1.55867	26.09	0.17451	0.11673	33.11
26	1.23629	1.55873	26.08	0.17454	0.11701	32.96
27	1.23630	1.55861	26.07	0.17455	0.11548	33.84
28	1.23629	1.55848	26.06	0.17454	0.11597	33.56
29	1.23629	1.55831	26.05	0.17450	0.11572	33.69
30	1.23633	1.55838	26.05	0.17448	0.11568	33.70
31	1.23634	1.55839	26.05	0.17447	0.11603	33.49
average	1.23686	1.55696	25.88	0.17408	0.11692	32.83
maximum	1.25660	1.58697	28.09	0.17798	0.11992	34.59
STDEV	0.00475	0.00817	0.80	0.00145	0.00126	0.68

ตาราง จ-8 ผลการศึกษาความสามารถในการลดสีน้ำเสียและระยะเวลาที่เซลล์ตรงเชื้อรา *P.chrysosporium* สามารถทำงานได้ในระดับขวดเขย่า  
แยกศึกษาน้ำเสีย 2 จุด

day	B pure pH 4.5						A pure pH 4.5					
	enzyme activities (IU)			color (Color unit)			enzyme activities (IU)			color (Color unit)		
	morning	evening	%increase	morning	evening	%reduction	morning	evening	%increase	morning	evening	%reduction
1	0.67042	0.92072	27.19	0.23239	0.13000	44.06	1.29170	1.55107	20.08	0.06219	0.04225	32.06
2	0.67286	0.91380	26.37	0.24037	0.12928	46.22	1.30663	1.56682	19.91	0.06203	0.04070	34.38
3	0.66921	0.92233	27.44	0.26840	0.14327	46.62	1.27920	1.56537	22.37	0.06275	0.04686	25.32
4	0.67592	0.91086	25.79	0.27438	0.14838	45.92	1.29190	1.54370	19.49	0.06210	0.04169	32.86
5	0.66559	0.91693	27.41	0.25389	0.15077	40.61	1.29370	1.54939	19.76	0.06133	0.04309	29.75
6	0.68340	0.91671	25.45	0.26556	0.15096	43.15	1.28577	1.56677	21.85	0.06208	0.04388	29.31
7	0.71642	0.92627	22.66	0.25853	0.15172	41.31	1.29148	1.55156	20.14	0.06206	0.04454	28.22
8	0.70035	0.92516	24.30	0.26883	0.14981	44.27	1.28629	1.54766	20.32	0.06283	0.04383	30.24
9	0.70468	0.91919	23.34	0.26023	0.15160	41.74	1.29071	1.55829	20.73	0.06219	0.04050	34.89
10	0.70465	0.92085	23.48	0.25004	0.14080	43.69	1.30153	1.55250	19.28	0.06289	0.04319	31.33
11	0.70883	0.91928	22.89	0.25726	0.15097	41.32	1.29189	1.55531	20.39	0.06224	0.04285	31.15
12	0.72110	0.92480	22.03	0.25975	0.14993	42.28	1.29191	1.55574	20.42	0.06225	0.04311	30.74
13	0.71851	0.92024	21.92	0.26169	0.15072	42.40	1.29044	1.55463	20.47	0.06227	0.04335	30.38
14	0.71550	0.92003	22.23	0.26101	0.15008	42.50	1.29156	1.55355	20.28	0.06223	0.04300	30.89
15	0.70835	0.91737	22.79	0.25968	0.14996	42.25	1.29153	1.55454	20.36	0.06224	0.04313	30.69

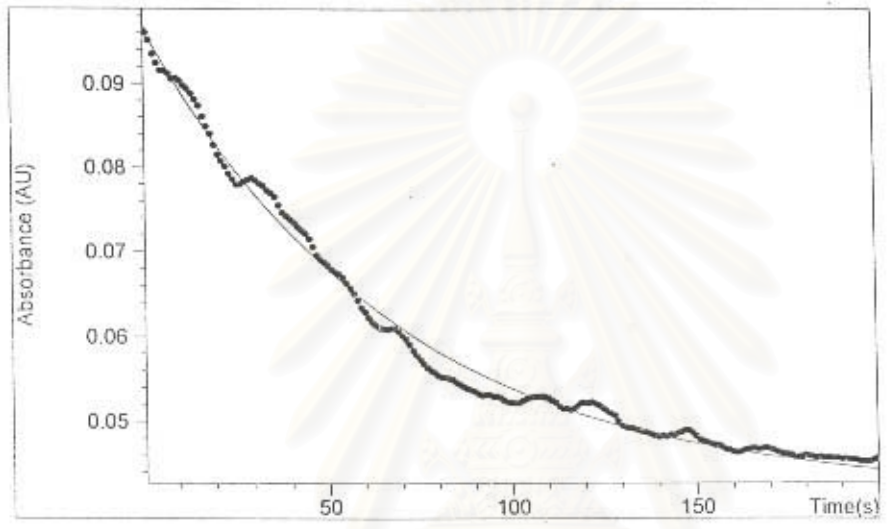
ตาราง ๘-8 (ต่อ)

day	B pure pH 4.5						A pure pH 4.5					
	enzyme activities (IU)			color (Color unit)			enzyme activities (IU)			color (Color unit)		
	morning	evening	%increase	morning	evening	%reduction	morning	evening	%increase	morning	evening	%reduction
16	0.70431	0.91797	23.28	0.26026	0.15101	41.98	1.29131	1.55505	20.42	0.06233	0.04314	30.79
17	0.71316	0.92112	22.58	0.25973	0.15127	41.76	1.29187	1.55388	20.28	0.06235	0.04307	30.93
18	0.71053	0.92060	22.82	0.25985	0.14876	42.75	1.29190	1.55412	20.30	0.06238	0.04292	31.20
19	0.71000	0.92014	22.84	0.25895	0.14829	42.73	1.29247	1.55476	20.29	0.06234	0.04283	31.30
20	0.71087	0.92251	22.94	0.25882	0.14851	42.62	1.29264	1.55441	20.25	0.06235	0.04306	30.94
21	0.70772	0.92041	23.11	0.25970	0.15174	41.57	1.29175	1.55460	20.35	0.06230	0.04305	30.90
22	0.71171	0.92052	22.68	0.25994	0.15213	41.48	1.29174	1.55453	20.34	0.06227	0.04307	30.83
23	0.70661	0.92009	23.20	0.25996	0.14975	42.40	1.29172	1.55441	20.34	0.06231	0.04306	30.89
24	0.71066	0.92389	23.08	0.25979	0.15021	42.18	1.29185	1.55439	20.32	0.06220	0.04303	30.82
25	0.70515	0.92044	23.39	0.25967	0.14986	42.29	1.29188	1.55447	20.33	0.06231	0.04304	30.93
26	0.70901	0.92077	23.00	0.25967	0.15230	41.35	1.29191	1.55446	20.32	0.06236	0.04303	31.00
27	0.70907	0.92105	23.02	0.25961	0.15100	41.83	1.29197	1.55440	20.31	0.06232	0.04301	30.98
28	0.70264	0.92104	23.71	0.25959	0.14978	42.30	1.29198	1.55445	20.32	0.06231	0.04301	30.98
29	0.70854	0.92109	23.08	0.25957	0.14997	42.22	1.29199	1.55449	20.32	0.06222	0.04302	30.86
30	0.70836	0.92118	23.10	0.25963	0.15310	41.03	1.29194	1.55446	20.32	0.06228	0.04304	30.90
31	0.70821	0.92105	23.11	0.25971	0.15276	41.18	1.29187	1.55447	20.33	0.06229	0.04303	30.91
average	0.70233	0.92027	23.68402	0.25892	0.14867	42.58147	1.29184	1.55478	20.35541	0.06228	0.04304	30.88348
maximum	0.72110	0.92627	27.44390	0.27438	0.15310	46.62072	1.30663	1.56682	22.37107	0.06289	0.04686	34.88686
STDEV	0.01549	0.00304	1.56460	0.00742	0.00564	1.47842	0.00428	0.00466	0.55031	0.00026	0.00105	1.59863

ตาราง ฉ-9 ผลการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส กับโมเลกุลลิกนิน

Time(s)	Absorbance (AU)	Time(s)	Absorbance (AU)
197.0	4.52876E-2	199.0	4.54960E-2
198.0	4.53644E-2	200.0	4.56791E-2

Time Traces



Results

WL (nm)	Rate (1/s)	Std.Dev
310	1.5239E-2	1.3036E-3

Method Summary(\*)

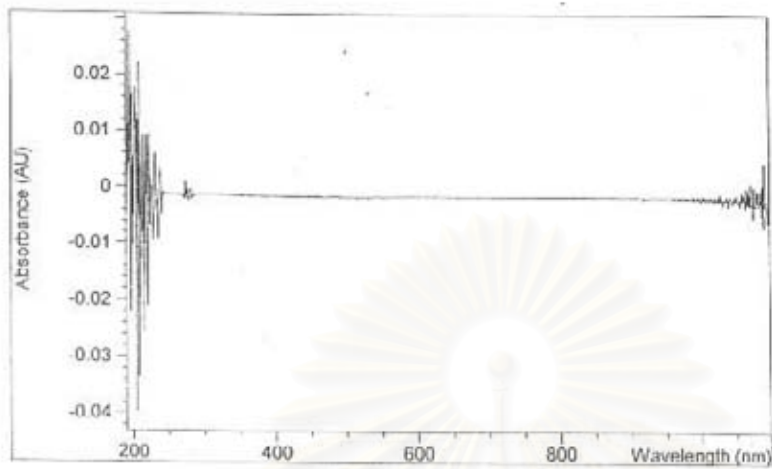
Acquisition range: from 190 nm to 1100 nm  
 Run time: 200 s  
 Start time: 0 s  
 Cycle time: 1 s  
 Wavelength of Trace 1: 310 nm  
 Rate calculation type: First order  
 Calculation time range: from 0.0 s to 200.0 s



## ตาราง ข-9 (ต่อ)

Time(s)	Absorbance (AU)	Time(s)	Absorbance (AU)
75.0	5.73344E-2	136.0	4.87490E-2
76.0	5.67718E-2	137.0	4.86083E-2
77.0	5.63431E-2	138.0	4.84209E-2
78.0	5.59893E-2	139.0	4.82755E-2
79.0	5.57551E-2	140.0	4.81834E-2
80.0	5.53660E-2	141.0	4.83055E-2
81.0	5.52120E-2	142.0	4.82225E-2
82.0	5.51677E-2	143.0	4.83909E-2
83.0	5.50656E-2	144.0	4.84018E-2
84.0	5.49326E-2	145.0	4.85749E-2
85.0	5.46217E-2	146.0	4.87013E-2
86.0	5.43799E-2	147.0	4.89211E-2
87.0	5.41224E-2	148.0	4.89335E-2
88.0	5.38940E-2	149.0	4.86073E-2
89.0	5.37286E-2	150.0	4.82621E-2
90.0	5.35450E-2	151.0	4.78482E-2
91.0	5.32942E-2	152.0	4.76570E-2
92.0	5.30963E-2	153.0	4.75197E-2
93.0	5.31554E-2	154.0	4.73566E-2
94.0	5.31297E-2	155.0	4.72159E-2
95.0	5.29680E-2	156.0	4.72145E-2
96.0	5.29470E-2	157.0	4.69918E-2
97.0	5.27720E-2	158.0	4.67253E-2
98.0	5.24936E-2	159.0	4.66347E-2
99.0	5.23005E-2	160.0	4.64110E-2
100.0	5.21955E-2	161.0	4.63433E-2
101.0	5.21688E-2	162.0	4.63853E-2
102.0	5.22146E-2	163.0	4.65860E-2
103.0	5.24263E-2	164.0	4.66762E-2
104.0	5.26581E-2	165.0	4.67030E-2
105.0	5.28207E-2	166.0	4.68121E-2
106.0	5.29132E-2	167.0	4.67262E-2
107.0	5.29208E-2	168.0	4.67620E-2
108.0	5.29885E-2	169.0	4.68645E-2
109.0	5.29222E-2	170.0	4.67610E-2
110.0	5.27911E-2	171.0	4.66518E-2
111.0	5.24883E-2	172.0	4.64058E-2
112.0	5.22304E-2	173.0	4.62990E-2
113.0	5.18026E-2	174.0	4.61602E-2
114.0	5.14913E-2	175.0	4.60949E-2
115.0	5.15060E-2	176.0	4.60210E-2
116.0	5.13554E-2	177.0	4.58169E-2
117.0	5.15265E-2	178.0	4.58069E-2
118.0	5.18723E-2	179.0	4.58555E-2
119.0	5.21908E-2	180.0	4.60305E-2
120.0	5.21722E-2	181.0	4.59251E-2
121.0	5.21832E-2	182.0	4.58188E-2
122.0	5.22857E-2	183.0	4.57335E-2
123.0	5.20725E-2	184.0	4.57940E-2
124.0	5.18541E-2	185.0	4.57087E-2
125.0	5.15246E-2	186.0	4.56800E-2
126.0	5.12118E-2	187.0	4.57010E-2
127.0	5.09338E-2	188.0	4.56433E-2
128.0	5.07221E-2	189.0	4.56424E-2
129.0	5.00216E-2	190.0	4.55565E-2
130.0	4.94928E-2	191.0	4.56223E-2
131.0	4.93121E-2	192.0	4.55470E-2
132.0	4.91929E-2	193.0	4.55170E-2
133.0	4.91700E-2	194.0	4.54521E-2
134.0	4.90203E-2	195.0	4.52962E-2
135.0	4.88443E-2	196.0	4.53110E-2

ตาราง ฉ-9 (ต่อ)



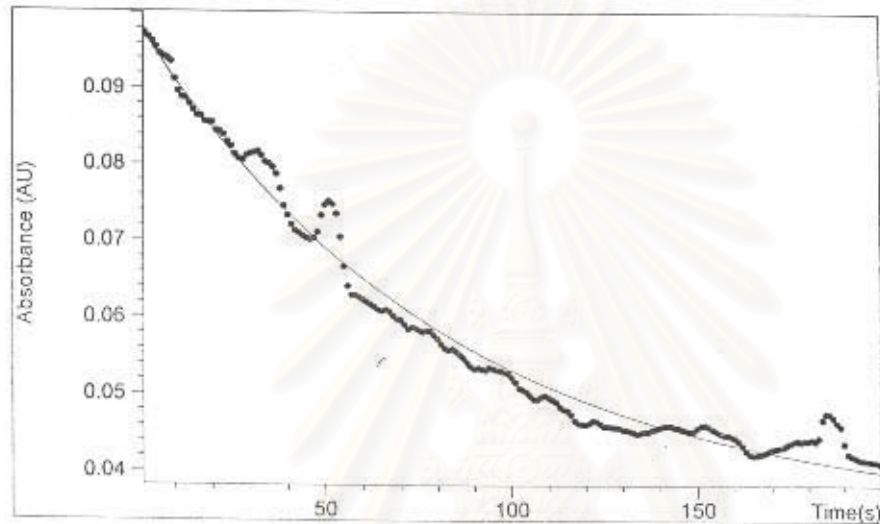
Tabular Data of Time Traces[1]

Time(s)	Absorbance (AU)	Time(s)	Absorbance (AU)
1.4	9.62944E-2	38.0	7.46388E-2
2.1	9.59678E-2	39.0	7.42273E-2
3.0	9.51018E-2	40.0	7.38202E-2
4.0	9.34587E-2	41.0	7.34396E-2
5.0	9.23963E-2	42.0	7.29504E-2
6.0	9.14984E-2	43.0	7.25164E-2
7.0	9.14912E-2	44.0	7.21426E-2
8.0	9.11770E-2	45.0	7.15284E-2
9.0	9.05051E-2	46.0	7.05752E-2
10.0	9.06229E-2	47.0	6.95982E-2
11.0	9.03277E-2	48.0	6.90861E-2
12.0	8.97450E-2	49.0	6.87609E-2
13.0	8.93555E-2	50.0	6.84505E-2
14.0	8.87976E-2	51.0	6.79102E-2
15.0	8.81190E-2	52.0	6.76246E-2
16.0	8.73604E-2	53.0	6.74038E-2
17.0	8.60643E-2	54.0	6.69627E-2
18.0	8.48918E-2	55.0	6.62971E-2
19.0	8.39834E-2	56.0	6.57225E-2
20.0	8.26602E-2	57.0	6.50959E-2
21.0	8.15029E-2	58.0	6.42719E-2
22.0	8.07443E-2	59.0	6.34103E-2
23.0	8.00929E-2	60.0	6.28967E-2
24.0	7.92460E-2	61.0	6.21905E-2
25.0	7.85851E-2	62.0	6.16632E-2
26.0	7.79514E-2	63.0	6.13179E-2
27.0	7.79939E-2	64.0	6.10046E-2
28.0	7.82752E-2	65.0	6.09341E-2
29.0	7.85165E-2	66.0	6.08692E-2
30.0	7.87191E-2	67.0	6.09794E-2
31.0	7.84264E-2	68.0	6.09593E-2
32.0	7.80921E-2	69.0	6.06461E-2
33.0	7.77874E-2	70.0	6.01482E-2
34.0	7.72705E-2	71.0	5.97363E-2
35.0	7.69396E-2	72.0	5.90973E-2
36.0	7.64809E-2	73.0	5.83754E-2
37.0	7.54905E-2	74.0	5.78103E-2

## ตาราง ข-9 (ต่อ)

Time (s)	Absorbance (AU)	Time (s)	Absorbance (AU)
197.0	4.14395E-2	199.0	4.12645E-2
198.0	4.12869E-2	200.0	4.10590E-2

## Time Traces



## Results

WL (nm)	Rate (1/s)	Std.Dev
310	1.2317E-2	2.7184E-3

## Method Summary (\*)

Acquisition range: from 190 nm to 1100 nm  
 Run time: 200 s  
 Start time: 0 s  
 Cycle time: 1 s  
 Wavelength of Trace 1: 310 nm  
 Rate calculation type: First order  
 Calculation time range: from 0.0 s to 200.0 s

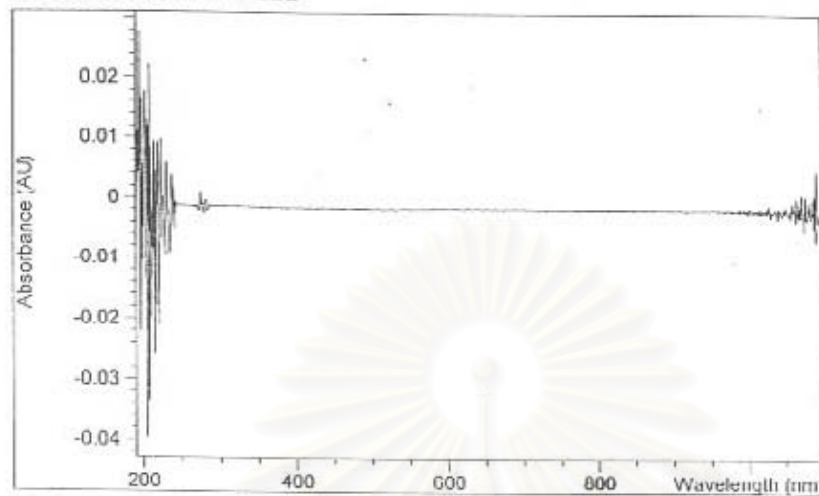
## ตาราง ข-9 (ต่อ)

Time(s)	Absorbance (AU)	Time(s)	Absorbance (AU)
75.0	5.83739E-2	136.0	4.51546E-2
76.0	5.81737E-2	137.0	4.52266E-2
77.0	5.82800E-2	138.0	4.54097E-2
78.0	5.82585E-2	139.0	4.56123E-2
79.0	5.77500E-2	140.0	4.57544E-2
80.0	5.72410E-2	141.0	4.58798E-2
81.0	5.65467E-2	142.0	4.59895E-2
82.0	5.60074E-2	143.0	4.59270E-2
83.0	5.58090E-2	144.0	4.57835E-2
84.0	5.59139E-2	145.0	4.56700E-2
85.0	5.56221E-2	146.0	4.54845E-2
86.0	5.51929E-2	147.0	4.53429E-2
87.0	5.47729E-2	148.0	4.51574E-2
88.0	5.41930E-2	149.0	4.53129E-2
89.0	5.36814E-2	150.0	4.56576E-2
90.0	5.34077E-2	151.0	4.59714E-2
91.0	5.34840E-2	152.0	4.60429E-2
92.0	5.33080E-2	153.0	4.58403E-2
93.0	5.32384E-2	154.0	4.55170E-2
94.0	5.35159E-2	155.0	4.52700E-2
95.0	5.33962E-2	156.0	4.49781E-2
96.0	5.32298E-2	157.0	4.47960E-2
97.0	5.31549E-2	158.0	4.47373E-2
98.0	5.29780E-2	159.0	4.45714E-2
99.0	5.28193E-2	160.0	4.43578E-2
100.0	5.23109E-2	161.0	4.39625E-2
101.0	5.16577E-2	162.0	4.34146E-2
102.0	5.09081E-2	163.0	4.26826E-2
103.0	5.06835E-2	164.0	4.22544E-2
104.0	5.03440E-2	165.0	4.20980E-2
105.0	4.98843E-2	166.0	4.21929E-2
106.0	4.94304E-2	167.0	4.23017E-2
107.0	4.94423E-2	168.0	4.24371E-2
108.0	4.97298E-2	169.0	4.26850E-2
109.0	4.98800E-2	170.0	4.28987E-2
110.0	4.96149E-2	171.0	4.29835E-2
111.0	4.93345E-2	172.0	4.31018E-2
112.0	4.90551E-2	173.0	4.31747E-2
113.0	4.84829E-2	174.0	4.34318E-2
114.0	4.80719E-2	175.0	4.37059E-2
115.0	4.79393E-2	176.0	4.39277E-2
116.0	4.74672E-2	177.0	4.39925E-2
117.0	4.66609E-2	178.0	4.39062E-2
118.0	4.63142E-2	179.0	4.40016E-2
119.0	4.62260E-2	180.0	4.40469E-2
120.0	4.61607E-2	181.0	4.41475E-2
121.0	4.63219E-2	182.0	4.39672E-2
122.0	4.66046E-2	183.0	4.44350E-2
123.0	4.65455E-2	184.0	4.67353E-2
124.0	4.62270E-2	185.0	4.75502E-2
125.0	4.58736E-2	186.0	4.74343E-2
126.0	4.58922E-2	187.0	4.70262E-2
127.0	4.58145E-2	188.0	4.63753E-2
128.0	4.57644E-2	189.0	4.58717E-2
129.0	4.57196E-2	190.0	4.37136E-2
130.0	4.55294E-2	191.0	4.23088E-2
131.0	4.54202E-2	192.0	4.20580E-2
132.0	4.52971E-2	193.0	4.18649E-2
133.0	4.51303E-2	194.0	4.16446E-2
134.0	4.49252E-2	195.0	4.15249E-2
135.0	4.50778E-2	196.0	4.14506E-2



## ตาราง ฉ-9 (ต่อ)

Last Blank Spectrum



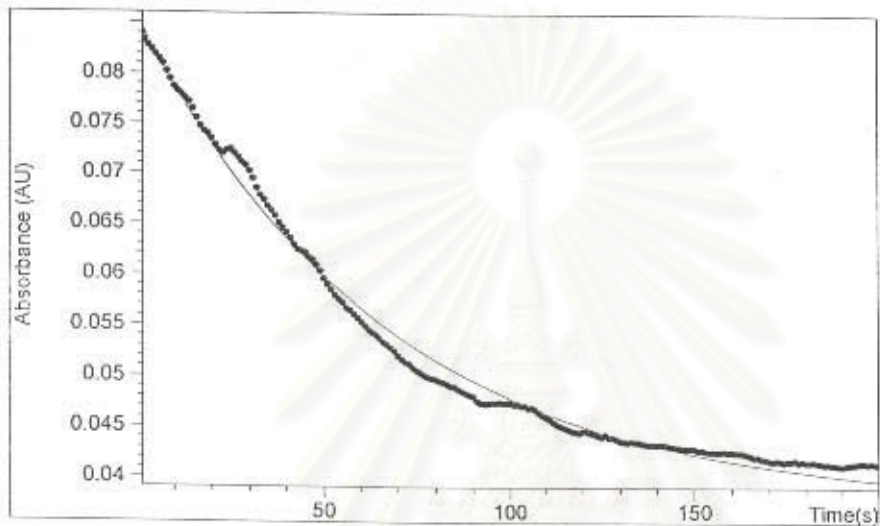
Tabular Data of Time Traces[1]

Time(s)	Absorbance (AU)	Time(s)	Absorbance (AU)
1.4	9.74994E-2	38.0	7.68104E-2
2.0	9.72438E-2	39.0	7.45711E-2
3.0	9.68199E-2	40.0	7.33600E-2
4.0	9.62005E-2	41.0	7.21374E-2
5.0	9.54685E-2	42.0	7.13644E-2
6.0	9.45678E-2	43.0	7.10568E-2
7.0	9.42163E-2	44.0	7.07383E-2
8.0	9.39136E-2	45.0	7.04346E-2
9.0	9.35135E-2	46.0	7.02367E-2
10.0	9.11860E-2	47.0	7.03840E-2
11.0	8.96082E-2	48.0	7.11679E-2
12.0	8.87761E-2	49.0	7.33466E-2
13.0	8.86555E-2	50.0	7.47318E-2
14.0	8.78882E-2	51.0	7.52683E-2
15.0	8.70862E-2	52.0	7.48291E-2
16.0	8.64000E-2	53.0	7.36008E-2
17.0	8.63209E-2	54.0	7.05547E-2
18.0	8.56438E-2	55.0	6.67201E-2
19.0	8.55017E-2	56.0	6.41127E-2
20.0	8.54549E-2	57.0	6.29749E-2
21.0	8.44307E-2	58.0	6.29239E-2
22.0	8.42590E-2	59.0	6.27413E-2
23.0	8.39105E-2	60.0	6.23865E-2
24.0	8.29797E-2	61.0	6.20627E-2
25.0	8.23708E-2	62.0	6.17299E-2
26.0	8.12631E-2	63.0	6.14567E-2
27.0	8.07285E-2	64.0	6.10662E-2
28.0	8.05173E-2	65.0	6.09040E-2
29.0	8.11682E-2	66.0	6.10676E-2
30.0	8.13909E-2	67.0	6.08172E-2
31.0	8.14724E-2	68.0	6.02822E-2
32.0	8.17113E-2	69.0	5.98516E-2
33.0	8.11534E-2	70.0	5.96943E-2
34.0	8.03113E-2	71.0	5.91259E-2
35.0	8.00806E-2	72.0	5.85537E-2
36.0	7.95808E-2	73.0	5.87826E-2
37.0	7.87539E-2	74.0	5.86429E-2

## ตาราง ข-9 (ต่อ)

Time(s)	Absorbance (AU)	Time(s)	Absorbance (AU)
197.0	4.14739E-2	199.0	4.14634E-2
198.0	4.15115E-2	200.0	4.14162E-2

## Time Traces



## Results

WL(nm)	Rate(1/s)	Std.Dev
310	1.5412E-2	8.9808E-4

## Method Summary(\*)

Acquisition range: from 190 nm to 1100 nm  
 Run time: 200 s  
 Start time: 0 s  
 Cycle time: 1 s  
 Wavelength of Trace 1: 310 nm  
 Rate calculation type: First order  
 Calculation time range: from 0.0 s to 200.0 s

สถาบันวิจัยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

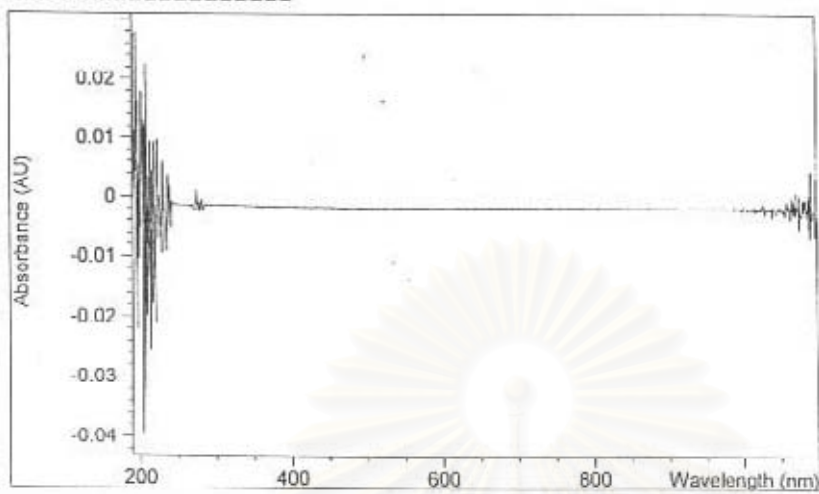


## ตาราง ข-9 (ต่อ)

Time(s)	Absorbance (AU)	Time(s)	Absorbance (AU)
75.0	5.05738E-2	136.0	4.33965E-2
76.0	5.03011E-2	137.0	4.33526E-2
77.0	5.00836E-2	138.0	4.32792E-2
78.0	4.98981E-2	139.0	4.33187E-2
79.0	4.98033E-2	140.0	4.32348E-2
80.0	4.96893E-2	141.0	4.33068E-2
81.0	4.95143E-2	142.0	4.33297E-2
82.0	4.94208E-2	143.0	4.31399E-2
83.0	4.92172E-2	144.0	4.30751E-2
84.0	4.90084E-2	145.0	4.30350E-2
85.0	4.89526E-2	146.0	4.29821E-2
86.0	4.87180E-2	147.0	4.29096E-2
87.0	4.85253E-2	148.0	4.28882E-2
88.0	4.83241E-2	149.0	4.29134E-2
89.0	4.81768E-2	150.0	4.28972E-2
90.0	4.80037E-2	151.0	4.27241E-2
91.0	4.75736E-2	152.0	4.27723E-2
92.0	4.73766E-2	153.0	4.26345E-2
93.0	4.73084E-2	154.0	4.25682E-2
94.0	4.73270E-2	155.0	4.25797E-2
95.0	4.73857E-2	156.0	4.25177E-2
96.0	4.73971E-2	157.0	4.25854E-2
97.0	4.74677E-2	158.0	4.26178E-2
98.0	4.73642E-2	159.0	4.25196E-2
99.0	4.74429E-2	160.0	4.25844E-2
100.0	4.73952E-2	161.0	4.24910E-2
101.0	4.72536E-2	162.0	4.24724E-2
102.0	4.72736E-2	163.0	4.24657E-2
103.0	4.71220E-2	164.0	4.23307E-2
104.0	4.71206E-2	165.0	4.22153E-2
105.0	4.68850E-2	166.0	4.20842E-2
106.0	4.69255E-2	167.0	4.20666E-2
107.0	4.67405E-2	168.0	4.19035E-2
108.0	4.64625E-2	169.0	4.18396E-2
109.0	4.61965E-2	170.0	4.17261E-2
110.0	4.60010E-2	171.0	4.16617E-2
111.0	4.58045E-2	172.0	4.17132E-2
112.0	4.55179E-2	173.0	4.16932E-2
113.0	4.52709E-2	174.0	4.15645E-2
114.0	4.51131E-2	175.0	4.16451E-2
115.0	4.49886E-2	176.0	4.16732E-2
116.0	4.48089E-2	177.0	4.17542E-2
117.0	4.46682E-2	178.0	4.15678E-2
118.0	4.45824E-2	179.0	4.16484E-2
119.0	4.45104E-2	180.0	4.15716E-2
120.0	4.46177E-2	181.0	4.15616E-2
121.0	4.46157E-2	182.0	4.15031E-2
122.0	4.44670E-2	183.0	4.15235E-2
123.0	4.44117E-2	184.0	4.14486E-2
124.0	4.42076E-2	185.0	4.13523E-2
125.0	4.40950E-2	186.0	4.14076E-2
126.0	4.42581E-2	187.0	4.13208E-2
127.0	4.40059E-2	188.0	4.12989E-2
128.0	4.39801E-2	189.0	4.12407E-2
129.0	4.38452E-2	190.0	4.12202E-2
130.0	4.36611E-2	191.0	4.12674E-2
131.0	4.35762E-2	192.0	4.13208E-2
132.0	4.35367E-2	193.0	4.13890E-2
133.0	4.35877E-2	194.0	4.14267E-2
134.0	4.35467E-2	195.0	4.15239E-2
135.0	4.35438E-2	196.0	4.15545E-2

## ตาราง ฉ-9 (ต่อ)

Last Blank Spectrum

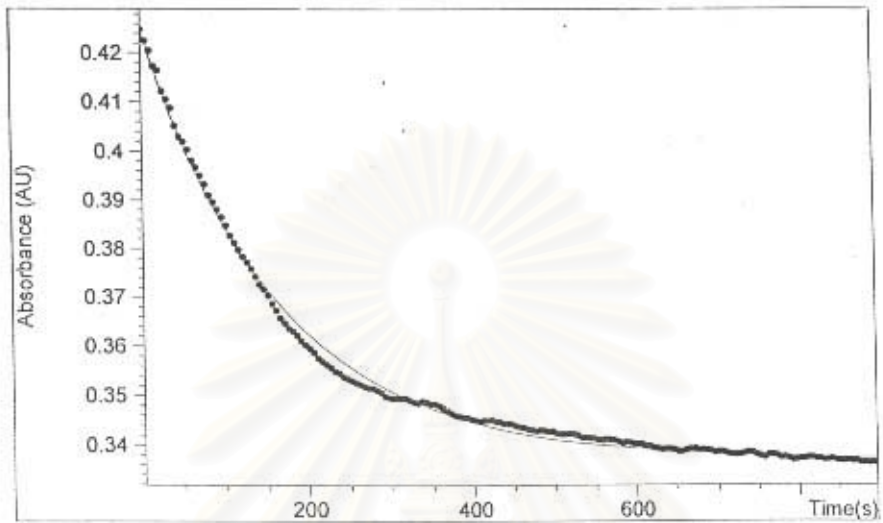


Tabular Data of Time Traces[1]

Time(s)	Absorbance (AU)	Time(s)	Absorbance (AU)
1.4	8.39481E-2	38.0	6.50544E-2
2.0	8.32829E-2	39.0	6.45914E-2
3.0	8.27765E-2	40.0	6.41150E-2
4.0	8.23193E-2	41.0	6.35643E-2
5.0	8.18815E-2	42.0	6.29163E-2
6.0	8.13985E-2	43.0	6.24547E-2
7.0	8.09479E-2	44.0	6.23055E-2
8.0	8.01978E-2	45.0	6.21386E-2
9.0	7.94230E-2	46.0	6.16693E-2
10.0	7.86738E-2	47.0	6.14314E-2
11.0	7.82523E-2	48.0	6.09159E-2
12.0	7.78942E-2	49.0	6.02004E-2
13.0	7.75461E-2	50.0	5.95504E-2
14.0	7.71751E-2	51.0	5.90000E-2
15.0	7.64484E-2	52.0	5.84373E-2
16.0	7.55472E-2	53.0	5.79429E-2
17.0	7.47399E-2	54.0	5.75366E-2
18.0	7.42621E-2	55.0	5.71923E-2
19.0	7.39627E-2	56.0	5.67050E-2
20.0	7.34887E-2	57.0	5.64556E-2
21.0	7.28092E-2	58.0	5.60775E-2
22.0	7.22628E-2	59.0	5.57208E-2
23.0	7.20277E-2	60.0	5.53083E-2
24.0	7.23000E-2	61.0	5.49364E-2
25.0	7.24373E-2	62.0	5.45368E-2
26.0	7.20401E-2	63.0	5.42612E-2
27.0	7.16472E-2	64.0	5.40013E-2
28.0	7.11360E-2	65.0	5.37324E-2
29.0	7.08122E-2	66.0	5.33185E-2
30.0	7.02300E-2	67.0	5.30653E-2
31.0	6.95014E-2	68.0	5.27792E-2
32.0	6.85482E-2	69.0	5.24559E-2
33.0	6.78468E-2	70.0	5.19819E-2
34.0	6.73614E-2	71.0	5.16496E-2
35.0	6.67109E-2	72.0	5.13744E-2
36.0	6.63071E-2	73.0	5.11942E-2
37.0	6.57735E-2	74.0	5.08213E-2

## ตาราง ฉ-9 (ต่อ)

## Time Traces



## Results

WL(nm)	Rate(1/s)	Std.Dev
310	6.213E-3	2.3963E-4

## Method Summary(\*)

Acquisition range: from 190 nm to 1100 nm  
 Run time: 900 s  
 Start time: 0 s  
 Cycle time: 5 s  
 Wavelength of Trace 1: 310 nm  
 Rate calculation type: First order  
 Calculation time range: from 0.0 s to 900.0 s

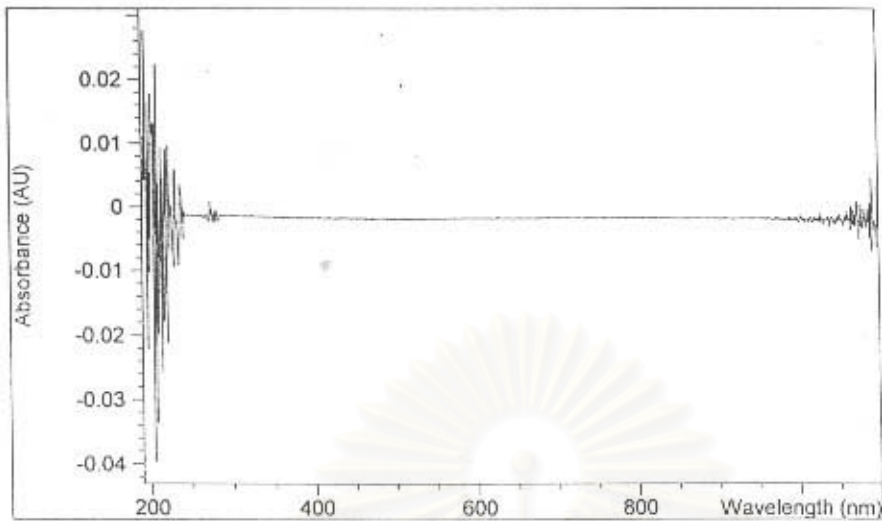
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ตาราง ข-9 (ต่อ)

Time (s)	Absorbance (AU)	Time (s)	Absorbance (AU)
372.0	0.346328	637.0	0.339160
377.0	0.345916	642.0	0.339148
382.0	0.345728	646.9	0.339007
387.0	0.345583	652.0	0.338698
392.0	0.345446	656.9	0.338710
397.0	0.345125	662.0	0.338959
402.0	0.344915	666.9	0.339129
407.0	0.344718	671.9	0.339255
412.0	0.344913	676.9	0.338980
417.0	0.344932	681.9	0.339026
422.0	0.344994	686.9	0.338960
427.0	0.344655	691.9	0.338792
432.0	0.344563	696.9	0.338475
437.0	0.344316	701.9	0.338620
442.0	0.344232	706.9	0.338595
447.0	0.344162	711.9	0.338219
452.0	0.343803	716.9	0.338114
457.0	0.343579	721.9	0.338042
462.0	0.343437	726.9	0.338092
467.0	0.343119	731.9	0.338304
472.0	0.342989	736.9	0.338592
477.0	0.342815	741.9	0.338473
482.0	0.342898	746.9	0.337984
487.0	0.342861	751.9	0.337774
492.0	0.342665	756.9	0.337489
497.0	0.342707	761.9	0.337988
502.0	0.342246	766.9	0.338048
507.0	0.342110	771.9	0.337842
512.0	0.342159	776.9	0.337451
517.0	0.342204	781.9	0.337483
522.0	0.342111	786.9	0.337291
527.0	0.341943	791.9	0.336920
532.0	0.341440	796.9	0.337038
537.0	0.341372	801.9	0.337187
542.0	0.341335	806.9	0.337225
547.0	0.341285	811.9	0.337444
552.0	0.341008	816.9	0.337440
557.0	0.340951	821.9	0.337186
562.0	0.341165	826.9	0.337198
567.0	0.341094	831.9	0.336950
572.0	0.340933	836.9	0.337022
577.0	0.340694	841.9	0.337163
582.0	0.340416	846.9	0.336887
587.0	0.340497	851.9	0.336792
592.0	0.340406	856.9	0.336787
597.0	0.340249	861.9	0.336896
602.0	0.340230	866.9	0.336711
607.0	0.340147	871.9	0.336705
612.0	0.339741	876.9	0.336432
617.0	0.339739	881.9	0.336426
622.0	0.339385	886.9	0.336392
627.0	0.339203	891.9	0.336418
632.0	0.339059	896.9	0.336345



ตาราง ฉ-9 (ต่อ)



Tabular Data of Time Traces[1]

Time(s)	Absorbance (AU)	Time(s)	Absorbance (AU)
1.4	0.424714	187.0	0.362136
7.0	0.422390	192.0	0.361074
12.0	0.420399	197.0	0.360244
17.0	0.417245	202.0	0.359515
22.0	0.416344	207.0	0.358628
27.0	0.412097	212.0	0.357533
32.0	0.410446	217.0	0.356841
37.0	0.408725	222.0	0.356211
42.0	0.405113	227.0	0.355593
47.0	0.402870	232.0	0.354806
52.0	0.401917	237.0	0.354473
57.0	0.400222	242.0	0.353776
62.0	0.398026	247.0	0.353423
67.0	0.396625	252.0	0.352959
72.0	0.394975	257.0	0.352533
77.0	0.393200	262.0	0.352230
82.0	0.390909	267.0	0.351830
87.0	0.389555	272.0	0.351483
92.0	0.388014	277.0	0.351449
97.0	0.386424	282.0	0.351024
102.0	0.384719	287.0	0.350659
107.0	0.382608	292.0	0.349792
112.0	0.381141	297.0	0.349554
117.0	0.379732	302.0	0.349316
122.0	0.378286	307.0	0.349471
127.0	0.377137	312.0	0.349424
132.0	0.375833	317.0	0.349388
137.0	0.374161	322.0	0.348952
142.0	0.372543	327.0	0.348541
147.0	0.371502	332.0	0.348435
152.0	0.370243	337.0	0.348804
157.0	0.368620	342.0	0.348673
162.0	0.367210	347.0	0.348276
167.0	0.365732	352.0	0.348175
172.0	0.364701	357.0	0.347903
177.0	0.363569	362.0	0.347340
182.0	0.363023	367.0	0.346795

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวชยพร สงวนทรัพย์ากร เกิดเมื่อวันที่ 13 พฤศจิกายน 2521 เป็นบุตรคนโต ในจำนวนพี่น้อง 2 คน เมื่อจบการศึกษาระดับมัธยมปลายได้เข้าศึกษาต่อที่ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จบการศึกษาระดับปริญญาตรีเมื่อปีการศึกษา 2542 และจบการศึกษาระดับปริญญาโทปีการศึกษา 2544



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย