

การกำจัดสรีรแอกทีฟเรด 2 ในน้ำเสียสังเคราะห์โดยแบคทีเรียเด่น
ในกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก

นางสาวมาลิสดา เนียมมณี



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย จฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2542

ISBN 974-334-959-6

ลิขสิทธิ์ของจฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DECOLORIZATION OF REACTIVE RED 2 IN SYNTHETIC WASTEWATER
BY DOMINANT BACTERIA IN AN ANAEROBIC-AEROBIC SBR PROCESS



Miss Talisa Niemmanee

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Environmental Science

Inter-Department of Environmental Science

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1999

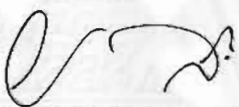
ISBN 974-334-959-6


หัวข้อวิทยานิพนธ์ การกำจัดสีรีแอกทีฟเฟรด 2 ในน้ำเสียสังเคราะห์โดยแบคทีเรียเด่น
 ในกระบวนการเฮสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก
โดย นางสาวมาลิศา เนียมมณี
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

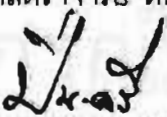
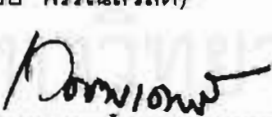
..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.สุชาติ กิระนันท์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์)


..... กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย พรรณสวัสดิ์)

 
..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิ่น-ฉวี เวชชานูเคราะห์)

ฉาติศา เนียมมณี : การกำจัดสีรีแอกทีฟเรด 2 ในน้ำเสียสังเคราะห์โดยแบคทีเรียเด่นใน
กระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก (DECOLORIZATION OF REACTIVE RED 2 IN
SYNTHETIC WASTEWATER BY DOMINANT BACTERIA IN AN ANAEROBIC-AEROBIC
SBR PROCESS.) อ.ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ ; 135 หน้า. ISBN 974-334-959-6.

สีย้อมอะโรเป็นสีสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างหลากหลาย และเป็นสีย้อมกลุ่มหลักกลุ่มหนึ่ง
ที่ถูกปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม การบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีสีย้อม Reactive Red 2 โดยกระบวนการ
การเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกที่มีเวลากักแอนแอโรบิก 10, 18 และ 30 ชั่วโมง พบว่าชุด
การทดลองที่มีเวลากักแอนแอโรบิก 30 ชั่วโมงจะกำจัดได้สูงที่สุด ซึ่งการกำจัดสีส่วนใหญ่จะเกิด
ขึ้นในชั้นแอนแอโรบิกและมีสารอะนิลีนเกิดขึ้น เมื่อคัดแยกเชื้อที่สามารถกำจัดสีได้จากกระบวนการ
การดังกล่าว พบเชื้อที่มีความสำคัญในการกำจัดสี 3 สกุล คือ *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp.
และ *Klebsiella* sp. เชื้อที่คัดเลือกได้เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสีภายใต้สภาวะแอโรบิก
และแอนแอโรบิก ในสภาวะแอนแอโรบิกสี Reactive Red 2 จะถูกกำจัดได้ดีและพบอะนิลีนเกิด
ขึ้นเช่นเดียวกับที่พบในกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก เป็นการยืนยันว่า
แบคทีเรียเหล่านี้มีบทบาทในการย่อยสลายสีและสร้างอะนิลีนในกระบวนการเอสบีอาร์แบบ
แอนแอโรบิก-แอโรบิก จริง หลังจากขั้นตอนให้อากาศไม่พบอะนิลีนในการทดลองใดเลย แสดงว่า
แบคทีเรียสามารถสลายอะนิลีนได้ในสภาวะที่มีอากาศ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....สนสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม ลายมือชื่อนิติ.....
สาขาวิชา.....วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม..... ลายมือ ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา.....2542.....

3971557623 : MAJOR INTER-DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEY WORDS : BIODEGRADATION / AZO DYE / ANILINE / DECOLORIZATION

TALISA NIEMMANEE: DECOLORIZATION OF REACTIVE RED 2 IN SYNTHETIC WASTEWATER BY DOMINANT BACTERIA IN AN ANAEROBIC-AEROBIC SBR PROCESS. THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. CHARNWIT KOSITANONT, Ph.D. 135 pp. ISBN 974-334-959-6

Azo-dye, a group of synthetic organic colorants with various structural variety, is one of the major groups of dyes released into the environment. Treating of Reactive Red 2, an azo-dye, in synthetic wastewater by using anaerobic-aerobic SBR reactor with 10, 18 and 30 hours anaerobic stage, was found that 30 hours anaerobic stage was the most effective condition for dye reduction. The highest dye reduction and aniline concentration of 0.5651 mg/l was also found in this condition. Dominant Reactive Red 2 decolorizable bacteria were isolated from the system and identified as *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp. and *Klebsiella* sp.. Active growth on Reactive Red 2 agar contained basal medium was observed both in aerobic and anaerobic condition. Under anaerobic condition, azo-dye reduction and aniline occurrence was detected as found in anaerobic-aerobic SBR. This is a confirmation for these bacterial role in dye reduction and aniline production in the Anaerobic-Aerobic SBR system. After aeration stage, no aniline was detected in any experiment indicating bacterial capability in aerobic degrading of aniline.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม .ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา.....วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา.....2542.....



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยการให้คำปรึกษาแนะนำอย่างดียิ่งของ อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ ผู้วิจัยจึงใคร่ขอกราบขอบพระคุณ เป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์ ประธานกรรมการสอบ วิทยานิพนธ์ ศ.ดร.ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และ ผศ.ดร.ปิ่น-ฉวี เวชชานูเคราะห์ คณะกรรมการสอบ วิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัย

ขอขอบพระคุณสหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความ อนุเคราะห์ในด้านสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย รวมถึงเจ้าหน้าที่ผู้ดูแล ห้องปฏิบัติการ ที่ช่วยอำนวยความสะดวกทำให้สามารถดำเนินงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณมูลนิธิชินโสภณพนิช สำหรับเงินทุนสนับสนุนการศึกษาและงานวิจัย

ขอขอบคุณ คุณปรีชาวิทย์ รอดรัตน์ ที่อนุเคราะห์น้ำเสียจากกระบวนการ รวมถึงให้คำ แนะนำ ความช่วยเหลือ และข้อมูลต่างๆ ที่จำเป็น

และท้ายที่สุดนี้ขอขอบพระคุณพ่อ แม่ พี่และน้อง รวมทั้งเพื่อน ๆ ที่ให้ความรัก ความเข้าใจ ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจเสมอมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูป.....	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 อุตสาหกรรมสิ่งทอ.....	4
2.2 สีย้อมและมลพิษของสีย้อม.....	12
2.3 อะนิลีน.....	20
2.4 วิธีการกำจัดสีของน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อม.....	27
2.5 กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบเอสปีอาร์.....	40
2.6 กระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก.....	41
2.7 การกำจัดสีโดยจุลินทรีย์.....	45
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	48
3.1 แผนการทดลอง.....	48
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย.....	48
3.3 ศึกษาความสามารถในการกำจัดอะนิลีนของเชื้อที่คัดเลือก.....	56
3.4 การระบุแบคทีเรีย.....	56
3.5 การประเมินผลโดยใช้ผลการทดสอบทางสถิติ.....	58
4 ผลการทดลอง.....	59
4.1 การกำจัดสี Reactive Red 2 โดยกระบวนการเอสปีอาร์ แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก.....	59
4.2 การกำจัดสี Reactive Red 2 โดยจุลินทรีย์ที่คัดจาก กระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก.....	70
4.3 การระบุแบคทีเรียที่สามารถกำจัดสี Reactive Red 2.....	88

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4 ความสามารถในการกำจัดอะนินในสภาวะแอโรบิก ของเชื้อทั้ง 6 ชนิด.....	93
5 อภิปรายผลการทดลอง.....	94
5.1 การกำจัดสี Reactive Red 2 ในกระบวนการเอสปีอาร์ แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก.....	94
5.2 การคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถกำจัดสี Reactive Red 2	95
5.3 การกำจัดสี Reactive Red 2 ในอาหารแข็ง.....	96
5.4 การกำจัดสี Reactive Red 2 ในอาหารเหลว.....	97
5.5 การตรวจวัดสารที่เกิดจากการกำจัดสี Reactive Red 2 โดยแบคทีเรียที่คัดเลือก.....	98
5.6 การระบุแบคทีเรียที่สามารถกำจัดสี Reactive Red 2.....	99
5.7 การศึกษาการกำจัดอะนินโดยแบคทีเรียกลุ่มเดียวกับ ที่กำจัดสี Reactive Red 2.....	99
5.8 อัตราการเกิดอะนินและอัตราการลดลงของสีในชั้นแอนแอโรบิก.....	100
5.9 การตรวจวัดอะนินโดยใช้พื้นที่ได้กราฟ.....	102
6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	106
รายการอ้างอิง.....	109
ภาคผนวก.....	113
ภาคผนวก ก.....	114
ภาคผนวก ข.....	115
ภาคผนวก ค.....	116
ภาคผนวก ง.....	117
ภาคผนวก จ.....	120
ภาคผนวก ฉ.....	123
ภาคผนวก ช.....	124
ภาคผนวก ฌ.....	129
ภาคผนวก ญ.....	134
ประวัติผู้วิจัย.....	135

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงการจำแนกสีตามโครงสร้างทางเคมี.....	14
ตารางที่ 2.2 ค่า LD ₅₀ ของสีย้อมสิ่งทอ.....	17
ตารางที่ 2.3 สรุปการประเมินของ IARC เกี่ยวกับสีอินทรีย์.....	18
ตารางที่ 2.4 ค่ามาตรฐานความปลอดภัยในการทำงาน.....	26
ตารางที่ 2.5 การกำจัดสีที่ฟอกในสภาวะแอนแอโรบิกที่มีการเติมแหล่งคาร์บอนเสริม.....	37
ตารางที่ 3.1 ปริมาณของสารต่างๆ ที่ใช้ในการสังเคราะห์น้ำเสีย.....	49
ตารางที่ 3.2 ตำแหน่งการเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ	51
ตารางที่ 4.1 ปริมาณอะนิลีนในแต่ละชั้นของแต่ละชุดการทดลอง.....	67
ตารางที่ 4.2 แสดงจุลินทรีย์ที่คัดแยกจากกระบวนการแอนแอโรบิก-แอโรบิกใน 3 ชุดการทดลอง.....	71
ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงลักษณะเพื่อระบุที่จากกระบวนการแอนแอโรบิก-แอโรบิก.....	72
ตารางที่ 4.4 ปริมาณสีในหน่วย ADMI ในอาหารเหลวที่สภาวะแอนแอโรบิกของเชื้อที่คัดเลือก.....	79
ตารางที่ 4.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร เมื่อป่มในสภาวะแอนแอโรบิก.....	84
ตารางที่ 4.6 แสดงร้อยละการกำจัดสีในหน่วย ADMI ในสภาวะแอโรบิก.....	86
ตารางที่ 4.7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะแอโรบิก.....	86
ตารางที่ 4.8 เปรียบเทียบสมบัติของแต่ละสายพันธุ์กับ <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Klebsiella</i> sp. และ <i>Proteus</i> sp.....	92
ตารางที่ ก แสดงสินค้าออกสำคัญ 10 อันดับแรกของไทย ปี 2538-2542 (ม.ค.-ก.ย.).....	114
ตารางที่ ข สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนต่างๆ ในกระบวนการฟอกย้อม.....	115
ตารางที่ ค การจำแนกประเภทของสิ่งสกปรกเจือปนในน้ำทิ้ง ตามระดับ BOD และความยากง่ายในการย่อยสลายทางชีวภาพ.....	115
ตารางที่ จ ปริมาณตัวอย่างและรีเอเจนต์ที่ใช้สำหรับขนาดต่างๆ ของภาชนะที่ใช้ในการย่อยสลาย.....	122
ตารางที่ ช ตารางวิเคราะห์ค่าทางสถิติ.....	129

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 แสดงกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมสิ่งทอ.....	5
รูปที่ 2.2 แสดงขั้นตอนการผลิตในอุตสาหกรรมฟอกย้อม-พิมพ์.....	9
รูปที่ 2.3 แสดงการเกิดตะกอน.....	28
รูปที่ 2.4 แสดงขั้นตอนของกระบวนการตกตะกอน.....	29
รูปที่ 2.5 ปฏิริยาการย่อยสลายสี Direct Yellow 12 ในสภาวะแอนแอโรบิก.....	35
รูปที่ 2.6 ปฏิริยาการย่อยสลายสี Acid Yellow 12 ในสภาวะแอนแอโรบิก.....	35
รูปที่ 2.7 กลไกการย่อยสลายสี Reactive Red 141	38
รูปที่ 2.8 การทำงานของกระบวนการเอสบีอาร์.....	40
รูปที่ 2.9 ระบบเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก.....	42
รูปที่ 2.10 กลไกการทำงานของจุลชีพที่สะสมฟอสฟอรัส.....	43
รูปที่ 2.11 กลไกการทำงานของจุลชีพที่สะสมกลัยโคเจน.....	44
รูปที่ 3.1 การติดตั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ระบบเอสบีอาร์.....	50
รูปที่ 4.1 ปริมาณสีหน่วย ADMI เมื่อผ่านขั้นตอนต่างๆ ในแต่ละชุดการทดลอง.....	60
รูปที่ 4.2 ร้อยละการกำจัดสีเฉลี่ยในหน่วย ADMI ที่แต่ละขั้นของชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3 ..	61
รูปที่ 4.3 ปริมาณสีหน่วย SU เมื่อผ่านขั้นตอนต่างๆ ในแต่ละชุดการทดลอง.....	62
รูปที่ 4.4 ร้อยละการกำจัดสีเฉลี่ยในหน่วย SU ที่แต่ละขั้นของชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3.....	63
รูปที่ 4.5 ปริมาณซีไอดีเฉลี่ยในแต่ละขั้นของแต่ละชุดการทดลอง.....	65
รูปที่ 4.6 ร้อยละการกำจัดซีไอดีเฉลี่ยในแต่ละขั้นของแต่ละชุดการทดลอง.....	66
รูปที่ 4.7 เปรียบเทียบการกำจัดสีและซีไอดีของแต่ละชุดการทดลอง.....	67
รูปที่ 4.8 ปริมาณอะนิลีนเฉลี่ยในชั้นแอนแอโรบิกในแต่ละชุดการทดลอง.....	69
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงระดับการลดลงของสีในสภาวะแอนแอโรบิกเมื่อเตรียมหัวเชื้อแบบ A.....	76
รูปที่ 4.10 แสดงการกำจัดสีในสภาวะแอนแอโรบิกที่เวลา 48 ชั่วโมงของแต่ละรหัสเชื้อ เมื่อเตรียมหัวเชื้อแบบ B.....	77
รูปที่ 4.11 แสดงการกำจัดสีในสภาวะแอนแอโรบิกที่เวลา 84 ชั่วโมงของแต่ละรหัสเชื้อ เมื่อเตรียมหัวเชื้อแบบ B.....	77
รูปที่ 4.12 กราฟแสดงการลดลงของสีในสภาวะแอนแอโรบิกเมื่งเตรียมหัวเชื้อแบบ B.....	78
รูปที่ 4.13 แสดงร้อยละการกำจัดสีในหน่วย ADMI ที่สภาวะแอนแอโรบิก ของแต่ละเชื้อที่คัดเลือก.....	80

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.14	แสดงการกำจัดสีของเชื้อรหัสด ANAN36-3 ที่เวลา 12, 84, 120 และ 168 ชั่วโมง.....	81
รูปที่ 4.15	แสดงการกำจัดสีของเชื้อรหัสด AA16-2 ที่เวลา 12, 120 และ 168 ชั่วโมง.....	81
รูปที่ 4.16	แสดงการกำจัดสีของเชื้อรหัสด AA16-3 ที่เวลา 12, 84, 120 และ 168 ชั่วโมง.....	82
รูปที่ 4.17	แสดงการกำจัดสีของเชื้อรหัสด ANAN16-4 ที่เวลา 12, 84, 120 และ 168 ชั่วโมง.....	82
รูปที่ 4.18	แสดงการกำจัดสีของเชื้อรหัสด AA36-7 ที่เวลา 12, 84, 120 และ 168 ชั่วโมง.....	83
รูปที่ 4.19	แสดงการกำจัดสีของแต่ละเชื้อที่เวลา 168 ชั่วโมง.....	83
รูปที่ 4.20	ร้อยละการกำจัดสีในสภาวะแอนแอโรบิกเมื่อวัดที่ความยาวคลื่นที่ให้ ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (530 นาโนเมตร).....	85
รูปที่ 4.21	ร้อยละการกำจัดสีในสภาวะแอนแอโรบิกเมื่อวัดที่ความยาวคลื่นที่ให้ ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (530 นาโนเมตร).....	87
รูปที่ 4.22	แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัสด ANAN36-3.....	89
รูปที่ 4.23	แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัสด AA16-2.....	89
รูปที่ 4.24	แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัสด AA16-3.....	90
รูปที่ 4.25	แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัสด ANAN16-4.....	90
รูปที่ 4.26	แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัสด AA36-7.....	91
รูปที่ 4.27	แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัสด AAN16-1.....	91
รูปที่ 5.1	อัตราการเกิดอะนิลินที่ช่วงเวลาต่างๆ ในชั้นแอนแอโรบิก.....	101
รูปที่ 5.2	อัตราการลดลงของสีที่ช่วงเวลาต่างๆ ในชั้นแอนแอโรบิก.....	101
รูปที่ 5.3	แสดงกราฟอะนิลินมาตรฐาน.....	103
รูปที่ 5.4	แสดงพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างน้ำเสีย.....	104
รูปที่ 5.5	แสดงพื้นที่ใต้พีคของอะนิลินมาตรฐาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	105
รูปที่ ๖	กราฟมาตรฐานอะนิลิน.....	133
รูปที่ ๗-1	แสดงผลการฉีดอะนิลินเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	134
รูปที่ ๗-2	แสดงผลการฉีดตัวอย่างน้ำที่ผ่านการกำจัดสีในสภาวะแอนแอโรบิก.....	134



ผลจากการขยายตัวอย่างรวดเร็วของอุตสาหกรรมสิ่งทอ นอกจากจะก่อให้เกิดรายได้เข้าประเทศอย่างสูงแล้ว ปัญหาหนึ่งก็ตามมาก็คือปัญหาเรื่องมลพิษทางน้ำที่เกิดขึ้นและกระจายสู่สิ่งแวดล้อม เนื่องจากในอุตสาหกรรมสิ่งทอจะประกอบด้วยกระบวนการฟอกย้อมซึ่งเป็นกระบวนการที่ต้องใช้สีย้อมเป็นวัตถุดิบสำคัญร่วมกับน้ำและสารเคมีอื่นๆ จึงก่อให้เกิดน้ำทิ้งในปริมาณมาก โดยสารประกอบต่างๆที่ปนเปื้อนในน้ำทิ้งที่ออกสู่สิ่งแวดล้อมนั้นจะมีองค์ประกอบแตกต่างกันไปตามสภาพและวิธีการและสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิต แต่โดยทั่วไปมลพิษในน้ำเสียที่เกิดจากโรงงานฟอกย้อมจะประกอบด้วย สี ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณบีโอดี ปริมาณซีโอดี ของแข็งแขวนลอย และอื่นๆ เช่น เกลือ โฟม และกลิ่นเหม็น เป็นต้น โดยปัญหาสำคัญปัญหาหนึ่งที่จะกล่าวถึงในที่นี้ก็คือน้ำเสียที่มีสีย้อมปนเปื้อน

สีย้อมที่ใช้กันอยู่ในอุตสาหกรรมฟอกย้อมนั้นมีหลายชนิด โดยทั่วไปสีย้อมเป็นสารที่ได้ชื่อว่ามีความเป็นพิษต่ำ แต่ก็เป็นที่ทราบกันดีว่าสารวัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์สีย้อมมีจำนวนไม่น้อยที่มีความเป็นพิษสูงมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งสีย้อมประเภทสีย้อมอะโซซึ่งเป็นกลุ่มที่ใช้กันอย่างกว้างขวางและเป็นสีย้อมที่สามารถก่อมะเร็งได้ ปัญหาของสีย้อมต่อสิ่งแวดล้อมที่เห็นได้อย่างชัดเจนคือ สภาพที่ไม่น่าดูส่งผลต่อความรู้สึกหรือที่เรียกว่ามลพิษทางสายตา สีที่ปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมสามารถเห็นได้ง่ายแม้จะมีความเข้มข้นต่ำ โดยทั่วไปปริมาณสีประมาณ 0.1-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรก็ทำให้สามารถทำให้สังเกตเห็นได้เมื่ออยู่ในแหล่งน้ำ แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นต้องขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น สีสภาพแสง ระดับความใสของน้ำ นอกจากปัญหาดังกล่าวแล้ว สียังขัดขวางการส่องของแสงซึ่งจะมีผลต่อการสังเคราะห์ออกซิเจนของพืชในน้ำ จากปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมดังกล่าวจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องกำจัดสีน้ำทิ้งก่อนที่จะปล่อยออกสู่แหล่งน้ำสาธารณะ

วิธีการต่างๆ ในการกำจัดสีในน้ำทิ้งที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน มี 5 ประเภทหลักคือใช้ถ่านกัมมันต์ (Activated Charcoal) ซึ่งเป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เทคนิคนี้จะมีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อใช้ในโรงงานขนาดเล็กและในช่วงเวลาสั้นๆ ถ้าน้ำทิ้งมีปริมาณมาก ค่าใช้จ่ายจะสูงมากไม่คุ้มทางด้านเศรษฐศาสตร์ เทคโนโลยีเมมเบรนเป็นเทคนิคที่สามารถบำบัดน้ำทิ้งที่มีปริมาณมากได้รวดเร็วแต่ต้นทุนค่าอุปกรณ์สูงและการทำความสะอาดเมมเบรนสามารถก่อให้เกิดปัญหาขึ้นได้ ระบบการเติมโอโซนเป็นเทคนิคที่สามารถบำบัดน้ำทิ้งที่มีปริมาณมาก ข้อเสียของ

ระบบนี้คือสารใหม่ที่เกิดจากการแตกของพันธะนั้นนี้อาจเป็นพิษได้ ระบบตกตะกอนหรือการทำให้เกิดตะกอนวันสามารถกำจัดสีออกได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่สารตกตะกอนที่เหลืออยู่ในน้ำทิ้งจะส่งผลเสียต่อกระบวนการไนโตรฟิกเคชัน จะเห็นได้ว่าการบำบัดทางกายภาพและทางเคมีนั้นปัจจุบันยังไม่เหมาะสมในด้านความปลอดภัยต่อระบบนิเวศ แม้ว่ากระบวนการทั้งสองจะสามารถลดค่าบีโอดี ซีโอดี และสีได้ก็ตาม จากเหตุผลดังกล่าวทำให้ระบบบำบัดทางชีววิทยาได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากเป็นระบบที่ง่าย ต้นทุนต่ำ ปลอดภัย และมีศักยภาพสูงในการประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมการฟอกย้อม

ระบบบำบัดทางชีววิทยานั้นจะแยกเป็น 2 แบบ คือ การบำบัดในสภาวะแอนแอโรบิก และสภาวะแอโรบิก ได้มีการศึกษาพบว่าสีรีแอกทีฟที่มีกลุ่มอะโซ (N=N) เป็นโครงสร้างโมเลกุลที่สามารถถูกกำจัดได้ในสภาวะแอนแอโรบิกโดยกลไกที่ทำให้เกิดการกำจัดสีมี 2 ขั้นตอน คือ การแตกพันธะอะโซโดยปฏิกิริยารีดักชันและการเกิดสารระหว่างปฏิกิริยาซึ่งเป็นสารประเภทอะโรมาติกอะมีนซึ่งเป็นพิษขึ้นมา อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาพบว่าสารอะโรมาติกอะมีนสามารถย่อยสลายได้ดีในสภาวะแอโรบิก (Brown และ Hamburger, 1987) ด้วยเหตุนี้เมื่อรวมระบบแอนแอโรบิกให้ทำงานต่อเนื่องด้วยระบบแอโรบิกจึงน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมในการกำจัดสีโดยไม่ก่อให้เกิดสารที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษากลุ่มเริ่มต้นในกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก ที่มีความสามารถในการกำจัดสีย้อมอะโซ และศึกษาว่าเมื่อน้ำออกจากระบบขั้นสุดท้ายแล้วจะมีสารที่เป็นพิษเกิดขึ้นหรือไม่ เพื่อให้เกิดความเข้าใจและสามารถพัฒนาระบบการทางชีวภาพให้เหมาะสมกับการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสี Reactive Red 2 ของกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก
2. เพื่อหาจุลินทรีย์กลุ่มเด่นจากกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกที่สามารถย่อยสลายสี Reactive Red 2 ได้
3. เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดสี Reactive Red 2 ของจุลินทรีย์กลุ่มเด่น
4. เพื่อตรวจสอบสารอะโรมาติกอะมีนที่เกิดจากการกำจัดสี Reactive Red 2

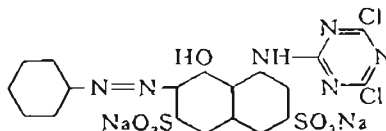
สมมติฐาน

1. การกำจัดสี Reactive Red 2 ในกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนไอโรบิก-แอโรบิก เกิดเนื่องจากจุลินทรีย์บางกลุ่ม
2. การกำจัดสี Reactive Red 2 ในสภาวะแอนไอโรบิกมีสารอะโรมาติกอะมีนเกิดขึ้น
3. สารอะนิลีน (Aniline) ที่เกิดจากการกำจัดสี Reactive Red 2 ถูกกำจัดได้ในสภาวะแอนไอโรบิก

ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษาการกำจัดสี Reactive Red 2 โดยจุลินทรีย์ในกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนไอโรบิก-แอโรบิก
2. ทำการตัดแยกจุลินทรีย์จากกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนไอโรบิก-แอโรบิกเพื่อหาจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่ย่อยสลายสี Reactive Red 2
3. ศึกษาเพื่อเปรียบเทียบกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดสี Reactive Red 2 ในกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนไอโรบิก-แอโรบิก
4. ทดสอบสารที่เกิดจากการย่อยสลายสี Reactive Red 2 ซึ่งคาดว่าเป็นสารอะโรมาติกอะมีน ซึ่งจะวิเคราะห์ด้วย HPLC
5. น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองคือน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีสีอะโซเป็นส่วประกอบ และมีองค์ประกอบอื่นๆ ใกล้เคียงกับน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมจริง สีอะโซที่ใช้คือ C.I Reactive Red 2 ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้

C.I. Reactive Red 2 (*Bright Bluish Red*)



บทที่ 2

การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อุตสาหกรรมสิ่งทอ

อุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นภาคการผลิตภาคหนึ่งที่ทำรายได้จากการส่งออกให้กับประเทศไทย เป็นมูลค่าสูง จากข้อมูลในช่วงปี 2538 - 2542 (ม.ค.-ก.ย.) ของศูนย์สารสนเทศเศรษฐกิจการค้า (2542) พบว่า สิ่งทอเป็นสินค้าออกสำคัญอันดับสองรองจาก เครื่องคอมพิวเตอร์, อุปกรณ์และส่วนประกอบ โดยเฉพาะในปี 2541 มีมูลค่าการส่งออกถึง 123,133.0 ล้านบาท และถึงแม้ว่ามูลค่า ในปี 2542 (ม.ค.-ก.ย.) จะลดลงเหลือเพียง 79,128.3 ล้านบาท แต่ก็ยังคงเป็นสินค้าที่ทำรายได้ให้กับประเทศเป็นอันดับสองเช่นเดิม (รายละเอียดสินค้าออกสำคัญ 10 อันดับแรกของไทย ปี 2538 - 2542 แสดงในภาคผนวก ก)

2.1.1 กระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมสิ่งทอ

กระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมสิ่งทอ เริ่มต้นตั้งแต่กระบวนการผลิตวัตถุดิบคือเส้นใย ซึ่งถือว่าเป็นอุตสาหกรรมขั้นต้น ต่อจากนั้นจะเป็นขั้นตอนการปั่นด้าย, การทอหรือถัก และการฟอกย้อมพิมพ์ ซึ่งถือว่าเป็นอุตสาหกรรมขั้นกลาง และสุดท้ายเป็นอุตสาหกรรมเสื้อผ้าสำเร็จรูป ซึ่งเป็นอุตสาหกรรมขั้นปลายที่อาศัยวัตถุดิบจากอุตสาหกรรมขั้นกลางอีกทีหนึ่ง กระบวนการอุตสาหกรรมสิ่งทอจึงประกอบด้วยกระบวนการหลักที่สำคัญ 5 กระบวนการดังรูปที่ 2.1

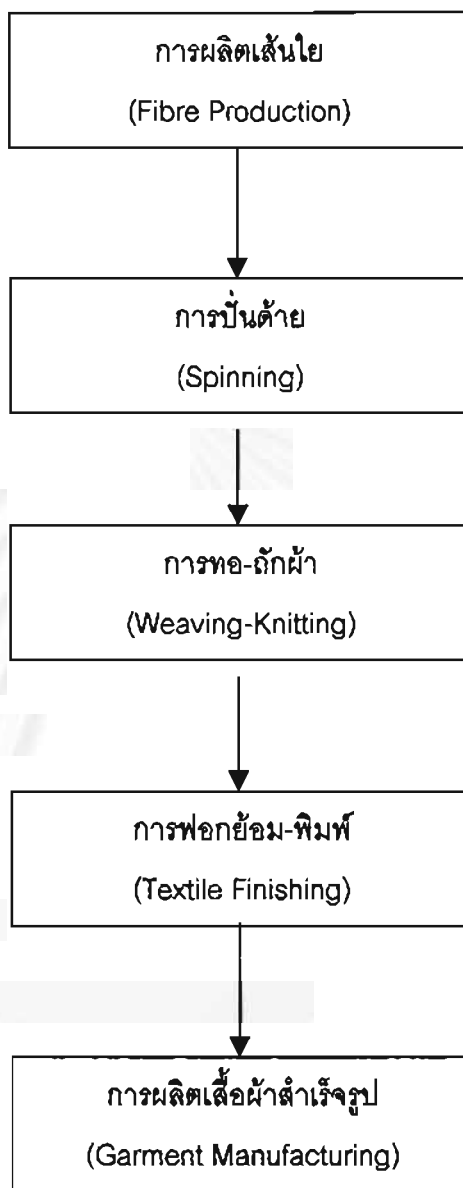
ขั้นตอนที่ 1 การผลิตเส้นใย (Fibre Production) เส้นใยหลักที่ใช้มักเป็นเส้นใยธรรมชาติ ได้แก่ เส้นใยฝ้าย นอกจากนี้ยังมีเส้นใยประดิษฐ์หลักๆ คือเส้นใยวิสโคสเรยอน เส้นใยไนลอน เป็นต้น

ขั้นตอนที่ 2 การปั่นด้าย (Spinning)

ขั้นตอนที่ 3 การทอ-ถักผ้า (Weaving-Knitting)

ขั้นตอนที่ 4 การฟอกย้อม-พิมพ์ (Textile Finishing)

ขั้นตอนที่ 5 การผลิตเสื้อผ้าสำเร็จรูป (Garment Manufacturing)



รูปที่ 2.1 แสดงกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมสิ่งทอ (นันทนา ยานูเมศ, 2539)

2.1.2 การใช้น้ำในอุตสาหกรรมสิ่งทอ

การใช้น้ำในอุตสาหกรรมสิ่งทอในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิต จะมีความแตกต่างกันไป กล่าวคือ

1) การผลิตเส้นใย

ในอุตสาหกรรมการทอผ้าจะไม่มีการใช้น้ำในกระบวนการผลิต แต่ในอุตสาหกรรมการผลิตเส้นใยประดิษฐ์ที่มีอยู่หลายชนิด ได้แก่ อุตสาหกรรมการผลิตเส้นใยวิสโคสเรยอน เส้นใยโพลีเอสเตอร์ และเส้นใยไนลอน ทั้งหมดนี้จะต้องมีการใช้น้ำในการทำปฏิกิริยาเคมีเพื่อสังเคราะห์สารที่นำมาอัดฉีดเป็นเส้นใย ปริมาณน้ำที่ใช้และความสกปรกของน้ำที่จะแตกต่างกันไปตามชนิดของเส้นใยที่ผลิต เช่น การผลิตเส้นใยวิสโคสเรยอน จะใช้น้ำปริมาณมากกว่าการผลิตเส้นใยอีก 2 ชนิด เนื่องจากการอัดฉีดเส้นใยเป็นกระบวนการเปียก (Wet-Spinning) และภายหลังจากที่ได้เส้นใยออกมาแล้ว ยังต้องใช้น้ำในการชำระล้างและฟอกเส้นใยอีก ในขณะที่การอัดฉีดเส้นใยโพลีเอสเตอร์และเส้นใยไนลอนไม่มีการใช้น้ำเลย (Melt-Spinning) เส้นใยที่ได้ก็มีความสะอาดสูงไม่จำเป็นต้องทำการซักล้างอีก การใช้น้ำใน 2 กรณีหลังนี้จึงมีเฉพาะช่วงการทำปฏิกิริยาเคมีเพื่อสังเคราะห์สารโพลีเมอร์ที่ใช้เท่านั้น

2) การปั่นด้าย

ขั้นตอนนี้ไม่มีการใช้น้ำในกระบวนการผลิต

3) การทอผ้า-ถักผ้า

สำหรับในการทอผ้า จำเป็นต้องมีการใช้น้ำในขั้นตอนการลงแป้งเส้นด้ายยีนก่อนการทอ แต่ปริมาณน้ำที่ใช้มีไม่มากนัก นอกจากนี้ก็มีการใช้น้ำในการทอในกรณีที่ทอด้วยเครื่องทอ "water jet" แต่ น้ำที่ใช้ในกรณีนี้จะเป็นน้ำสะอาด ส่วนในการถักผ้าไม่มีการใช้น้ำในกระบวนการผลิต

4) การฟอกย้อม-พิมพ์

ขั้นตอนนี้ นับเป็นขั้นตอนที่มีการใช้น้ำมากที่สุดในบรรดากระบวนการผลิตทั้งหมด เนื่องจากต้องอาศัยน้ำเป็นตัวกลางในการผลิตแทบทุกขั้นตอน และน้ำที่ใช้ส่วนใหญ่จะถูกปล่อยออกมาเป็นน้ำทิ้ง ดังนั้นปัญหาที่สำคัญของอุตสาหกรรมในกลุ่มนี้คือ ปัญหาน้ำทิ้ง

5) การผลิตเสื้อผ้าสำเร็จรูป

ขั้นตอนนี้ไม่มีการใช้น้ำในกระบวนการผลิต

จากการใช้น้ำในกระบวนการผลิตข้างต้นจะเห็นได้ว่า ปัญหาน้ำทิ้งในอุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นปัญหาที่เกิดจากอุตสาหกรรมการฟอกย้อม-พิมพ์สิ่งทอเป็นหลัก ดังนั้นในหัวข้อต่อไปจะกล่าวถึงเรื่องน้ำที่ใช้และปัญหาของน้ำทิ้งในอุตสาหกรรมกลุ่มนี้เท่านั้น

2.1.3 ขั้นตอนการผลิตในอุตสาหกรรมการฟอกย้อม-พิมพ์

อุตสาหกรรมการฟอกย้อม-พิมพ์ เป็นอุตสาหกรรมชั้นกลางในอุตสาหกรรมสิ่งทอทั้งระบบ กระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมฟอกย้อม-พิมพ์ส่วนใหญ่เป็นกระบวนการทางเคมี ที่อาศัยการปรับเปลี่ยนคุณสมบัติของเส้นใยโดยการใช้สารเคมี สีย้อมที่เหมาะสม โดยอาศัยน้ำเป็นตัวกลาง อุตสาหกรรมฟอกย้อม-พิมพ์จึงเป็นอุตสาหกรรมที่มีความต้องการใช้น้ำเป็นปริมาณมาก เนื่องจากขั้นตอนการผลิตในอุตสาหกรรมการฟอกย้อม-พิมพ์ ประกอบด้วยกระบวนการหลักที่สำคัญ 3 กระบวนการคือ

1) การเตรียม (Preparation)

เป็นการขจัดสิ่งสกปรกเจือปนต่างๆ ในเส้นใย เพื่อเป็นการเตรียมวัสดุสิ่งทอให้พร้อมสำหรับการย้อมพิมพ์หรือตกแต่งสำเร็จที่จะกระทำต่อไป กระบวนการที่สำคัญในการเตรียมได้แก่

- การเผาขน ไม่มีการใช้น้ำ เป็นการผ่านผ้าไปที่แก๊สเพื่อทำลายขนและทำให้ผ้ามีพื้นผิวเรียบ
- การลอกแป้ง จำเป็นสำหรับผ้าทอ เป็นขั้นที่ต้องลอกแป้งบนเส้นด้ายยืน แป้งจะไปเคลือบบนเส้นด้ายทำให้ไม่ติดสี จึงต้องมีการลอกแป้งออกก่อนเพื่อให้ผ้าสามารถย้อมติดสีดี วิธีลอกแป้งมี 2 วิธี วิธีแรกคือ การให้เอนไซม์เป็นตัวย่อยสลายแป้งแล้วจึงล้างแป้งออก อีกวิธีหนึ่งคือ การใช้สารออกซิไดส์ซิง เช่น โซเดียมเปอร์ซัลเฟต เป็นต้น
- การขจัดสิ่งสกปรก เป็นพวกเส้นใยสังเคราะห์ที่ไม่สกปรกนัก เพียงต้มด้วยน้ำสบู่ก็เรียบร้อย ถ้าเป็นเส้นใยธรรมชาติจะมีสิ่งสกปรกค่อนข้างสูงเป็นสิ่งสกปรกที่ติดมาจากธรรมชาติ ประมาณ 10 % เพราะฉะนั้นต้องใช้สภาวะค่อนข้างรุนแรง ปกติต้องใช้โซดาไฟ (NaOH) ต้มที่ความเข้มข้น 1-2 % แล้วตามด้วยการซักล้างออกหลายๆ ครั้ง
- การฟอกขาว จำเป็นอย่างยิ่งโดยเฉพาะผ้าฝ้าย ปกติสารที่ใช้ฟอกขาวมีหลายชนิด เช่น H_2O_2 หรือ โซเดียมไฮโปคลอไรด์ เป็นสารฟอกขาว

- การชุบมัน โดยการเอาผ้าไปจุ่มอัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ความเข้มข้นสูงประมาณ 20-25 % เพื่อให้ผ้ามีความมันเงายิ่งขึ้น และดูดีติดสีมากขึ้น โรงงานที่มีการทำ Mercerizing จะมีน้ำทิ้งที่มีความเป็นด่างสูงมาก ปกติการชุบมันต้องใช้เครื่องจักรที่มีราคาแพงมาก โรงงานที่ไม่สามารถชุบมันได้ก็อาจทำ Causticsization แทน โดยจุ่มด้วยสารละลาย NaOH ที่มีความเข้มข้นลดลงมาเหลือ 10-15 % ซึ่งไม่ทำให้ผ้ามันเงาแต่ทำให้ติดสีง่ายขึ้น ซึ่งมีหลายโรงงานนิยมใช้

2) การให้สี (Textile Coloration)

วัสดุสิ่งทอส่วนใหญ่ ต้องมีการนำไปให้สีก่อนการใช้งานเพื่อเพิ่มคุณค่าทางการค้าของผ้าให้สูงขึ้น คุณค่าทางการค้า หมายถึง คุณค่าทางความรู้สึก เช่นสีแบบสมัยนิยม เป็นต้น นอกจากนั้นก็เพื่อให้มีความคงทนในการใช้งานมากขึ้นด้วย กรรมวิธีการให้สีที่สำคัญมีอยู่ 2 วิธีคือ

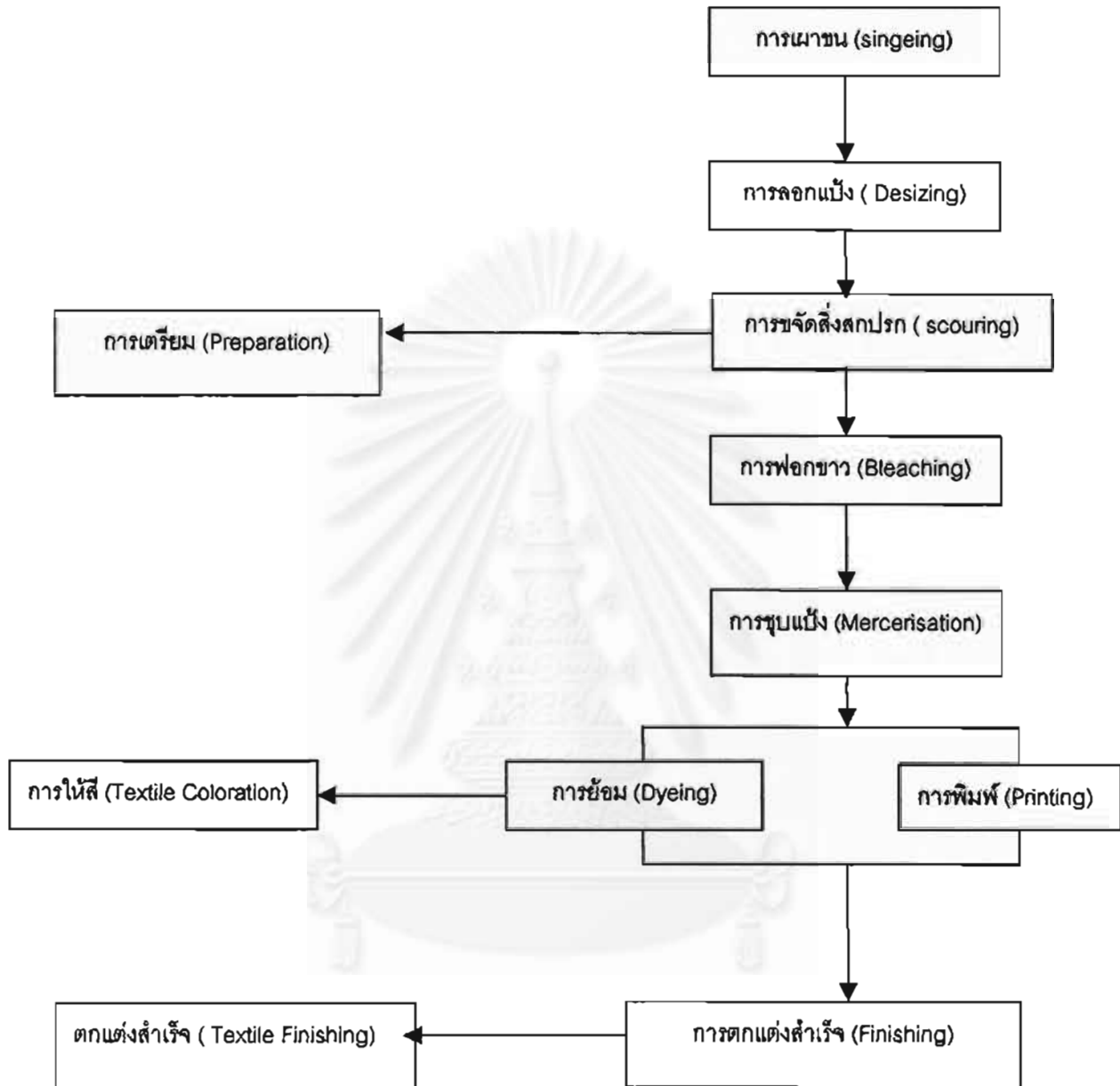
- วิธีย้อม จะให้สีพื้น วิธีการคือละลายสีลงในน้ำย้อม นำผ้าลงย้อมให้ได้สีที่ต้องการจนเสร็จจากนั้นจึงนำไปซักล้าง
- วิธีการพิมพ์ จะให้สีสันทึ่เป็นลวดลายแตกต่างกันออกไป วิธีการพิมพ์มีหลักใหญ่ๆ คือ นำสีพิมพ์ผสมกับแป้งพิมพ์เพื่อให้มีความข้นและพิมพ์ไปบนผ้า จากนั้นนำไปผืนกโดยใช้ไอน้ำแล้วจึงนำไปซักล้างขจัดแป้งพิมพ์และสีที่ไม่ติดออกไป

จะเห็นได้ว่าทุกขั้นตอนจะมีการซักล้างเสมอซึ่งถือเป็นส่วนสำคัญของกระบวนการฟอกย้อม-พิมพ์ และก่อให้เกิดปัญหาในการกำจัดน้ำทิ้งด้วย

3) การตกแต่งสำเร็จ (Textile Finishing)

เป็นขั้นตอนการปรับปรุงหรือปรับเปลี่ยนคุณสมบัติสิ่งทอ ให้มีความเหมาะสมในการใช้งานมากยิ่งขึ้น กรรมวิธีส่วนใหญ่จะเป็นการใส่สารเคมีที่มีคุณสมบัติเหมาะสมเข้าไปในเส้นใย ตัวอย่างการตกแต่งสำเร็จที่สำคัญ เช่น การตกแต่งให้นุ่ม การตกแต่งให้มันเงา และการตกแต่งกันยับ กันน้ำ หรือกันไฟ เป็นต้น โดยวิธีจุ่มอัดน้ำยาตกแต่งสำเร็จไปบนผ้า แล้วทำการผืนก หลังจากนั้นปกติจะไม่มีมีการซักล้างอีก เพราะฉะนั้นน้ำทิ้งจึงเป็นน้ำยาที่เหลือจากอ่างน้ำยาเท่านั้น

ขั้นตอนการผลิตที่สำคัญในอุตสาหกรรมการฟอกย้อม-พิมพ์ แสดงดังรูปที่ 2.2 ซึ่งโรงงานจะเลือกใช้ขั้นตอนการผลิตใดบ้างนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของเส้นใยและคุณสมบัติที่ต้องการ



รูปที่ 2.2 แสดงขั้นตอนการผลิตในอุตสาหกรรมฟอกย้อม-พิมพ์ (นันทนา ยานูเมศ, 2539)

2.1.4 ลักษณะของน้ำทิ้งในอุตสาหกรรมฟอกย้อม-พิมพ์

1) แหล่งที่มาของน้ำทิ้ง

น้ำทิ้งในอุตสาหกรรมฟอกย้อม-พิมพ์ มีที่มาจากแหล่งต่างๆ ที่สำคัญ 4 แหล่งคือ

(1) น้ำที่ใช้ในกระบวนการ

ได้แก่ น้ำที่ใช้ในการดำเนินการฟอกย้อม-พิมพ์ และแต่งสำเร็จ น้ำที่ใช้ในส่วนนี้อาจมีการระเหยไปบ้างแต่ส่วนใหญ่จะถูกปล่อยออกมาเป็นน้ำทิ้งภายหลังการผลิต น้ำที่ใช้ในกระบวนการยังอาจแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ

- น้ำที่ใช้ในในขั้นตอนการฟอกย้อมหรือพิมพ์โดยตรง น้ำในส่วนนี้จะมีปริมาณไม่มากนักแต่ความเข้มข้นของสิ่งสกปรกเจือปนจะค่อนข้างสูง
- น้ำที่ใช้ในการซักล้างภายหลังการฟอกย้อมพิมพ์ น้ำในส่วนนี้จะมีปริมาณมากแต่ความเข้มข้นของสิ่งเจือปนโดยส่วนรวมแล้วจะต่ำกว่าน้ำทิ้งในประเภทแรก

(2) น้ำที่ใช้ในหม้อไอน้ำ

ในกระบวนการฟอกย้อม-พิมพ์มักจะอาศัยไอน้ำเป็นตัวให้ความร้อนแก่น้ำที่ใช้ในกระบวนการ และเป็นตัวให้ความร้อนในตู้อบไอน้ำ ถ้าไอน้ำที่ใช้ถูกปล่อยให้เย็นลง และกลั่นตัวในท่อไอน้ำก็จะได้น้ำที่สะอาด สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ แต่ถ้าไอน้ำถูกส่งไปให้ความร้อนแก่น้ำย้อมโดยตรง มันจะไปเพิ่มปริมาตรของน้ำย้อม และจะถูกรวมเป็นน้ำทิ้งที่สกปรกในที่สุด

(3) น้ำหล่อเย็น

ในกระบวนการฟอกย้อม บ่อยครั้งที่โรงงานจำเป็นต้องลดอุณหภูมิ ของน้ำย้อมลงในเวลาอันสั้น ซึ่งจะทำให้ได้โดยอาศัยการใช้น้ำหล่อเย็น น้ำหล่อเย็นนี้ส่วนใหญ่จะเป็นน้ำสะอาดสามารถนำไปใช้ใหม่ได้

(4) น้ำที่ใช้ในการล้างเครื่องและทำความสะอาดโรงงาน

น้ำส่วนนี้นับเป็นส่วนประกอบที่สำคัญส่วนหนึ่งของน้ำทิ้งจากโรงงาน และในบางกรณีก็เป็นน้ำทิ้งที่มีความสกปรกสูงมากด้วย เช่นน้ำจากการล้างสกรีนที่ใช้ในการพิมพ์ผ้า หรือน้ำล้างดั่งเตรียมสี เป็นต้น

(5) น้ำจากแหล่งอื่นๆ

นอกจากน้ำทิ้งจากแหล่งต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นแล้ว โรงงานยังอาจมีน้ำทิ้งจากแหล่งอื่นๆ อีก เช่น น้ำใช้ของคนงาน หรือน้ำฝน เป็นต้น

2) ประเภทของสิ่งสกปรกเจือปนในน้ำทิ้ง

สิ่งสกปรกเจือปนในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมการฟอกย้อม-พิมพ์ มีอยู่มากมายหลายประเภท โดยอาจจำแนกเป็นประเภทที่สำคัญๆ ได้ดังนี้ คือ

(1) สีย้อม

สีที่ใช้ในการย้อม-พิมพ์สิ่งทอ ที่สำคัญมีดังนี้ คือ

สีย้อมฝ้าย ได้แก่ สีไดเรกต์ สีรีแอคทีฟ สีแวต และสีซัลเฟอร์

สีย้อมโพลีเอสเตอร์ ได้แก่ สีดิสเพิร์ส

สีย้อมไนลอน ได้แก่ สีแอซิด และสีดิสเพิร์ส

สีย้อมอะคริลิก ได้แก่ สีเบสิค

สีพิมพ์ ในการพิมพ์ผ่านนอกจากจะมีการใช้สีย้อมประเภทต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังมีการใช้สีฟิกเมนต์อีกประเภทหนึ่งด้วย

ในการย้อมเส้นใยจะมีการดูดซึมสีย้อมเพียงบางส่วนเท่านั้น ที่เหลือจะคงอยู่ในน้ำย้อมและจะถูกปล่อยออกมากับน้ำทิ้งในที่สุด ปริมาณสีที่ยังคงเหลืออยู่ในน้ำย้อมจะแตกต่างกันไปตั้งแต่ 5-50% ขึ้นอยู่กับประเภทของสีที่ใช้ สำหรับในการพิมพ์ก็เช่นกัน สีที่พิมพ์ไปบนผ้าจะไม่ถูกดูดซึมไปบนผ้าทั้งหมด และส่วนที่ไม่ถูกดูดซึมจะถูกล้างออกมาในน้ำล้างภายหลัง การพิมพ์ด้วยสีฟิกเมนต์เท่านั้น ที่ไม่จำเป็นต้องมีการซักล้างการพิมพ์

(2) สารเคมีที่ใช้ช่วยในกระบวนการฟอกย้อม-พิมพ์

สารเคมีที่ใช้ช่วยในกระบวนการฟอกย้อม-พิมพ์ รวมทั้งสารเคมีที่ใช้ในการตกแต่งสำเร็จ สารเคมีใช้ในกระบวนการฟอกย้อม-พิมพ์ มีอยู่มากมายหลายสิบประเภท (รายการสารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนต่างๆ ของกระบวนการฟอกย้อม-พิมพ์แสดงในภาคผนวก ข) สารเคมีเหล่านี้ส่วนใหญ่จะคงเหลืออยู่ในน้ำย้อมหรือน้ำซักล้าง และจะถูกปล่อยปนออกมาในน้ำทิ้ง

(3) สิ่งสกปรกเจือปนในเส้นใย

วัสดุสิ่งทอที่ถูกนำมาผ่านกระบวนการฟอกย้อมล้วนแต่มีสิ่งสกปรกเจือปนมาบ้างไม่มากก็น้อย โดยทั่วไปเส้นใยธรรมชาติจะมีสิ่งสกปรกเจือปนสูงกว่าเส้นใยสังเคราะห์ เพราะนอกจากจะมีสิ่งสกปรกเจือปนที่ติดมาในระหว่างขั้นตอนการผลิตแล้ว ยังมีสิ่งสกปรกเจือปนที่ติดมากับธรรมชาติ ซึ่งมีปริมาณค่อนข้างมากด้วย เช่น เส้นใยขนแกะมีสิ่งสกปรกเจือปนที่มากับธรรมชาติที่ต้องขจัดออกไปในขั้นตอนการเตรียมถึง 40% ของน้ำหนักเส้นใย ในขณะที่ฝ้ายมีสิ่งสกปรกเจือปนที่ติดมากับธรรมชาติ โดยเฉลี่ยประมาณ 10% สิ่งสกปรกเจือปนเหล่านี้มีทั้งที่

เป็นสารที่ฝัง ไชมัน โปรตีน ตลอดจนสารประกอบโลหะต่างๆ นอกจากนี้ในขั้นตอนการผลิตก็ยังมี การเติมสารต่างๆ ลงไปในเส้นใยด้วย เช่น พวกสารหล่อลื่น และแป้งที่ใช้ในการลงแป้งเส้นด้าย ยีน เป็นต้น สิ่งสกปรกเจือปนเหล่านี้ จะถูกกำจัดออกจากเส้นใยในขั้นตอนการเตรียมก่อนการ ทิมพ์ย้อม และจะหลุดติดตามในน้ำทิ้งจากขั้นตอนการเตรียม

(4) เศษเส้นใย

ในน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกย้อม-ทิมพ์ องค์ประกอบอันหนึ่งที่จะหลีกเลี่ยงไม่ได้ คือ เศษเส้นใยที่หลุดออกมา เศษเส้นใยนี้หากมีปริมาณมากก็อาจทำให้เกิดปัญหาอุดตันของน้ำทิ้ง ในเครื่องย้อมได้ นอกจากนี้ ในกรณีของเส้นใยโพลีเอสเตอร์ยังมีสารยังมีสารโอลิโกเมอร์ที่อาจ หลุดออกมาจากเส้นใยมาปะปนในน้ำทิ้งด้วย

(5) สิ่งสกปรกเจือปนอื่นๆ

นอกจากสิ่งสกปรกเจือปนต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นแล้วน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอกย้อม- ทิมพ์ ยังอาจมีสิ่งสกปรกเจือปนชนิดอื่นๆ อีก เช่น น้ำยาพิเศษที่ใช้ในการขจัดรอยเปื้อนบน ผ้า ซึ่งมักจะเป็นสารประกอบพวก "chlorinated benzene" น้ำยาที่ใช้ในการล้างเครื่อง เหล่านี้เป็นต้น ซึ่งบางตัวก็อาจมีผลอย่างมากต่อคุณสมบัติของน้ำทิ้งภายหลัง

จากที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นได้ว่าสิ่งสกปรกเจือปนในน้ำทิ้งจากกระบวนการฟอก ย้อม-ทิมพ์ จะมีน้ำทิ้งซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีที่มีความหลากหลายอย่างยิ่ง แต่อุตสาหกรรม ประเภทนี้ก็ยังมิมีข้อดีอยู่บ้าง คือสารส่วนใหญ่เป็นสารที่ง่ายต่อการบำบัด และมีค่าบีโอดี ตลอด จนมีความเป็นพิษต่ำ (นันทนา ยานุมาศ, 2539) ดังจะเห็นได้จากภาคผนวก ค แสดงการ จำแนกประเภทของสิ่งสกปรกเจือปน ตามระดับของค่าบีโอดี และความยากง่ายของการสลาย ตัวทางชีวภาพ

2.2 สีย้อมและมลพิษของสีย้อม

2.2.1 สีย้อม (Dye)

1) การเกิดสีของสีย้อม

Witt (อ้างโดยธงชัย พรรณสวัสดิ์, 2527) ได้สรุปว่าสีซึ่งปรากฏออกมาทำให้มนุษย์ปกติมองเห็น ได้เกิดมาจากการเรียงตัวของกลุ่มอะตอมประเภทหนึ่งภายในโมเลกุลของสีย้อม กลุ่มอะตอมเหล่านี้ เรียกว่า "โครโมฟอร์" (Chromophores) โดยจะเป็นตัวไปเพิ่มสีให้แก่สารประกอบอะโรมาติก โดยการ

ดูดกลืนแถบแสงสียาวไว้บางแถบแสงและปล่อยออกมาบางแถบแสง ทำให้มองเห็นสีย้อมมีโทนสีแตกต่างกันไป กลุ่มโครโมฟอร์ดังกล่าวมีอยู่ด้วยกัน 7 กลุ่มคือ

- กลุ่มไนโตรโซ (nitroso group) : $-NO$ (หรือ $=N-OH$)
- กลุ่มไนโตร (nitro group) : $-NO_2$ (หรือ $=NO.OH$)
- กลุ่มอะโซ (azo group) : $-N=N-$
- กลุ่มเอทิลีน (ethylene group) : $C=C$
- กลุ่มคาร์บอนิล (carbonyl group) : $C=O$
- กลุ่มคาร์บอนิล-ไนโตรเจน (carbonyl-nitrogen group) : $C=NH$ และ $CN=H$
- กลุ่มซัลเฟอร์ (sulphur group) : $C=S$ และ $C-S-S-C$

สีย้อมโดยทั่วไปนอกจากจะต้องมีกลุ่มโครโมฟอร์แล้ว ยังจำเป็นต้องมีกลุ่มอะตอมอีกชนิดหนึ่ง ได้แก่กลุ่มอะตอม "ออกโซโครม" (Auxochromes) อันได้แก่ $-OH$, $-NH_2$, $-NHR$, $-NR_2$, $-SO_3$ และ $-COOH$ เพื่อให้สีย้อมสามารถทำปฏิกิริยายึดติดกับเส้นใยได้ โมเลกุลที่ไม่มีกลุ่มออกโซโครมเรียกว่า "โครมาเจน" (Chromagen) ซึ่งโมเลกุลนี้จะแสดงสมบัติของสีย้อมออกมาได้แต่จะขาดสมบัติในการยึดติดกับเส้นใย ทั้งกลุ่มโครโมฟอร์ ออกโซโครม และโครมาเจน นี้เป็นส่วนสำคัญในการพิจารณาแบ่งกลุ่มของสีย้อมตามสูตรโครงสร้างทางเคมีซึ่งจะกล่าวถึงต่อไป

2) ประเภทของสีย้อม

สีย้อมจัดเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในกระบวนการย้อมผ้า และเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพสูงตรงตามความต้องการทำให้เกิดการพัฒนาสีขึ้นมากมายหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติและการใช้งานที่แตกต่างกันไป ได้มีหลายหน่วยงานหลายสถาบันจัดแบ่งประเภทไว้ต่างๆ กัน ในที่นี้จะแบ่งประเภทของสีย้อมเป็น 2 แบบ คือแบ่งตามโครงสร้างทางเคมี และลักษณะการใช้งานดังนี้

- การจำแนกสีตามโครงสร้างทางเคมี

การจำแนกสีตามโครงสร้างเคมีนี้จะพิจารณาจากกลุ่มอะตอมโครโมฟอร์ในโมเลกุลสี ซึ่งจะมีความยุ่งยากมากในกรณีของผู้ใช้ที่ได้ศึกษาวิชาเคมีมาเพียงเล็กน้อย และการแบ่งแบบนี้ค่อนข้างจะจดจำยากจึงไม่เป็นที่นิยม แต่อย่างไรก็ตามการจำแนกสีวิธีนี้ก็มิมีประโยชน์อย่างมากในการศึกษาถึงกลไกการกำจัดสีย้อมในน้ำเสีย การจำแนกสีย้อมตามโครงสร้างทางเคมีแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงการจำแนกสีตามโครงสร้างทางเคมี (Rangnekar และ Singh, 1980)

Class	Subclass	Example	Structure**
Nitro	-	Naphthol yellow S	(39)
Nitroso	-	Fast Green O	(40)
Azo	Monoazo	Acid Orange II	(41)
	Diazo	Congo Red	(42)
	Triazo	Direct Black EW	(43)
	Polyazo	-	
	Mordant azo	Eriochrome Black T	(44)
	Stilbene azo	Chrysophenine G	(45)
	Pyrazolone azo	Tartrazine	(46)
Diphenylmethane	-	Auramine O	(47)
Triphenylmethane	-	Malachite Green	(48)
Xanthene	-	Fluorescein	(49)
Acridine	-	Acridine Orange NO	(50)
Thiazole	-	Basic Yellow T Toluylene	(51)
Indamine & Indophenol	-	Blue	(52)
Azine	-	Safranin T	(53)
Oxazine	-	Capri Blue Gn	(54)
Thiazine	-	Methylene Blue	(55)
Cyanine	Methine	Astrafloxine FF	(56)
	Quinoline	Kryptocyanine	(57)
Sulphur	-	Sulphur Black T	(58)
Lactone	-	Resoflavine W	(59)
Aminoketone	-	Helindon Brown CR	(60)
Hydroxy ketone	-	Alizarin Dark Green W	(61)
Anthraquinonoid	-	Perlon Fast Green 3B	(62)
Indigoid	-	Indigo	(63)
Sulphurized vat dyes	-	Hydron Blue R	(64)
Phthalocyanine	-	Monastral Fast Blue BS	(65)

** แสดงโครงสร้างทางเคมีของสีย้อม ในภาคผนวก ง

- การจำแนกสีตามลักษณะการใช้งาน

เนื่องจากการจำแนกสีตามโครงสร้างทางเคมีมีความยุ่งยากดังกล่าวแล้ว สีในกลุ่มเคมีเดียวกันมีวิธีการย้อมต่างกัน ใช้เส้นใยต่างกัน เช่น สีในกลุ่มอะโซ บางตัวย้อมง่าย ๆ ได้โดยตรง เป็นสีไดเรกต์ (Direct) บางตัวจะติดเมื่อน้ำย้อมมีสภาพเป็นกรดก็เป็นสีแอซิด (Acid Dyes) ดังนั้นการจำแนกตามลักษณะการใช้งานจึงเป็นที่ยอมรับกันในบรรดาผู้ใช้นและผู้ผลิตอุตสาหกรรมผลิตสี แม้แต่สมาคมผู้ย้อมสีและผู้ผลิต (The Society of Dyers and Colorist) ก็ยอมรับว่า เป็นวิธีจำแนกที่เหมาะสมที่สุด หนังสือดัชนีสีก็ใช้การจำแนกวิธีนี้ วิธีดังกล่าวจำแนกสีได้ดังนี้

(1) สีย้อมประเภทดิสเพิร์ส (Disperse Dyes)

สีย้อมชนิดนี้ใช้ย้อมเส้นใยเซลลูโลสอะซีเตต (Cellulose Acetate) เส้นใยโพลีเอสเตอร์ (Polyester) หรือเส้นใยสังเคราะห์ต่างๆ (Synthetic Fibers) สำหรับโครงสร้างของสีย้อมประเภทนี้อาจเป็นสารพวกอะโซ (Azo) หรือแอนทราควิโนน (Anthraquinone) ซึ่งสามารถละลายน้ำได้น้อย นอกจากนี้ยังซีดจางได้ง่ายหากไปสัมผัสกับพวกออกไซด์ของไนโตรเจนหรือโอโซนในชั้นบรรยากาศ (Gas Fading)

(2) สีย้อมประเภทไดเรกต์ (Direct Dyes)

สีย้อมประเภทนี้มักจะใช้ย้อมเส้นใยธรรมชาติ เช่นขนสัตว์ และไหม ได้โดยตรง เวลาจะย้อมจะทำการย้อมที่อุณหภูมิสูง สีย้อมจะแตกตัวเป็นสารคอลลอยด์ในสารละลายซึ่งจะถูกดูดซับโดยเส้นใยได้ สีย้อมประเภทนี้สามารถละลายน้ำได้ดีเนื่องจากมีหมู่ของเกลือโซเดียมของกรดซัลโฟนิกเป็นองค์ประกอบ แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ สีย้อมแอซิด (Acid Dyes) ซึ่งเมื่อละลายน้ำจะแตกตัวเป็นไอออนที่มีประจุลบ ส่วนใหญ่ใช้ย้อมพวกเส้นใยในลอน ส่วนประเภทที่ 2 คือ สีย้อมประเภทเบสิก (Basic Dyes) ซึ่งเมื่อละลายน้ำจะแตกตัวให้ไอออนที่มีประจุลบ สีย้อมประเภทนี้มีความสดใสและมีความเข้มของสีสูง มักใช้ย้อมเส้นใยอะคริลิก

(3) สีย้อมประเภทรีแอคทีฟ (Reactive Dyes)

สีย้อมประเภทนี้เป็นสีย้อมที่ใช้ย้อมเส้นใยประเภทเดียวกันกับสีย้อมไดเรกต์ สามารถละลายน้ำได้ดี แต่มีสมบัติที่ดีกว่าสีย้อมประเภทไดเรกต์เนื่องจากสีย้อมชนิดนี้มีหมู่ที่ก่อให้เกิดพันธะเคมีกับเส้นใยได้ง่าย เช่น หมู่ของกรดคลอไรด์ (Acid Chlorides) ซึ่งสามารถ

เกิดปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลบนเส้นใยเซลลูโลส หรือหมู่อะมิโนบนเส้นใยโปรตีนได้ ดังนั้นสี
ย้อมประเภทนี้จึงสามารถย้อมติดสีได้ดีกว่าสีย้อมประเภทไดเรกต์

(4) สีย้อมประเภทแวต (Vat Dyes)

สีย้อมชนิดนี้สามารถย้อมเส้นใยเซลลูโลสได้ดี มีความคงทนต่อการซักล้าง
และทนต่อแสงแดดสูง เป็นสีย้อมที่ไม่ละลายในน้ำแต่จะสามารถละลายในน้ำได้เมื่อถูกรีดิวซ์
ในสารละลายที่เป็นด่างโดยการทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือโซเดียมไดไฮโอไนต์
ดังนั้นเมื่อทำการย้อมจึงต้องทำการรีดิวซ์สีย้อมให้อยู่ในรูปของสารประกอบที่สามารถละลาย
น้ำได้ก่อน จากนั้นเมื่อสีย้อมถูกดูดซับเข้าไปในเส้นใยแล้วจะทำการออกซิไดร์สีย้อมกลับไปอยู่
ในรูปที่ไม่ละลายน้ำอย่างเดิมโดยการใช้ออกซิเจนในอากาศ, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือ
โพแทสเซียมไดโครเมต

(5) สีย้อมประเภทซัลเฟอร์ (Sulfur Dyes)

สีย้อมประเภทนี้จะหมายถึงสีย้อมที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบอยู่ มักใช้ย้อม
เส้นใยฝ้าย เมื่อทำการย้อมสารละลายของสีย้อมจะอยู่ในรูปที่ถูกรีดิวซ์ซึ่งจะสามารถดูดซับอยู่
บนเส้นใยได้ และหลังจากเสร็จสิ้นการย้อมแล้วหากเส้นใยดังกล่าวสัมผัสอากาศหรือถูก
ออกซิไดร์ สีย้อมจะเปลี่ยนกลับไปอยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ

(6) มอร์แดนต์และสีย้อมประเภทโครม (Mordant and Chrome Dyes)

มอร์แดนต์หมายถึงสารใดๆ ก็ตามที่สามารถจับติดอยู่บนเส้นใยซึ่งหลังจาก
นั้นจึงจะทำการย้อมสีได้ ตัวอย่างของมอร์แดนต์ได้แก่ กรดแทนนิกซึ่งใช้เป็นมอร์แดนต์สำหรับ
การย้อมสีประเภทแบซิก มอร์แดนต์และสีย้อมประเภทโครมเป็นสีย้อมประเภทที่สามารถที่ทำให้
ให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนโคออดิเนชันที่เสถียรกับไอออนของโลหะได้ ในสารละลายเมื่อสาร
ประกอบดังกล่าวเพิ่มจำนวนขึ้นเส้นใยจะสามารถดูดซับสีย้อมได้ดีขึ้นด้วย

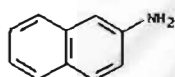
2.2.2 ความเป็นพิษและมลพิษของสีย้อม

โดยทั่วไปสีย้อมเป็นสารที่มีความเป็นพิษต่ำ จากอดีตที่ได้มีการเก็บรวบรวมข้อมูลในต่าง
ประเทศ ไม่พบว่าผู้ที่ทำงานในโรงงานฟอกย้อมที่มีอัตราการตายหรือการเจ็บป่วยสูงกว่าบุคคลใน
อาชีพอื่นแต่อย่างใด สีย้อมอาจเข้าสู่ร่างกายของผู้ใช้ได้ 3 ทางคือ โดยทางจุ่ม ด้วยการสูดดมสีที่ฟุ้ง
กระจายอยู่ในอากาศ โดยการสัมผัสทางผิวหนัง และโดยการปะปนเข้าไปกับอาหารการกิน ความเป็น
พิษของสีย้อมหากรับประทานเข้าไปจะเห็นได้จากค่า LD_{50} ที่แสดงในตารางที่ 2.2

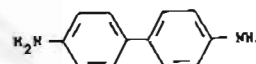
ตารางที่ 2.2 ค่า LD 50 ของสีย้อมสังเคราะห์ (นันทยา ยานูเมศ, 1995)

LD 50 (มก./กก.)	เปอร์เซ็นต์ของสีย้อมทั้งหมด
น้อยกว่า 5,000	82
2,000-5,000	10
ต่ำกว่า 250	น้อยกว่า 1

จากตารางข้างต้นจะเห็นได้ว่าสีย้อมโดยทั่วไปมีความเป็นพิษต่ำ แต่ก็เป็นที่ทราบกันดีว่าสารวัตถุพิษจำนวนมากไม่น้อยที่ใช้ในการสังเคราะห์สีย้อมมีความเป็นพิษสูงมาก และมีหลายตัวเป็นสารที่ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าเป็นสารคาร์ซิโนเจน ตัวอย่างเช่น



2- แนฟธิลเอมีน (2-naphthylamine)



และ เบนซิดีน (benzidine)

ผลจากการค้นพบดังกล่าวทำให้มีการห้ามผลิตสีย้อมที่ต้องใช้สารวัตถุพิษดังกล่าวแล้วในหลายประเทศโดยเฉพาะในยุโรปและสหรัฐอเมริกา

ศูนย์วิจัยมะเร็งนานาชาติ (International Agency for Research on Cancer, IARC) ได้ประเมินความสามารถในการก่อมะเร็งของสีย้อมอินทรีย์ (Organic Colorants) 44 ตัว และสีย้อมที่มีเบนซิดีนเป็นส่วนประกอบ (Benzidine-base Dyes) โดยสามารถสรุปผลการประเมินได้ดังตารางที่ 2.3

การตีความหมายของตารางนั้นควรทำด้วยความระวัง สิ่งแรกที่ต้องระวังถึงคือสถิติที่แสดงในตารางได้จากสีที่ซื้อขายกันประมาณ 2,500 สีเท่านั้น สิ่งที่สองที่ควรคำนึงถึงคือผลที่ได้จากสีที่เลือกมาทดสอบและประเมินนั้นไม่สามารถนำมาใช้เป็นบทสรุปกับสีทุกสีได้เนื่องจากอาจมีอคติในการเลือกสีคือสีที่เลือกมาเป็นสีที่เคยใช้ในอาหาร ยา และเครื่องสำอางและคาดว่าจะเป็สีที่สามารถก่อมะเร็งได้

ตารางที่ 2.3 สรุปการประเมินของ IARC เกี่ยวกับสีอินทรีย์ (อังกฤษ ตูลย์ไตรรัตน์, 2540)

ประเภทของสี	จำนวน	กลุ่ม ^a			
		1	2		3
			A	B	
สีย้อม	42 ^b		^c	15	27
พิกเมนต์	2				2
รวม	44 ^b			15	29

- ^a กลุ่มที่ 1 สารที่ก่อมะเร็งในมนุษย์
 กลุ่มที่ 2A สารที่มีโอกาสก่อให้เกิดมะเร็งค่อนข้างมากในมนุษย์
 กลุ่มที่ 2B สารที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์
 กลุ่มที่ 3 สารที่ไม่จัดว่าเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์
- ^b ไม่รวมสีย้อมที่มีเบนซีน
- ^c สีย้อมที่มีเบนซีน

สีย้อมอะโรมาติกเป็นสีย้อมที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมการฟอกย้อม โดยมีการใช้ถึง 60-70% ของสีที่ใช้กันอยู่ สีอะโรมาติกจะมีพันธะคู่ของไนโตรเจน (N=N) เป็นหมู่โครโมฟอร์ และเป็นที่ยอมรับกันดีว่าเป็นสีที่สามารถก่อให้เกิดมะเร็งได้ จากข้อมูลที่สามารถยืนยันได้และรวมอยู่ในกฎข้อบังคับของประเทศเยอรมันพบว่า หลังจากการแตกตัวของกลุ่มอะโรมาติกอะโรมาติกแล้ว จะมีสารอะโรมาติกอะโรมาติกซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งเกิดขึ้น และมีการประมาณกันว่ามีสีย้อมอะโรมาติกทั้งสิ้น 150 ชนิดที่สามารถแตกตัวให้อะโรมาติกอะโรมาติกที่สามารถก่อให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองได้ และมีสารอะโรมาติกอะโรมาติกที่สามารถก่อให้เกิดมะเร็งเพียง 15 ตัวเท่านั้นที่ใช้อยู่ในอุตสาหกรรมสี โดยทั่วไปแล้วสีอะโรมาติกจะไม่แตกตัวให้สารอะโรมาติกอะโรมาติกที่ก่อมะเร็ง แต่จะแตกตัวให้กรดอะโรมาติกอะโรมาติกในซัลโฟนิค (Aromatic Aminosulphonic Acid) ซึ่งไม่ก่อหรือมีโอกาสที่จะก่อให้เกิดมะเร็งน้อยมาก

นอกจากจะแตกตัวให้อะโรมาติกอะโรมาติกที่ก่อให้เกิดมะเร็งแล้ว สีย้อมอะโรมาติกบางตัวยังแตกตัวให้ออโร-ไดอานิสิดีน (o-dianisidine) หรือ ออโร-โทลิดีน (o-tolidine) ซึ่งก็เป็นสารก่อมะเร็งเช่นกัน ได้มีหลักฐานยืนยันจากการศึกษาว่าสีย้อม 2 กลุ่ม คือ Cl. Acid Red 114 (ซึ่งมีออโร-โทลิดีน) และ Cl. Direct Blue 15 (ซึ่งมีออโร-ไดอานิสิดีน) เป็นสีที่ก่อให้เกิดมะเร็ง และหลายโรงงานได้ยกเลิกการผลิตสี 2 กลุ่มนี้แล้ว (อังกฤษ ตูลย์ไตรรัตน์, 2540)

นอกจากนั้นได้มีผู้ทดลองศึกษาปริมาณสีย้อมที่ปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมคือ Tincher (อ้างโดย อังคณา ตุลาไทรรัตน์, 2540) ได้ศึกษาปริมาณสีดิสเพิร์สที่ปล่อยลงในแอ่งของแม่น้ำคูซา (Coosa River Basin) ซึ่งเป็นแหล่งที่มีการย้อมสีพรมมากที่สุดในสหรัฐอเมริกา นอกจากสีดิสเพิร์สแล้วยังมีการศึกษาถึงสีแอซิดบางตัวในแหล่งน้ำดังกล่าวด้วย การศึกษาผลกระทบของสีย้อม 20 ตัว (ซึ่ง 5 ตัวเป็นสีดิสเพิร์ส) ในแอ่งของแม่น้ำยามาสกา (Yamaska river basin) ซึ่งเป็นแหล่งอุตสาหกรรมย้อมสีสิ่งทอของประเทศแคนาดา โดยการวัดความเข้มข้นของสี ปริมาณสารแขวนลอยและตะกอนในแม่น้ำ และวัดสารตกค้างในปลา พบว่ามีสีย้อมเพียง 3 ชนิดและผลิตผลที่เกิดจากการย่อยสลายของสีย้อม 1 ชนิดเท่านั้นที่ตกค้างในแม่น้ำ และไม่พบสารตกค้างของสีตัวใดในตัวปลา

ได้มีการศึกษาถึงความเป็นพิษของสีย้อม 47 ชนิด (อ้างโดย อังคณา, 2540) โดยได้ทำการวัด

- ความเป็นพิษร้ายแรงของสีต่อปลาภายใน 96 ชั่วโมง
- ความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายภายใน 72 ชั่วโมง

โดยใช้วิธีของ OECD ที่ 203, 202 และ 201 ตามลำดับ นอกจากนั้นยังมีการวัดอัตราการยับยั้งการเกิด activated sludge ในบ่อกำจัดน้ำเสียที่ใช้ออกซิเจน โดยใช้วิธีทดสอบ Zahn-Wallens (หรือเรียกว่าวิธีของ OECD ที่ 302 B) จากการศึกษาข้างต้นได้ผลดังนี้

- สีย้อม 34 ชนิดจาก 47 มีค่า $LD_{50} > 100$ มก./ลิตร (โดยทั่วไปแล้วสีย้อมจะมีค่า LD_{50} อยู่ในช่วง 1-10 มก./ลิตร)
- มีสีย้อมจำนวนมากที่จัดเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมตามเกณฑ์ของ EU เนื่องจากมีค่า IC_{50} ของสาหร่ายต่ำ

อย่างไรก็ตามโดยส่วนใหญ่แล้วการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายมักเป็นผลมาจากการที่สารละลายสีดูดซับแสงเอาไว้ (ทำให้สาหร่ายได้รับแสงน้อยลง) มากกว่าเป็นผลมาจากความเป็นพิษของสีนั้น และนี่เองเป็นสาเหตุให้ไม่รวมสีย้อมที่มีผลดังกล่าวอยู่ในรายการสีย้อมที่เป็นพิษตามเกณฑ์ของ EU

สำหรับผลกระทบของสีย้อมต่อสิ่งแวดล้อมหรือสมบัติด้านมลพิษของสีย้อมนั้นพบว่า สีย้อมเป็นสารที่สลายตัวทางชีวภาพได้ยากแต่ความเป็นพิษต่อปลาค่อนข้างต่ำ ดังนั้นปัญหาสำคัญของสีย้อมในน้ำทิ้งปัจจุบัน จึงไม่ได้อยู่ที่ความเป็นพิษของสีย้อมแต่อยู่ที่สีของน้ำทิ้ง สีย้อมเป็นสารที่มีสีเข้ม

** IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอัตราการเจริญเติบโตหรือยับยั้งการทำงานของสิ่งมีชีวิตที่ได้รับสารนั้นเข้าไป

แม้จะมีสีอยู่ในแหล่งน้ำเพียงปริมาณเล็กน้อยก็ทำให้น้ำมีสีเป็นที่น่ารังเกียจของผู้พบเห็น โดยทั่วไปแล้ว ปริมาณของสีที่ปล่อยลงสู่แหล่งน้ำแล้วสังเกตเห็นได้คือ 0.1-1.0 มิลลิกรัม/ลิตร อย่างไรก็ตามก็ยังมี ปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น ชนิดสี สภาพแสง และระดับความใสของน้ำ และจากการศึกษาของ Brown อ่างใน อังคณา ตูลย์ไตรรัตน์ (2540) พบว่าสีย้อมที่ปล่อยมาจากโรงงานย้อมสิ่งทอมีความเข้มข้น ประมาณ 10 มิลลิกรัม/ลิตร ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่โรงงานจะต้องกำจัดสีจากน้ำทิ้งแม้ว่าสีจะมีความ เป็นพิษต่ำก็ตาม

2.3 อะนิลีน (Aniline)

จากโครงสร้าง Reactive Red 2 ถ้าการกำจัดสีเกิดขึ้นเนื่องจากการแตกพันธะอะโซ (N=N) ซึ่งเป็นกลุ่มโคโมฟอร์ของสี (Horitsu และคณะ (1977) ; Lyberatos และ Zissi (1996) ; Nigam และคณะ (1995) ; Yean และ Wong (1995) .) จะทำให้เกิดสารอะนิลีนขึ้นมาซึ่งสารดังกล่าวมีลักษณะและ คุณสมบัติดังนี้

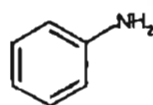
2.3.1 ลักษณะและคุณสมบัติ (Identification and properties)

- การบ่งลักษณะ

มีลักษณะเป็นน้ำมัน ไม่มีสี เมื่อถูกอากาศหรือแสง สีจะมัวลง มีกลิ่นหอม ตามธรรมชาติเป็น ต่างอ่อน เป็นสารเริ่มต้นของ Aromatic Amine ตัวอื่น ๆ

สูตรโมเลกุล (Molecular Formular) : $C_6H_5NH_2$

สูตรโครงสร้าง (Structure Formular)



ชื่ออื่น ๆ (Synonyms) Aminobenzene , Phenylamine, Aniline oil

- คุณสมบัติทางฟิสิกส์ (Physical properties)

น้ำหนักโมเลกุล (Molecular Weight)	93.1
จุดเดือด (760 mm Hg)	184 °C
ความถ่วงจำเพาะ (ของน้ำ = 1) (Speccific Gravity)	1.022

ความหนาแน่นไอ (ของอากาศ = 1) (Vapor Density)	3.22
จุดหลอมเหลว (Melting Point)	-6.2 °C (21 °F)
ความดันไอที่ 20 °C (68 °F) (Vapor Pressure)	0.6 mm Hg
การละลายน้ำ (Solubility in Water)	3.5 กรัม/น้ำ 100 กรัม ที่ 20 °C
อัตราการระเหย (Butyl Acetate = 1)	น้อยกว่า 1
การละลาย (Solubility)	สามารถละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ ไขมัน เอทานอล อีเทอร์ และตัวทำละลาย อินทรีย์อื่น ๆ

- การเกิดปฏิกิริยาของสาร (Reactivity)

การไม่เสถียรภาพ : ความร้อนทำให้ไม่เสถียรภาพ

สารที่เข้ากันไม่ได้ : อะนินเมื่อสัมผัสกับกรดแก่ทำให้เกิดการแตกตัวอย่างรุนแรง และเมื่อสัมผัสกับสารที่มีคุณสมบัติในการออกซิไดซ์สูงอาจทำให้เกิดไฟลุกและระเบิดได้ เมื่ออะนินติดไฟจะสลายให้แก๊สและไอพิษออกมา เช่น Oxides ของ Nitrogen และ Carbon monoxide

- ความสามารถในการติดไฟ

จุดวาบไฟ: 70 °C

อุณหภูมิที่ติดไฟได้เอง: 615 °C

ปริมาณต่ำสุดของอะนินในอากาศที่สามารถติดไฟได้ คือ 1.3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

สารที่ใช้ในการดับเพลิง : Carbon dioxide, Alcohol Foam, Dry Chemical

- การจำแนกอันตราย (Hazard Classification)

องค์การสหประชาชาติ (United Nations) ได้จัดลำดับอะนิน เป็นประเภทสารพิษ (UN: class number 6.1 = Poisonous Substance) ทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพอนามัยจากการสัมผัสกับร่างกาย หรือการหายใจเข้าไป

2.3.2 ทางเข้าสู่สิ่งแวดล้อม (Pathways into the Environment)

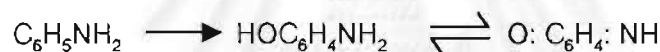
โรงงานอุตสาหกรรมที่มีการผลิตหรือการใช้อะนิน จะมีอะนินออกสู่บรรยากาศจากตัวโรงงานเองและจากปล่องควันที่ระบายอากาศ นอกจากนั้นอะนินยังอาจเข้าสู่สิ่งแวดล้อมจากการปล่อยน้ำเสียจากโรงงาน

ความเข้มข้นของอะนิลีนจากบริเวณที่มีการปล่อยออกมาจะเป็น 0.509, 0.1344, 0.0956 และ 0.0795 mg/m³ ที่ระยะทาง 100, 300, 500 และ 700 เมตร ตามลำดับ ที่ระยะทาง 1000 เมตร จากจุดปล่อยความเข้มข้นของอะนิลีน น้อยกว่า 0.05 mg/m³ แสดงว่าไอของอะนิลีน สามารถอยู่ในบรรยากาศได้นานและจะแพร่กระจายออกเป็นวงกว้าง

2.3.3 การแพร่สลายของสารเคมีโดยชีววิธี(Chemobiokinetics)

อะนิลีนสามารถเข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตโดยทางเดินหายใจและทางผิวหนัง อะนิลีนสามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดและลำไส้ได้ การดูดซึมของอะนิลีนผ่านทางเดินหายใจเกิดขึ้นด้วยอัตราเร็ว 5-11 mg/hour

อะนิลีนที่ถูกดูดซึมจะเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในร่างกายโดยกระบวนการออกซิเดชัน เปลี่ยนเป็น Aminophenols ปฏิกริยาสามารถเปลี่ยนกลับไปได้โดยกรด Glucuronic หรือกรด Sulfuric บางส่วนของอะนิลีนจะเกิดปฏิกิริยา Acetylation กระบวนการเปลี่ยนแปลงของอะนิลีนภายในร่างกายสิ่งมีชีวิตในขั้นตอนการเกิด Oxidation ของ o- และ p- aminophenol จะมีสาร Quinone Amines เกิดขึ้น ดังนี้



p- aminophenol เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากกระบวนการเปลี่ยนแปลงของอะนิลีนภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิต

การเกิด Oxidation ของอะนิลีนจะเกิดในส่วนต่าง ๆ ของร่างกายดังนี้ คือ ตับ ไต กระเพาะ และลำไส้ แต่ในเนื้อเยื่อสมองไม่ปรากฏว่ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

การทดลองในกระต่ายโดยการฉีดอะนิลีนความเข้มข้น 300-700 mg/kg เข้าในกระเพาะอาหารของกระต่าย หลังการฉีด 1 ชั่วโมง ตรวจพบอะนิลีนความเข้มข้นสูงบริเวณตับและไต ตรวจพบ p-aminophenol ในไต 2.7-22 mg% และตรวจพบใน ตับ ปอด กล้ามเนื้อ และลำไส้เล็ก เท่ากับ 2.1 , 0.5-0.1, 0-0.4 และ 0.3-1. mg% ตามลำดับ ตรวจไม่พบ p-aminophenol ในส่วนที่เป็นของเหลวและสมอง

ทดลองฉีดอะนิลีนความเข้มข้น 200-300 mg/kg เข้าบริเวณใต้ผิวหนังของกระต่ายภายใน 30 นาที หลังฉีดตรวจพบปริมาณอะนิลีนในเลือด 1-4 mg% และลดลงเหลือ 0.4 mg %หลังจากฉีด 1 วัน

อะนิลีนที่ฉีดเข้าไปจะถูกขับออกมากับปัสสาวะของกระต่ายประมาณ 6% และขับออกมากับปัสสาวะของสุนัข 13 % การขับออกมากับปัสสาวะนั้นส่วนใหญ่จะขับออกมาในวันแรกหรือ 2-3 วันแรก ปริมาณอะนิลีนที่ตกค้างอยู่จะตรวจพบภายใน 10 วันแรก

ในมนุษย์ถ้าสูดดมอะนิลีนความเข้มข้น 5-28 mg/m³ ภายใน 5 ชั่วโมงหลังจากสูดดมจะขับ p-aminophenol ออกมากับปัสสาวะ

2.3.4 ความเป็นพิษที่มีต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Mammalian Toxicity)

ความเข้มข้นต่ำสุดของอะนิลีนที่หนูได้รับโดยการสูดดมเข้าไปและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในร่างกาย คือ 348 mg/m³ โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของ Hemoglobin

ความเข้มข้นต่ำสุดของอะนิลีนที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในหนูขาว (Albino Rat) คือ 200-250 mg/m³

อะนิลีนทำให้เกิดโรคโลหิตจางโดยจะไปลดความหนืดของเลือดและทำให้การสันดาปของโปรตีนเสียไปไม่สามารถสร้าง Hemoglobin ขึ้นมาใหม่ภายใน 1-3 เดือน

ฉีดอะนิลีนความเข้มข้น 50 mg/kg เข้าไปในกระเพาะหนูติดต่อกันเป็นเวลา 14 วัน มีผลให้เกิดพฤติกรรมผิดปกติขึ้นในหนูและมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ Hepatic cell ทำให้โครงสร้างของตับเสียไป

สุxonamัยของคนงานที่ทำงานผลิต Diphenylamine (มีความเข้มข้นอะนิลีนเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.3-2.75 mg/m³) เป็นเวลานาน 6 ปี พบว่าปริมาณของ p-aminophenol เพิ่มขึ้น

ความเป็นพิษในมนุษย์จากการได้รับอะนิลีนเข้าทางผิวหนังและทางเดินอาหารในปริมาณ 5 กรัม อาการที่ปรากฏออกมาคือ บริเวณผิวหนังจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเช่น บริเวณใบหู เล็บมือ ริมฝีปาก เล็บเท้า การหายใจลำบาก อาเจียน หัวใจเต้นเร็วผิดปกติ เลือดเปลี่ยนเป็นสีช็อคโกแลต เมื่อตรวจวิเคราะห์เลือดจะพบ Methemoglobin ในหนึ่งชั่วโมงแรกหลังจากได้รับพิษจะมีผลต่อการทำงานของตับ ในสองวันแรกของการได้รับพิษจะปรากฏอาการของโรคตัวเหลือง (ดีซ่าน) ในวันที่ 2-3 หลังจากที่ได้รับพิษจะปรากฏอาการปัสสาวะน้อยกว่าปกติมี Albuminuria ในปัสสาวะ และพบว่าในเลือดมีสารประกอบไนโตรเจนโดยเฉพาะยูเรีย (Urea) มากเกินไป การวิเคราะห์ปริมาณก๊าซภายในเลือดหลังจากฉีด อะนิลีนเข้าไปในกระเพาะ พบว่าปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในเส้นเลือดแดงและเส้นเลือดดำเพิ่มขึ้น ก๊าซออกซิเจนของเส้นเลือดแดงลดลง ความสามารถในการแข็งตัวของเส้นเลือดลดลง มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นภายในไต โดย Hemoglobin เข้าไปในระบบไตทำให้พบ Hemoglobin ในปัสสาวะ

การเข้าสู่ร่างกายโดยการปนเปื้อนมากับเสื้อผ้าและอุปกรณ์ต่างๆ หรือการหายใจเอาไอของอะนิลีนเข้าไปอย่างช้าๆ และความเข้มข้นต่ำ ระยะเวลาที่ร่างกายจะขับสาร Methemoglobin ออกมา กับปัสสาวะใช้เวลาหลายชั่วโมง ถ้าได้รับอะนิลีนเข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากและความเข้มข้นสูง เวลาผ่านไปไม่นานริมฝีปากจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเนื่องจากขาดเลือด ขาดออกซิเจน

2.3.5 การศึกษาความเป็นพิษเฉพาะด้าน

การเป็นสารที่ก่อมะเร็ง (Carcinogenicity)

สารอะนิลีนไม่มีผลต่อการทำให้เกิดเนื้องอกในสัตว์ทดลองและยังไม่มีหลักฐานว่าทำให้เกิดมะเร็งในคน

การเป็นสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (Mutagenicity)

การศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการฉีดสารอะนิลีนความเข้มข้น 1/3 ของ LD₅₀ เข้าไปในสัตว์ทดลอง พบว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะของ gene เพียงเล็กน้อย

ความเป็นพิษต่อระบบประสาท (Neurotoxicity)

ทดลองให้หนูสุดคมอะนิลีนความเข้มข้น 3.0 และ 0.3 mg/m³ นาน 80 วัน เป็นผลทำให้กล้ามเนื้อของหนูเกิดปฏิกิริยาต่อต้านหลังจากทำการทดลองเป็นเวลา 1 เดือน และต่อจากนั้นก็เข้าสู่สภาพปกติ

ผลต่อคนงานที่ทำงานในโรงงานผลิต Diphenylamine (ความเข้มข้นอะนิลีน 0.5 mg/m³) ระบบการทำงานของระบบประสาทจะถูกรบกวน 51.4 % ของคนไข้จะเป็นโรคกล้ามเนื้อเสื่อมหรือโรคประสาทที่มีอาการอ่อนเพลียอย่างเรื้อรัง ความเป็นพิษของอะนิลีนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระบบประสาทส่วนกลาง โดยกระตุ้นหรือยับยั้งการหดเกร็งของกล้ามเนื้ออย่างรุนแรง

การเสริมพิษ (Potentiation)

การเสริมพิษกันของอะนิลีนความเข้มข้น 1 mg/l และ Dimethylnitrosamine ความเข้มข้น 0.1 mg/l ทำให้เกิดเนื้องอกในหนูตัวผู้ถึง 88.9 % เปรียบเทียบกับการฉีด Dimethylnitrosamine อย่างเดียวทำให้เกิดเนื้องอก 58.5 % นอกจากนี้การเสริมพิษของอะนิลีนกับสารอื่นยังทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับอวัยวะสืบพันธุ์ รอบเดือนผิดปกติ เกิดการอักเสบและอาจเป็นมะเร็งในระยะเริ่มแรกของอวัยวะสืบพันธุ์ เกิดโรคแทรกซ้อนในระหว่างการตั้งครรภ์ หรือทำให้แท้งหรือคลอดก่อนกำหนด

2.3.6 การกำจัดอะนิลินในน้ำเสีย

อะนิลินในน้ำเสียสามารถกำจัดได้โดยการใช้จุลินทรีย์ เช่น *Pseudomonas aeruginosa* ทำให้ความเข้มข้นของอะนิลินในน้ำเสียที่ออกมาจากโรงงานอุตสาหกรรมลดลงจาก 88.3 mg/l เป็น 19.7 mg/l และถ้าใช้ และ *Bacillus polymyxa* จะทำให้ลดลงถึง 6.0 mg/l คือลดได้ถึง 77 และ 93 % ตามลำดับ เมื่อใช้แบคทีเรียทั้งสองร่วมกันสามารถกำจัดอะนิลินได้ถึง 96 % (อ้างใน กรมควบคุมมลพิษ, 2541)

2.3.7 ข้อเสนอนโยบายและกลไกทางกฎหมาย

มาตรการควบคุมภายในประเทศ

ประเทศไทยได้กำหนดให้มี พ.ร.บ.วัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 ขึ้นมา โดยพ.ร.บ. ดังกล่าวกำหนดวัตถุอันตรายออกเป็น 4 ประเภท คือ

- (1) วัตถุอันตรายชนิดที่ 1 ได้แก่ วัตถุอันตรายที่การผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือการมีไว้ครอบครองต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์และวิธีที่กำหนด
- (2) วัตถุอันตรายชนิดที่ 2 ได้แก่ วัตถุอันตรายที่การผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือการมีไว้ครอบครองต้องแจ้งให้เจ้าหน้าที่พนักงานทราบก่อนและต้องปฏิบัติตามกฎเกณฑ์และวิธีที่กำหนด
- (3) วัตถุอันตรายชนิดที่ 3 ได้แก่ วัตถุอันตรายที่การผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือการมีไว้ครอบครองต้องได้รับใบอนุญาต
- (4) วัตถุอันตรายชนิดที่ 4 วัตถุอันตรายที่ห้ามมิให้มีการผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือการมีไว้ครอบครอง

อะนิลิน จัดอยู่ในประเภทที่ 3 ได้แก่ วัตถุอันตรายที่การผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือการมีไว้ครอบครองต้องได้รับใบอนุญาตจากกรมโรงงานอุตสาหกรรม

มาตรการควบคุมของต่างประเทศ

- มาตรฐานความปลอดภัยในการทำงาน (Occupational Safety Standard)

ค่ามาตรฐานความเข้มข้นของอะนิลินในสถานประกอบการ ได้แก่ ค่าปริมาณความเข้มข้นเฉลี่ยตลอดระยะเวลาทำงานปกติ 8 ชั่วโมงต่อวัน (Time-Weighted Average, or TWA) ค่าปริมาณ

ความเข้มข้นสูงสุดที่ยอมให้มีได้ (Ceiling Value or CLV) และค่าปริมาณความเข้มข้นสูงสุดในช่วงเวลาจำกัด ซึ่งปกติกำหนดในเวลา 15 นาที และไม่ควรถูกเกินขึ้นมากกว่า 4 ครั้งใน 1 วัน (Short-Term Exposure Limit, or STEL) ซึ่งกำหนดโดยประเทศต่างๆ (ตารางที่ 2.4)

ตารางที่ 2.4 ค่ามาตรฐานความปลอดภัยในการทำงาน

ประเทศหรือหน่วยงานที่กำหนด	TWA		CLV		STEL	
	ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³
อาร์เจนตินา	2	13	-	-	5	19
เชคโกสโลวาเกีย	-	5	-	20	-	-
สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน	2	8	-	-	10	40
สหราชอาณาจักร	2	10	-	-	5	20
ญี่ปุ่น	5	19	-	-	-	-
สหภาพแห่งสาธารณรัฐโซเวียต	-	-	-	1	-	-
สวีเดน	1	4	-	-	2	8
สหรัฐอเมริกา	2	10	-	-	5	20
OSHA	5	19	-	-	-	-

ppm : ส่วนต่อล้านส่วน (part per million)

TWA : ความเข้มข้นโดยเฉลี่ยของสารในบรรยากาศสำหรับ 8 ชั่วโมงการทำงานต่อ 1 วัน ซึ่งคนทำงานได้รับซ้ำๆ ทุกวัน โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย

CLV : ความเข้มข้นของสารซึ่งห้ามเกินระดับที่กำหนดไม่ว่าเวลาใดๆ

STEL : ความเข้มข้นซึ่งคนงานสามารถได้รับตลอดเวลาในช่วงเวลาสั้นๆ โดยไม่ก่อให้เกิดอันตราย

LD₅₀ : ค่าทางสถิติของปริมาณสารที่ใช้ในหนึ่งครั้งแล้วทำให้สัตว์ทดลองตายร้อยละ 50

- มาตรฐานอากาศเสีย (Emission Standards)

ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมันได้กำหนดค่าความเข้มข้นสูงสุดของสารประกอบอินทรีย์ที่ยอมให้ปล่อยออกจากโรงงานซึ่งรวมถึงอะนิลีน โดยจัดกลุ่มตามปริมาณมลพิษที่ปล่อยออกมาดังนี้

Class I : ค่า emission limit 20 mg/m³
: โดยที่ mass flow rate \geq 0.1 kg/hour

Class II : ค่า emission limit 100 mg/m³
: โดยที่ mass flow rate \geq 2 kg/hour

Class III : ค่า emission limit 150 mg/m³

: โดยที่ mass flow rate \geq 3 kg/hour

- มาตรฐานอาหารและสินค้า

ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดปริมาณอะนินในสีที่ใช้ในการปรุงอาหาร ยา และเครื่องสำอาง ไม่ควรเกิน 0.2 % หรือ 2 g/kg

- มาตรฐานแหล่งน้ำ

สหภาพแห่งสาธารณรัฐโซเวียต ได้กำหนดปริมาณอะนินในแหล่งน้ำที่ใช้เพื่อการประมงไม่ควรเกิน 0.1 μ g/l

2.4 วิธีการกำจัดสีของน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อม

เนื่องจากสีย้อมเป็นวัตถุอันตรายที่สำคัญในอุตสาหกรรมฟอกย้อม จึงมีการพัฒนาสีย้อมให้มีความเหมาะสมและคงทนต่อการใช้งานมากขึ้น จากคุณสมบัติต่างๆ ของสีที่ได้พัฒนาขึ้นนั้นเองทำให้ส่งผลต่อการกำจัดเช่นกัน เนื่องจากในกระบวนการฟอกย้อม สีย้อมไม่ได้ถูกใช้ไปทั้งหมดแต่จะมีส่วนที่เหลือตกค้างอยู่ในน้ำที่ใช้ในกระบวนการและจะถูกปล่อยออกสู่แหล่งน้ำทิ้ง ถึงแม้ว่าจะมีผลการศึกษาจากหลายแห่งแสดงให้เห็นว่าความเป็นพิษของสีย้อมนั้นมีเพียงเล็กน้อย แต่ก็ต้องยอมรับว่าสีที่ปนมากับน้ำทิ้งนั้นส่งผลต่อความรู้สึกของประชาชนไม่น้อย น้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมจึงต้องผ่านระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อกำจัดสารต่างๆ รวมทั้งสีก่อนที่จะปล่อยสู่แหล่งน้ำสาธารณะ ดังที่หลายๆ ประเทศ เช่น อังกฤษ เยอรมัน ได้มีการออกกฎหมายควบคุมอย่างเข้มงวดเกี่ยวกับปริมาณสารและสีที่อนุญาตให้มีได้ในน้ำทิ้งก่อนปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม

ดังนั้นวิธีการต่างๆ ในการกำจัดสีในน้ำทิ้งจึงต้องพัฒนาขึ้นไปด้วยเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัด วิธีการกำจัดสีที่ใช้ในปัจจุบันแบ่งเป็นประเภทหลักๆ ดังนี้

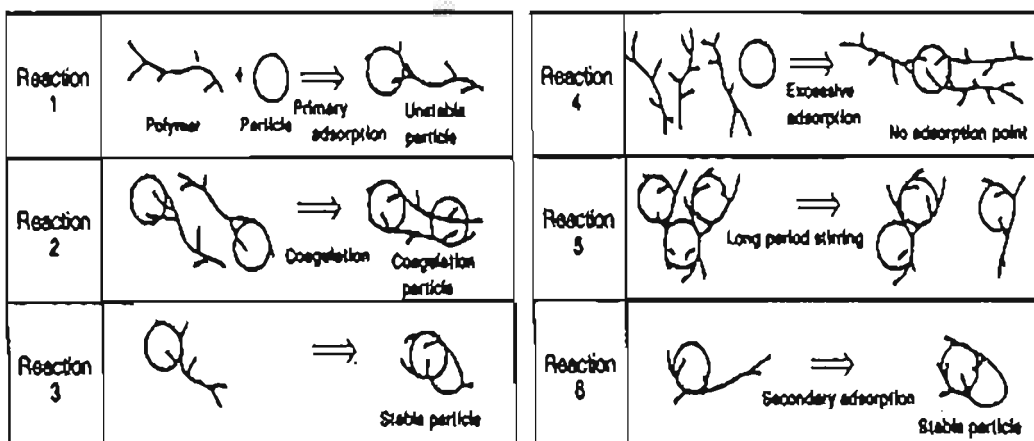
2.4.1 การกำจัดสีโดยวิธีทางกายภาพ

การบำบัดสีโดยวิธีทางกายภาพอาจจะเป็นวิธีขั้นต้นก่อนที่น้ำเสียจะเข้าสู่ระบบน้ำเสียขั้นที่สองต่อไปหรืออาจจะเป็นวิธีที่ใช้ภายหลังจากผ่านกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบชีวภาพก็ได้ การกำจัดสีโดยวิธีทางกายภาพนั้นที่สำคัญได้แก่ การตกตะกอนด้วยสารเคมี เนื่องจากสีย้อมที่ละลายอยู่ในน้ำจะมีขนาดอนุภาคเล็กมากไม่สามารถตกตะกอนได้ง่ายแต่ตลอดผ่านตัวกรองได้ สีย้อมจะถูกกำจัดโดยวิธีการ

ทำให้อนุภาคเหล่านั้นมารวมตัวกันจนมีขนาดใหญ่และแยกออกจากน้ำในที่สุด ซึ่งวิธีดังกล่าวนี้เรียกว่าวิธีการตกตะกอนด้วยสารเคมี (Coagulation Treatment) ซึ่งอนุภาคต่างๆ ที่ถูกทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้นเรียกว่าฟล็อก ขนาดของอนุภาคที่จะถูกกำจัดด้วยวิธีนี้ได้จะต้องมีขนาดประมาณ $10^9 - 10^{10}$ เมตร อนุภาคที่มีขนาดในช่วงนี้จะเรียกว่าคอลลอยด์

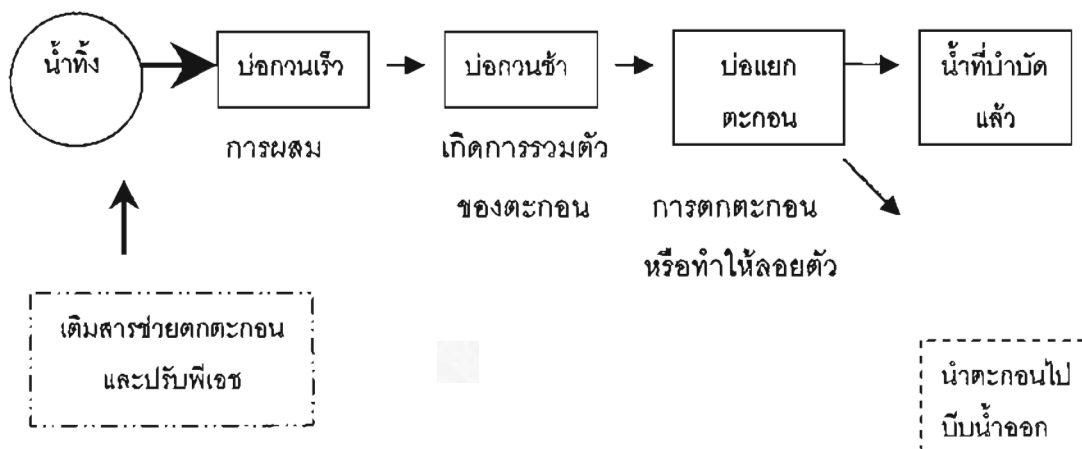
หลักการตกตะกอนมีดังนี้คือ คอลลอยด์ในน้ำจะมีประจุอยู่บนพื้นผิว อนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าจะมีพื้นที่ผิวมากกว่าอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่า และด้วยเหตุที่มีประจุเหมือนกันจึงเกิดแรงผลักรันทำให้อนุภาคเหล่านั้นรวมตัวกันได้ยากขึ้น คอลลอยด์จึงค่อนข้างจะมีเสถียรภาพและกระจายตัวอยู่ในน้ำโดยไม่ตกตะกอน ดังนั้นถ้าเราเติมสารบางอย่างลงไปเพื่อลดประจุบนพื้นผิวของคอลลอยด์ก็จะทำให้แรงผลักระหว่างอนุภาคอ่อนลงและสามารถเข้ารวมตัวกันได้และเกิดเป็นฟล็อก กลไกการเกิดปฏิกิริยาการตกตะกอนสามารถอธิบายได้ 2 ทฤษฎีคือ Electric double layer theory และ Chemical coagulation theory และเรียกสารเคมีที่เติมลงไปแล้วทำให้เกิดการตกตะกอนว่า ตัวตกตะกอน (Coagulation Agent หรือ Flocculating Agent)

หลังจากมีการเติมตัวตกตะกอนลงไปแล้ว การกวนจะมีความสำคัญมากต่อการเกิดฟล็อก รูปที่ 2.3 แสดงการเกิดตะกอน ปฏิกิริยาที่ 1 และ 2 เป็นปฏิกิริยาการดูดซับตะกอนเชิงอุดมคติ ถ้าไม่มีอนุภาคให้โพลีเมอร์จับ มันจะจับตัวเองกลายเป็นอนุภาคที่เสถียรดังปฏิกิริยาที่ 3 แต่ถ้ามีการกวนน้ำอย่างแรงเป็นเวลานาน ฟล็อกที่เกิดขึ้นจะกระจายตัวแตกออกไปใหม่และจับตัวเป็นอนุภาคที่เล็กลง ดังปฏิกิริยาที่ 5 และ 6 ในทางกลับกันถ้ามีปริมาณโพลีเมอร์มากเกินไป จะเกิดการแย่งจับตะกอนทำให้โพลีเมอร์สูญเสียบริเวณที่จะจับตะกอนอื่นๆ ฟล็อกที่เกิดขึ้นก็จะมีขนาดเล็ก ดังแสดงในปฏิกิริยาที่ 4 เพราะฉะนั้นการเกิดฟล็อกที่ดีจะต้องมีแรงยึดเกาะที่เพียงพอ ปฏิกิริยาที่ 1 และ 2 จัดว่าเป็นปฏิกิริยาการเกิดฟล็อกที่ดี



รูปที่ 2.3 แสดงการเกิดตะกอน (นฤมล ศิริทรงธรรม, 2539)

การตกตะกอนเป็นวิธีหนึ่งในการกำจัดมลพิษต่างๆ ที่อยู่ในน้ำเสีย และเป็นวิธีการที่นิยมใช้กันมากที่สุดในโรงงานฟอกย้อม ขั้นตอนแสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงขั้นตอนของกระบวนการตกตะกอน

2.4.2 กระบวนการทางเคมี

1) การออกซิเดชัน (Oxidation)

- การทำออกซิเดชันโดยการเติมคลอรีน (Chlorination)

สีย้อมหลายชนิดสามารถถูกกำจัดได้โดยใช้สารเคมีเป็นตัวออกซิไดซิง สารเคมีที่ใช้กันมากคือ คลอรีนในรูปของเหลวหรือก๊าซ, ไฮโปคลอไรต์ ใช้บำบัดก่อนที่จะเข้าสู่ระบบขั้นที่สองต่อไป แต่อย่างไรก็ตามการใช้คลอรีนปริมาณมากเกินไปจะทำให้อยู่ในรูปสารประกอบ Chlorinated Chemical ซึ่งเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม จากการศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดสีโดยกระบวนการเติมคลอรีนของ Ghosh และคณะ(1978) อ้างโดย Reife และ Freeman (1996) สรุปได้ว่าจะต้องให้คลอรีนประมาณ 150 มก./ล. จึงจะให้ประสิทธิภาพการกำจัดสี 77 % แต่จะมีคลอรีนตกค้างอยู่ในน้ำเสีย 110 มก./ล. แต่ถ้าไม่ต้องการให้มีคลอรีนตกค้างอยู่ในน้ำเสียจะต้องใช้คลอรีนต่ำกว่า 100 มก./ล. แต่ก็จะทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดสีลดลงเหลือเพียง 57 %

- การทำออกซิเดชันด้วยโอโซน (Ozonation)

โอโซนเตรียมขึ้นได้โดยการผ่านออกซิเจนเข้าสู่สนามไฟฟ้าความต่างศักย์สูงๆ โอโซนเคยถูกใช้ในการกำจัดกลิ่นในน้ำดื่ม ตลอดจนใช้ในการย่อยสลายสารประกอบสี โอโซนเป็นตัวออกซิแดนท์ที่ดีกว่าคลอรีน และพบว่ากลไกที่ได้จากการออกซิไดซิงน้ำเสียที่มี

สีโดยใช้โอโซนนั้นไม่ทำให้เกิดมลพิษจากสารพวก Chlorinated Organics จากงานวิจัยของ Horning (1978) อ้างโดย Reife และ Freeman (1996) พบว่าการใช้โอโซนปริมาณ 1 มก./ล.เป็นตัวออกซิไดซ์จะมีความสามารถในการกำจัดสีชนิดรีแอกทีฟและเบสิก แต่ไม่สามารถกำจัดสีดิสเพอร์สได้ ส่วนการกำจัดสีไดเรกต์นั้นโอโซนที่ต้องใช้มีปริมาณไม่แน่นอน ส่วนการกำจัดสารอินทรีย์ทั้งหมดนั้นกำจัดได้เล็กน้อย และไม่สามารถกำจัดค่าซีไอดีได้นอกจากนั้นยังต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการติดตั้งค่าอุปกรณ์ และในการเตรียมโอโซนยังต้องใช้พลังงานไฟฟ้าสูง วิธีนี้จึงยังไม่ได้ได้รับความนิยม

จากการศึกษาการใช้โอโซนในประเทศญี่ปุ่น อ้างโดย Reife และ Freeman (1996) ศึกษาในโรงงานฟอกย้อมจำนวน 120 แห่ง พบว่าน้ำเสียที่ปล่อยออกมาในแต่ละวันจะมีองค์ประกอบและปริมาณของสีย้อมต่างกัน แต่ยังคงเห็นสีเข้มอยู่ตลอดเวลา น้ำเสียปริมาณ 100,000 ตันต่อวันจะเข้าสู่ระบบการเติมโอโซน เมื่อทำการวิเคราะห์สีพบว่า ค่าแอบซอร์เบ้นซ์ที่ความยาวคลื่นสูง (580 nm) สีจะถูกกำจัดมากกว่าที่ความยาวคลื่นสั้น (410 nm) และพบว่าสีที่มีสีเหลืองเป็นองค์ประกอบจะไม่ถูกสลาย ส่วนการวิเคราะห์ค่าซีไอซีและซีไอดีพบว่าปริมาณลดลงแต่ค่าบีไอดีกลับเพิ่มขึ้น ในกรณีนี้ชี้ให้เห็นว่าต้องใช้สารเคมีช่วยในการย่อยสลายทางชีวภาพหลังจากที่น้ำเสียผ่านกระบวนการเติมโอโซนแล้ว และต้องใช้ค่าใช้จ่าย \$ 1.57 /ตันจึงจะเกิดประสิทธิภาพในการกำจัดสี ซึ่งค่าใช้จ่ายดังกล่าวคิดเป็นสองเท่าของระบบแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ (\$ 0.72 /ตัน)

- การทำออกซิเดชันโดย Fenton' reagent

Fenton' reagent เป็นสารละลายผสมระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับเหล็กไอออนซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีไอดีสูงและกำจัดสีในน้ำทิ้งได้ อย่างไรก็ตามปริมาณสารเคมีที่ใช้และปริมาณของสลัดจ์ที่เกิดจะมากขึ้นเมื่อน้ำทิ้งมีสิ่งสกปรกสูง แต่ถ้าหน่วยบำบัดมีขนาดเล็กกระบวนการนี้จะเป็นกระบวนการที่มีประโยชน์เพราะใช้เงินลงทุนต่ำ

2) การรีดักชัน

ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการรีดักชันของสีอะโซ (Azo Dyes) พบว่า สีดังกล่าวถูกสลายให้มีโมเลกุลเล็กลงเกิดเป็นสารอะโรมาติกอะมีน ซึ่งสารประกอบนี้เมื่อปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำจะเป็นพิษมากกว่าตัวสีย้อมเอง จึงได้มีการวิจัยเพื่อที่จะป้องกันไม่ให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมโดยใช้กระบวนการแอโรบิกต่อจากการรีดักชันด้วยสารเคมี ซึ่งสารเคมีที่นิยมใช้ในการรีดักชันคือ โซเดียมไฮไดรซัลไฟด์ (โซเดียมไดไฮโอไนด์) นอกจากนี้ยังใช้

ไทโอยูเรียไดออกไซด์ (Thiourea Dioxide) หรือที่รู้จักกันในชื่อ formamidine sulfinic (FAS) acid, โซเดียมฟอร์มัลดีไฮด์ดีซัลไฟด์ (Sodium Formaldehydesulfoxylat) และ Tin(II) Chloride (Reife และ Freeman, 1996)

3) กระบวนการดูดติดผิว

กระบวนการดูดติดผิวเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีที่มีปริมาณความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งต่ำๆ ในที่นี้จะกล่าวถึงถ่านกัมมันต์ ซึ่งสามารถเตรียมได้จากลิกไนต์, ถ่านหิน, เศษไม้, เศษฝ้าย และกะลามะพร้าว เป็นต้น ถ่านกัมมันต์เป็นเทคนิคการดูดซับที่นิยมใช้แพร่หลาย สามารถใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดกับสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยได้ (Volatile Organic Compound ; VOC) ซึ่งจะถูกดูดติดบนผิวของถ่านกัมมันต์ และสาร VOC นี้สามารถหลุดออกได้ง่าย ทำให้สามารถนำ ถ่านกัมมันต์ซึ่งมีราคาสูงกลับมาใช้ได้อีก แต่อย่างไรก็ตามการทำให้โมเลกุลของสีที่ใหญ่หลุดออกจากผิวของถ่านกัมมันต์นี้ทำได้ยาก ต้นทุนในการนำกลับมาใช้ซ้ำอีกจึงสูงมาก เพราะต้องผ่านการเผาและการกำจัดกากซึ่งมีค่าใช้จ่ายสูง ซึ่งจะต้องมีเครื่องมือสำหรับ regenerate activated carbon เพื่อให้สามารถนำกลับมาใช้งานได้ใหม่ ถ่านกัมมันต์ได้ถูกนำมาใช้ในการทำให้น้ำบริสุทธิ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับน้ำดื่ม เครื่องมือนี้ไม่ซับซ้อน สามารถดูดซับสิ่งเจือปนออกจากน้ำได้ แต่เนื่องจากถ่านกัมมันต์สามารถดูดสิ่งสกปรกได้ประมาณ 1/5 ของน้ำหนัก ฉะนั้นการกำจัดมลพิษในน้ำเสียจึงจำเป็นต้องใช้ถ่านกัมมันต์ปริมาณมากๆ เทคนิคนี้มีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อใช้ในงานขนาดเล็กและในช่วงเวลาสั้นๆ กรณีที่มีปริมาณน้ำเสียมาก ค่าใช้จ่ายของเทคนิคนี้จะไม่คุ้มค่าเมื่อเปรียบเทียบระหว่างปัญหาที่เกิดขึ้นและผลตอบแทนที่ได้รับ เนื่องจากการกำจัดสีออกจากผิวถ่านกัมมันต์เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่มีต้นทุนสูง ดังนั้นการกำจัดมลพิษออกจากน้ำเสียจึงมักเลือกใช้วิธีการอื่นๆ แต่ถ้าสามารถผลิตถ่านกัมมันต์ได้ในราคาต้นทุนที่ต่ำกว่าปัจจุบัน และมีพื้นผิวมากกว่าที่เป็นอยู่ วิธีนี้ก็อาจมีความเป็นไปได้ในเชิงพาณิชย์สูงขึ้น

ปัจจุบันในประเทศญี่ปุ่นได้มีการใช้ถ่านกัมมันต์ชนิดผงใส่ลงไปในระบบตะกอนเร่ง (Activated Sludge) แทนการใช้ชนิดเม็ดถ่านกัมมันต์ชนิดผงจะมีราคาถูกกว่าชนิดเม็ด และการเติมลงไปในระบบจะให้ประสิทธิภาพสูงกว่า เนื่องจากผงถ่านกัมมันต์จะถูกนำกลับมาใช้ใหม่ได้โดยการดูดกลับมาพร้อมกับสลัดจ์ แต่การเติมถ่านกัมมันต์ลงในระบบตะกอนเร่งก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปริมาณของสลัดจ์เพิ่มขึ้นจากเดิมค่อนข้างมาก

4) เทคโนโลยีเมมเบรน

วิธีนี้สามารถแบ่งย่อยออกเป็น 3 ประเภทย่อยได้แก่ Ultrafiltration, Nanofiltration และ Reverse Osmosis วิธีแรกไม่นิยมใช้กำจัดสีเนื่องจากขนาดของรูเมมเบรนใหญ่ไม่สามารถป้องกันการผ่านทะลุของโมเลกุลสีได้ ส่วนวิธี Nanofiltration และ Reverse Osmosis นั้นสามารถแยกโมเลกุลสีขนาดใหญ่ออกจากน้ำทิ้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยโมเลกุลสีย้อมจะรวมตัวกันหนาแน่นบนด้านหนึ่งของเมมเบรนในขณะที่น้ำจะสามารถทะลุผ่านเมมเบรนนั้นไปได้ ซึ่งวิธีนี้นอกจากแยกโมเลกุลของสีย้อมแล้วยังสามารถแยกโมเลกุลอื่นที่มีขนาดใหญ่กว่าได้ทั้งหมดด้วย

เทคนิคนี้สามารถบำบัดน้ำทิ้งที่มีปริมาณมากได้รวดเร็วแต่ต้นทุนค่าอุปกรณ์สูงและการทำความสะอาดเมมเบรนยังก่อให้เกิดปัญหาขึ้นได้ถ้าใช้ขนาดของโมเลกุลและรูเมมเบรนไม่เหมาะสม ข้อเสียหลักของระบบนี้คือจะเกิดตะกอนมีสีตกค้างในน้ำทิ้งในบางครั้ง วิธีการกำจัดการตกค้างของตะกอนอย่างมีประสิทธิภาพคือการเผา แต่ต้นทุนค่อนข้างสูง และในกรณีของสีย้อมบางชนิดที่มีโครโมโครมโรมาติกอยู่ จะก่อให้เกิดความเสี่ยงในการผลิตสารไดออกซินขึ้นจากการเผาดังกล่าว ดังนั้นเทคโนโลยีด้านเมมเบรนนี้จึงยังไม่เป็นที่นิยมแต่ถ้ามีการปรับปรุงวิธีการกำจัดตะกอนของสีของน้ำเสียที่เข้มข้นด้วยสีได้ก็อาจจะทำให้วิธีนี้เป็นที่ยอมรับมากขึ้น

5) กระบวนการไฟฟ้าเคมี

การใช้ไฟฟ้าเคมีในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมได้เริ่มพัฒนาขึ้นครั้งแรกในปลายศตวรรษที่ 20 ซึ่งเดิมจุดมุ่งหมายของกระบวนการไฟฟ้าเคมีคือเพื่อต้องการกำจัดโลหะหนักจากน้ำเสียโรงงานฟอกย้อมซึ่งผลจากการกระทำดังกล่าวทำให้ทราบว่านอกจากจะกำจัดโลหะหนักแล้วยังสามารถกำจัดสีให้ลดลงได้อีกด้วย จึงได้มีการใช้วิธีการนี้เป็นครั้งแรกและได้จดลิขสิทธิ์โดยใช้ชื่อว่า Andco Environmental Process ในปี 1989 ซึ่งนอกจากจะกำจัดสีและโลหะหนักได้แล้วยังสามารถกำจัด บีโอดี, ซีโอดี และของแข็งแขวนลอยได้ด้วยโดยต้องมีขั้นตอนอื่นๆ ประกอบ เช่น ถังพักน้ำเสีย ถังกรอง ตลอดจนการกำจัดสิ่งเจือปนที่เป็นพิษออกจากน้ำทิ้ง น้ำที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวสามารถนำกลับมาใช้ในกระบวนการผลิตได้อีก

2.4.3 การบำบัดทางชีวภาพ

1) กระบวนการแอกทิเวเตดสลัดจ์

ในอดีตน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมจะถูกปล่อยมารวมกับน้ำเสียรวมของเทศบาล และใช้ระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ในการบำบัดน้ำเสียดังกล่าว เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายต่ำกว่าวิธีการอื่น อย่างไรก็ตามในปัจจุบันเนื่องจากมีสีปนมากับน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมในปริมาณมากประกอบกับในตัวย้อมได้มีการเติมสารเคมีเพื่อช่วยเพิ่มคุณสมบัติของสีย้อม เช่น ป้องกันการตกของสี ให้สีติดทนนาน ทำให้ระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ไม่สามารถกำจัดสีที่เกิดขึ้นให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานได้

นอกจากนั้นน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมมีการเปลี่ยนแปลงชนิดของวัตถุที่ย้อมและน้ำทิ้งที่มีสีจะถูกปล่อยออกมาเป็นช่วงๆเท่านั้น ทำให้เป็นการยากที่จะทำให้จุลินทรีย์ชินกับสารอาหาร ซึ่งเป็นปัญหากับระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ จากงานวิจัยของ Carliell และคณะ (1996) พบว่าสีไม่ถูกย่อยสลายในสภาวะแอโรบิก เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Porter และ Snider (1976) พบว่าสีที่ใช้ในการศึกษานี้ส่วนมากไม่ถูกย่อยสลาย และหลังจากเวลาผ่านไป 30 วัน สีจะถูกกำจัดอย่างช้าๆ และสรุปว่าการใช้ระบบแอกทิเวเตดสลัดจ์ที่มีการเติมอากาศนานๆ ไม่เพียงแต่ทำให้เกิดการย่อยสลายทางชีวภาพนานๆ เท่านั้นแต่จะป้องกันการเกิดปริมาณชีวมวลและช่วยลดปริมาณสลัดจ์ที่เกิดขึ้น และ Reife และ Freeman (1996) ได้อ้างถึงงานวิจัยของ Shriver และ Dague (1978) ซึ่งพบว่าน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมที่มีสีมีอัตราการย่อยสลายช้ากว่าน้ำเสียชุมชน นั่นคือ การย่อยสลายของน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมคิดเป็นร้อยละ 31 ในขณะที่อัตราการย่อยสลายน้ำทิ้งชุมชนคิดเป็นร้อยละ 92

Thorat และ Kapadnis (1997) ได้ทำการศึกษาเรื่อง การบำบัดสีจากน้ำทิ้งด้วยระบบตะกอนเร่ง (Activated Sludge) น้ำเสียที่นำมาวิเคราะห์นั้นนำมาจากโรงงานฟอกย้อมขนาดใหญ่ที่ตั้งอยู่ใน Bombay โดยทั่วไปสีย้อมจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ และยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระบบตะกอนเร่ง จุลินทรีย์ต่างๆถูกแยกออกจากดิน แล้วปรับตัวให้เข้ากับน้ำเสียที่ทิ้งออกมา มี 8 ชนิดที่ถูกเลือกสำหรับบำบัดสีในระบบตะกอนเร่ง เชื้อที่แยกออกมาจะถูกจำแนกด้วย Bergey's manual จุลินทรีย์ทั้งหมดในระบบตะกอนเร่งถูกเตรียมและใช้ใน Aeration Basin และน้ำเสียจะต้องมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ซึ่งอาจจะต้องจัดหาแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในรูปของ Diammonium hydrogen phosphates

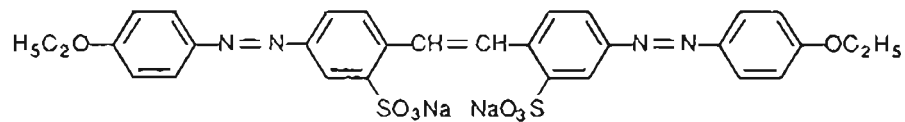
Michal และคณะ (1978) ได้ศึกษาการกำจัดสีอินทรีย์ 20 ชนิด ซึ่งแบ่งตามโครงสร้างเป็น 4 กลุ่มคือ 1. สีแอซิดโมโนอะโซ ที่มีองค์ประกอบของ benzonaphthaline 2. สีแอซิดโมโนอะโซ ที่มีองค์ประกอบของ azonaphthaline 3. สีไดเร็กซ์ ที่มีกลุ่มอะโซขนาดใหญ่ และ 4. สีรีแอกทีฟ โดยใช้กระบวนการแยกทิวเต็ดสัลต์ส์จำลองในห้องทดลองพบว่า

- การกำจัดสีโดยใช้แยกทิวเต็ดสัลต์ส์มีความแตกต่างจากการกำจัดสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ ตัวควบคุมการกำจัดสีคือ กระบวนการทางฟิสิกส์ และฟิสิกส์-เคมี
- ความสามารถในการกำจัดสีโดยกระบวนการแยกทิวเต็ดสัลต์ส์ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่อไปนี้ สมบัติของสี, โครงสร้างและชนิดโมเลกุลสี, จำนวนและตำแหน่งของธาตุย่อยๆ (Substituents) ในโมเลกุลสี สีที่มีกลุ่มไฮดรอกซิล (OH), ไนโตร (Nitro), และอะโซ (Azo) ในโมเลกุลความสามารถในการกำจัดจะเพิ่มขึ้น แต่ถ้าในโมเลกุลสีมีกลุ่มซัลโฟ (Sulfo) อยู่จะทำให้ความสามารถในการกำจัดสีโดยกระบวนการแยกทิวเต็ดสัลต์ส์ลดลง ความสามารถในการกำจัดจะเพิ่มขึ้นตามความยาวของโมเลกุลสี นอกจากนี้พบว่า ถ้าเพิ่มขนาดพื้นที่ผิวของฟล็อกและค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า (Electrokinetic Potential) จะทำให้ความสามารถในการกำจัดสีเพิ่มขึ้นด้วย
- ในการทดลองกำจัดสีโดยใช้สี 5 ชนิด ด้วยกระบวนการแยกทิวเต็ดสัลต์ส์แบบต่อเนื่อง พบว่ามีกลไกการกำจัดสีเหมือนกับกลไกการกำจัดสีในระบบแบบดิส ความเข้มข้นของสีไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดสีของระบบ และปริมาณสีที่ถูกกำจัดจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณสัลต์ส์ที่เกิดขึ้น

2) กระบวนการแอนแอโรบิก

จากการที่ได้มีการศึกษาและพบว่ามีแบคทีเรียซึ่งอยู่ในลำไส้ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมสามารถกำจัดสีย้อมอาหารชนิดอะโซได้ (Carliell และคณะ, 1995) ทำให้เกิดการตื่นตัวในการศึกษาการกำจัดสีย้อมจากโรงงานฟอกย้อมโดยใช้กระบวนการทางชีววิทยาแบบแอนแอโรบิกอย่างมากมาย ตัวอย่างงานวิจัยของหน่วยงานที่ชื่อ Ecological and Toxicological Association of the Dyestuffs Manufacturely (ETAD) ได้ศึกษาการกำจัดสีย้อมอะโซ 14 ชนิด โดยใช้ระบบถังย่อยแอนแอโรบิก พบว่าสีเกือบทุกชนิดที่ได้นำมาศึกษาถูกกำจัดได้มากกว่า 90 % และจากการวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบที่เกิดจากการกำจัดสีอะโซพบว่าส่วนมากจะเป็นสารประกอบอะโรมาติกอะมีน ตัวอย่างเช่นสีย้อม

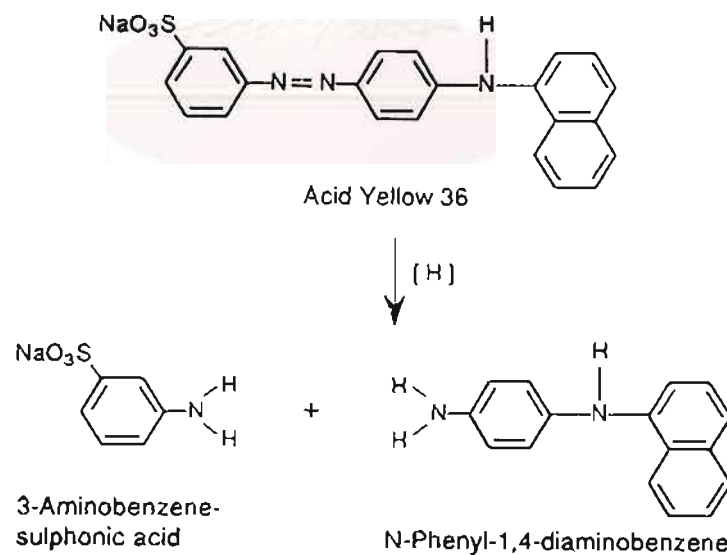
สีย้อม Direct Yellow 12 และ สีย้อม Acid Yellow 36 จะถูกย่อยสลายในส่วนที่เป็นพันธะอะโซ่ ได้สารประกอบอะโรมาติกอะมีน ดังแสดงในรูปที่ 2.5 และ 2.6 ตามลำดับ



Direct Yellow 12



รูปที่ 2.5 ปฏิกริยาการย่อยสลายสี Direct Yellow 12 ในสภาวะแอนแอโรบิก
(Reife และ Freeman,1996)



รูปที่ 2.6 ปฏิกริยาการย่อยสลายสี Acid Yellow 36 ในสภาวะแอนแอโรบิก
(Reife และ Freeman,1996)

ผลจากการศึกษาของ ETAD ยังชี้ให้เห็นว่าสีที่ถูกกำจัดนอกจากจะเกิดจากการย่อยสลายของสีย้อมโดยการแตกพันธะอะโซแล้วยังอาจรวมถึงการให้สีถูกดูดติดบนฟล็อกและการรีดักชันของฟังก์ชันกลุ่มอื่นๆ ที่นอกเหนือจากกลุ่มอะโซด้วย ความสามารถในการย่อยสลายสีที่มีกลุ่มโพลีอะโซ (Polyazo) จะผันแปรระหว่าง 1-100% ในขณะที่กลุ่มโมโนอะโซ (Monoazo) และไดอะโซ (Diazo) ได้รับการยืนยันว่าย่อยสลายได้จริง (Brown และ Laboureur, 1983 อ้างโดย Reife และ Freeman, 1996)

จากการศึกษาของ Kremer (1987) อ้างโดย Reife และ Freeman (1996) พบว่าในสภาวะแอนแอโรบิกสีย้อม Acid Red 88 ถูกกำจัดได้ 90 % ภายในเวลา 8 ชั่วโมง โดยในระหว่างการเกิดรีดักชันของสี ได้แยกสารประกอบอะโรมาติกอะมีนที่เกิดจากการแตกพันธะอะโซได้ 2 ชนิดคือ naphthionic acid และ 1-amino-2-naphthol และนอกจากนี้ยังมีสารประกอบอื่นๆ ในปริมาณเล็กน้อย เช่น 1,2-naphthoquinone, 2-naphthol, isoquinoline และ quinacridone ซึ่งเชื่อว่าเกิดจากปฏิกิริยาที่ตามมาของผลิตภัณฑ์จากการรีดักชัน

Carliell และคณะ (1994) ได้ศึกษาการกำจัดสีรีแอกทีฟที่มีโครงสร้างทางเคมีต่างกัน 18 ชนิดและให้มีความเข้มข้นสี 100 มก./ล. ในสภาวะแอนแอโรบิก โดยใช้แบคทีเรียที่มีการเพาะเลี้ยงในสภาวะแอนแอโรบิก และมีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเสริม พบว่า 80% ของชนิดสีรีแอกทีฟจะถูกปลดปล่อยได้ ดังแสดงในตารางที่ 2.5

จากตารางจะเห็นได้ว่า ประสิทธิภาพการกำจัดสีอยู่ระหว่าง 70-97% ยกเว้น C.I.Reactive Yellow 95 อาจเนื่องมาจากสีดังกล่าวมีสารที่เป็นตัวยับยั้งหรือเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ ส่วนสีที่มีโครงสร้างอื่น เช่น Anthraquinone และ Phthalocyanine มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีต่ำ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสีที่มีโครงสร้างดังกล่าวมีความคงตัวมากกว่าหรืออาจมีส่วนที่ทำให้เกิดการรีดักชันน้อยกว่า

ผลการวิเคราะห์สารที่ได้จากการย่อยสี C.I. Reactive Red 141 ซึ่งวิเคราะห์โดย column chromatography และ NMR พบว่ามี 3 ชนิด ที่แยกได้ชัดเจนคือ 2-aminonaphthalene-1,5-disulfonic acid (I), 1,7-diamino-8-naphtho-3,6-disulfonic acid (II) และ p-diamino-benzene (III) ส่วนชนิดที่ 4 ไม่สามารถแยกด้วยเครื่อง NMR เนื่องจากมีไฮโดรเจนอะตอมอยู่แต่คาดว่าน่าจะเป็นพวกกรดไซยานูริก (Cyanuric Acid) (IV) ดังแสดงในรูปที่ 2.7 จะเห็นได้ว่าการลดสีจะเกิดขึ้นเมื่อมีการแตกพันธะอะโซ

จากการทดลองที่ผ่านมาชี้ให้เห็นว่าในกระบวนการแอนแอโรบิก สีย้อมจะย่อยสลายและกลายเป็นสารประกอบอะโรมาติกอะมีนซึ่งเป็นสารที่เป็นอันตราย ดังนั้นเพื่อ

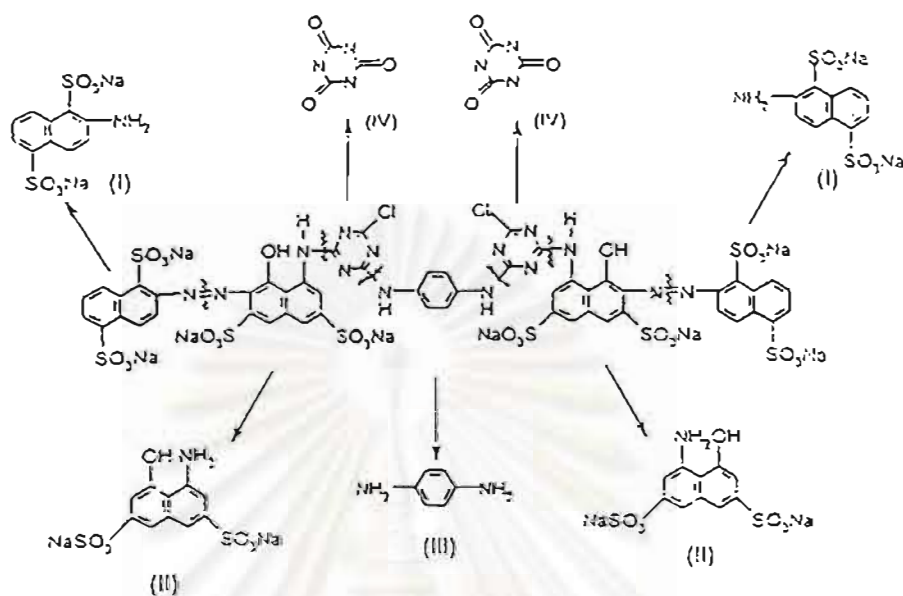
แก้ไขปัญหานี้จึงได้มีการวิจัยเพื่อให้ไม่เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมโดยการเพิ่มกระบวนการแอโรบิกตามไปเนื่องจากได้มีผู้ศึกษาพบว่าสารอะโรมาติกอะมีนจะถูกย่อยสลายได้ในสภาวะแอโรบิก

ตารางที่ 2.5 การกำจัดสีรีแอกทีฟในสภาวะแอนแอโรบิกที่มีการเติมแหล่งคาร์บอนเสริม

Dyes	Chemical classification	Percentage decolorization	Reduction time(h) required to attain maximum decolorization
Reactive dye powders			
C.I. Reactive Yellow 16	Azo	80-90	6.5
C.I. Reactive Red 198a	Azo	85-90	2
C.I. Reactive Red 141	Azo	85-90	4.5
C.I. Reactive Blue 38	Phthalocyanine	40	4.5
C.I. Reactive Blue 21	Phthalocyanine	85-90	4.5
C.I. Reactive Blue 220	Azo	90-95	1
C.I. Reactive Black 5	Azo	80-85	4.5
Reactive dye solution			
C.I. Reactive Yellow 95	Azo	0	-
C.I. Reactive Orange 12	Azo	90-95	23
C.I. Reactive Red 218	Azo	90-95	32
C.I. Reactive Red 24	Azo	90-97	32
C.I. Reactive Orange 13	Azo	85-90	50
C.I. Reactive Brown 11	Azo	90	23
* Blue PB	Metal complex	98	2
C.I. Reactive Blue 49	Anthraquinone	7-10	2
C.I. Reactive Black 39	Azo	70-75	5.5
*Black SG	Metal complex	75-80	7.5
C.I. Reactive Blue 72	Phthalocyanine	25-30	50

* No C.I. number available

ที่มา Carliell CM. (1994)



รูปที่ 2.7 กลไกการย่อยสลายสี C.I. Reactive Red 141 (Cariell,1994)

3) กระบวนการแอนแอโรบิก-แอโรบิก

ในกระบวนการชีวภาพแบบแอนโรบิกสามารถย่อยสลายได้ แต่จะเกิดสารกลุ่มอะโรมาติกอะมีน ซึ่งบางตัวเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม แต่จากที่ได้มีการศึกษาพบว่าสารนี้ถูกย่อยสลายได้ยากในสภาวะแอนแอโรบิกแต่ถูกย่อยสลายได้ในสภาวะแอโรบิก (Brown และ Hamburger, 1987) ทำให้มีผู้สนใจศึกษากระบวนการชีวภาพแบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกเพื่อกำจัดสีที่ย้อมโดยไม่เกิดสารพิษ เช่น งานวิจัยของ Loyd และคณะ, 1992 อ้างโดย Reife และ Freeman, 1996 ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการกำจัดสีระหว่างกระบวนการแอโรบิกอย่างเดียว (เอเอส) กับกระบวนการแบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก พบว่ากระบวนการแบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกมีประสิทธิภาพการกำจัดสีสูงกว่าคือ 88% และส่วนใหญ่เกิดขึ้นในช่วงแอนแอโรบิก ในขณะที่กระบวนการเอเอสมีประสิทธิภาพการกำจัดสีเพียง 28% เท่านั้น

Loyd และคณะ (1992) อ้างโดย Reife และ Freeman (1996) ทำการวัดค่าไออาร์พีและการลดลงของสีบนตัวอย่างที่มีการบ่มเชื้อพบว่ากลไกการลดลงของสีเกิดขึ้นใน

ช่วงแอนแอโรบิก และพบแบคทีเรียในกลุ่มแฟคัลเททีฟ และ/หรือแอนแอโรบหลายชนิดที่สามารถย่อยสลายได้ นอกจากนี้ในระบบที่มีการคัดพันธุ์จุลินทรีย์จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดสูงกว่าระบบที่ไม่มีการคัดพันธุ์ (คือค่าไออาร์พีในระบบที่มีการคัดพันธุ์ต่ำกว่าที่ไม่คัดพันธุ์) และการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในช่วงแอนแอโรบิกจะทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดเพิ่มขึ้นด้วย

Rahman (1991) ได้ทำการวิเคราะห์ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อที่ใช้กำจัดสี โดยการศึกษาการกำจัดโดยวิธีชีวภาพได้ทำการทดลองแบบแบทช์ใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลและสีแดง บี ผสมอยู่ และใช้เชื้อที่ปรับสภาพแล้ว ทำการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ 6 ปัจจัยคือ อุณหภูมิ pH ความเข้มข้นของสี และกลูโคส ระดับของการเติมอากาศ และความเข้มข้นของมวลชีวภาพ พบว่าตัวแปรที่สำคัญคือ ความเข้มข้นของสี ความเข้มข้นของกลูโคส และอุณหภูมิ ซึ่งตัวแปรทั้ง 3 ควรได้รับการพิจารณาร่วมกันในกระบวนการกำจัดสีโดยวิธีชีวภาพ

Huifang และคณะ (1991) ได้ศึกษาจุลินทรีย์ที่เติมลงไปในการบำบัดน้ำเสียโรงงานฟอกย้อมซึ่งส่วนมากประกอบด้วยสีย้อมและสารพีวีเอ (Polyvinylalcohol) โดยใช้กระบวนการทางชีววิทยาแบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก และใช้กระบวนการดูดติดผิวโดยถ่านกัมมันต์ในขั้นที่สาม อีกทั้งมีการเวียนสลับถังที่เหลือค้างอยู่กันถึงตกตะกอนไปยังถังแอนแอโรบิก การทดลองดังกล่าวประกอบด้วย 2 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองแรกใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากการเลี้ยงให้ชินกับน้ำเสีย ส่วนชุดทดลองที่สองเติมเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการกำจัดสีและสารพีวีเอลงไปด้วย ผลการทดลองพบว่าชุดการทดลองหลังมีประสิทธิภาพการกำจัดสีสูงกว่าชุดการทดลองแรกประมาณ 20 % ส่วนประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดี, บีโอดี, สี และพีวีเอ มีค่าเฉลี่ย 92, 97, 90 และ 80% ตามลำดับ

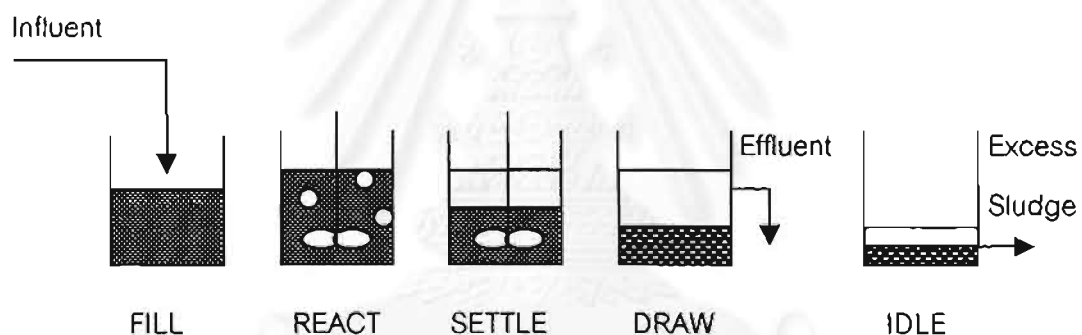
Zaoyan และ คณะ (1992) ศึกษาการกำจัดสีจากน้ำเสียโรงงานฟอกย้อมโดยใช้กระบวนการแอนแอโรบิก-แอโรบิกแอกทิเวเต็ดสลัดจ์ชีวภาพแบบจานหมุน (RBC) ผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดี, บีโอดี และสี มีค่าประมาณ 83, 83 และ 84% ตามลำดับและยังพบอีกว่ามีเพียงการกำจัดสีเท่านั้นที่เกิดขึ้นในช่วงแอนแอโรบิก แต่สารที่ย่อยสลายทางชีวภาพบางชนิดจะถูกทำให้เป็นสารที่ย่อยสลายทางชีวภาพง่าย ทำให้เมื่อเข้าสู่ช่วงแอโรบิกสารดังกล่าวถูกย่อยสลายและถูกออกซิไดซ์ได้อย่างต่อเนื่อง และได้มีการทดลองใช้ระบบชีวภาพแบบจานหมุนที่มีช่วงแอโรบิกอย่างเดียวนในการบำบัดน้ำเสียชนิดเดียวกับข้างต้น พบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีสูงแต่ไม่สามารถกำจัดสีให้ลดลงได้

2.5 กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบเอสบีอาร์ (Sequencing Batch Reactor, SBR)

ระบบเอสบีอาร์ได้พัฒนาจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศรุ่นแรกซึ่งเป็นแบบ Fill Draw ที่ใช้ถึงปฏิกิริยาเพียงใบเดียวในการกำจัดสารอินทรีย์และตกตะกอน ซึ่งต่างจากกระบวนการแยกทีละขั้นตอนที่ต้องมีถังตกตะกอนแยกต่างหาก ระบบเอสบีอาร์เป็นวิธีบำบัดน้ำเสียแบบแบตช์ แต่ก็มีความสามารถที่นำมาใช้กับน้ำเสียที่ไหลอย่างต่อเนื่องได้ถ้าใช้ถังเติมอากาศมากกว่า 2 ใบขึ้นไป (Irvine, 1979)

2.5.1 หลักการทำงานของระบบเอสบีอาร์

ขั้นตอนการทำงานของระบบเอสบีอาร์จะทำงานเป็นวัฏจักรประกอบด้วย 5 ขั้นตอน (Metcalf & Eddy, 1991 อ้างใน จินตนา เป็นสุวรรณ, 2539) ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 การทำงานของกระบวนการเอสบีอาร์

ขั้นตอนการรับน้ำเสีย (Fill) คือการเติมน้ำเสียเข้าสู่ถังปฏิกิริยาจนเต็มถัง ซึ่งปกติจะมีน้ำและสลัดจ์ค้างดังอยู่แล้วในขั้นตอนพักระบบประมาณ 25% ของปริมาตรถัง ขั้นตอนนี้ใช้เวลาประมาณ 25% ของวัฏจักร

ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยา (React) ขั้นตอนนี้มีการเติมอากาศและกวนอย่างสมบูรณ์และใช้เวลาประมาณ 35% ของวัฏจักร

ขั้นตอนการตกตะกอน (Settle) ขั้นตอนนี้ต้องไม่มีการเติมอากาศและการกวน ปล่อยให้สลัดจ์จมตัวลง ใช้เวลาประมาณ 20% วัฏจักร

ขั้นตอนการระบายน้ำทิ้ง (Draw) ขั้นตอนนี้เป็นปล่อยน้ำใสส่วนบนทิ้งเหลือน้ำและสลัดจ์ในถังปฏิบัติการประมาณ 35% ปริมาตรถึง

ขั้นตอนพักระบบ (Idle) เป็นขั้นตอนที่ใช้ในการพักระบบในกรณีที่มีการใช้ถังเติมอากาศหลายใบเพื่อรับน้ำเสียได้อย่างต่อเนื่อง ซึ่งต้องมีการเหลื่อมเวลากันในการรอน้ำเสียของแต่ละใบและเมื่อครบรอบการทำงานก็เริ่มรับน้ำเสียอีกครั้ง นอกจากนี้อาจมีการระบายสลัดจ์ส่วนเกินทิ้งในขั้นตอนนี้

ในกรณีที่ระบบเอสปีอาร์นั้นใช้ถังเติมอากาศใบเดียวไม่จำเป็นต้องมีขั้นตอนการพักระบบและการระบายสลัดจ์ส่วนเกินทิ้ง อาจทำได้ในปลายขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาหรือในช่วงเริ่มต้นของขั้นตอนการตกตะกอน ส่วนความถี่และปริมาณการระบายสลัดจ์ทั้งขึ้นอยู่กับค่าอายุสลัดจ์

2.5.2 ข้อดีและข้อเสียของระบบเอสปีอาร์

ข้อดีของระบบเอสปีอาร์มีดังนี้

- ไม่ต้องมีถังตกตะกอนและระบบหมุนเวียนสลัดจ์ซึ่งจะทำให้ประหยัด และการควบคุมระบบไม่มีความยุ่งยาก
- ป้องกันการเกิดการไหลลัดวงจรของน้ำเสีย
- จำกัดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แบบเส้นใย (Filamentous Bacteria) ซึ่งเป็นการป้องกันการที่สลัดจ์ไม่จมตัว
- ระบบสามารถดัดแปลงหรือปรับปรุงเพื่อให้เป็นกระบวนการกำจัดธาตุอาหาร (Biological Nutrient Removal) ได้ง่าย

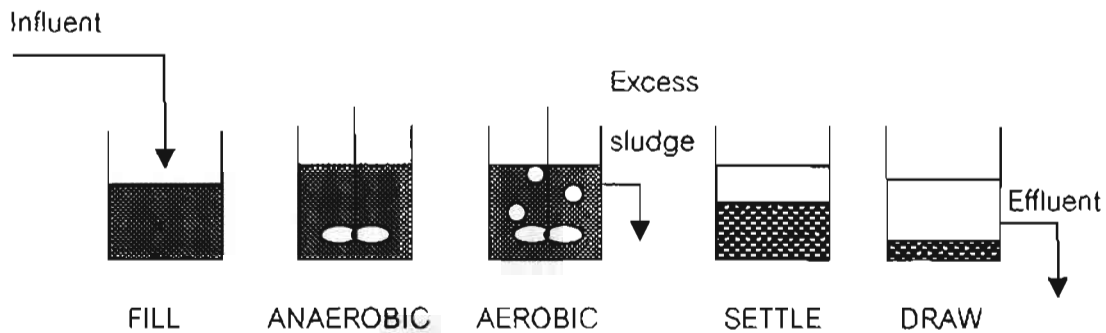
ข้อเสียของระบบเอสปีอาร์มีดังนี้

- การใช้ระบบเอสปีอาร์เพื่อรับน้ำเสียที่ไหลแบบต่อเนื่องและมีการไหลแบบแปรผันจะทำให้ยากแก่การควบคุม
- อาจต้องมีถังพักน้ำเสียที่มีขนาดใหญ่เพื่อความสะดวกในการควบคุมระบบ

2.6 ระบบเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก

ระบบเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกมีลักษณะคล้ายกับระบบเอสปีอาร์แบบธรรมดาเพียงแต่ระบบเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกจะเพิ่มขั้นตอนแอนแอโรบิกก่อนเข้าสู่ขั้นตอน

แอโรบิกดังรูปที่ 2.9 แต่ทั้งนี้อาจจะมีไนเตรตที่เกิดจากการปฏิกิริยาไนตริฟิเคชันในขั้นตอน แอโรบิกและเหลืออยู่ในน้ำค้างถัง ซึ่งจะทำให้เกิดสภาวะแอน็อกซิกก่อนเข้าสู่สภาวะแอนแอโรบิก



รูปที่ 2.9 ระบบเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก

ระบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกทุกระบบเป็นระบบที่ถูกออกแบบเพื่อให้มีความสามารถในการกำจัดทั้งคาร์บอนอินทรีย์และฟอสฟอรัสจากน้ำเสีย โดยระบบนี้ทำให้เกิดการคัดพันธุ์ได้จุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งที่สามารถสะสมปริมาณฟอสฟอรัสไว้ในเซลล์ได้มากกว่าปกติ

กลุ่มจุลินทรีย์ต่างๆในกระบวนการแอนแอโรบิก-แอโรบิก

(1) กลุ่มจุลินทรีย์เฮเทอโรโทรฟิก (Heterotrophic Organisms)

- แบคทีเรียสร้างกรด (Acidogenic Bacteria) ในสภาวะไร้อากาศแบคทีเรียกลุ่มนี้ปล่อยเอมไซม์ออกมานอกเซลล์เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นโมเลกุลเล็ก เช่น น้ำตาลและกรดอะมิโน ต่อจากนั้นถูกแบคทีเรียดูดซึมเข้าและผ่านกระบวนการหมักภายในเซลล์ ทำให้เกิดกรดไขมันระเหยง่าย เช่น กรดอะซิติกกรดบิวทริก

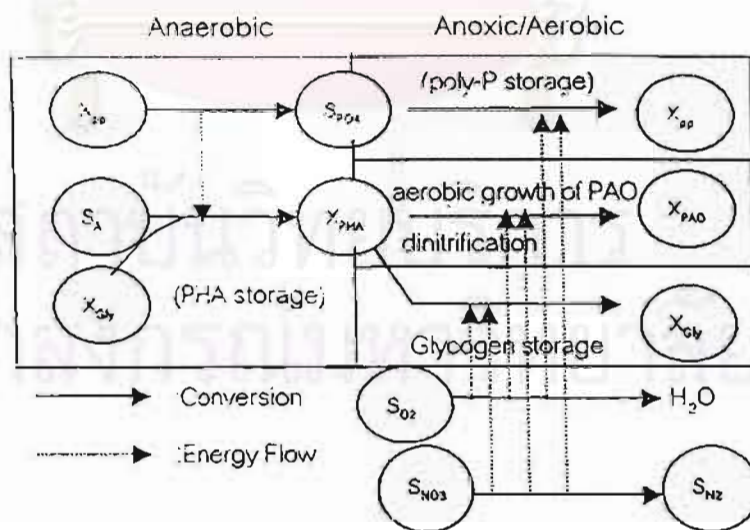
-แบคทีเรียดีไนตริฟายอิง ในสภาวะแอน็อกซิกแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถเปลี่ยนไนเตรตให้เป็นก๊าซไนโตรเจนด้วยปฏิกิริยาดีไนตริฟิเคชัน โดยไนเตรตทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนสุดท้ายแทนออกซิเจน และมีสารอินทรีย์เป็นสารให้อิเล็กตรอน

(2) กลุ่มจุลินทรีย์ออโตโทรฟิก (Autotrophic Organisms)

แบคทีเรียไนโตรฟายอิงสามารถเปลี่ยนรูปของแอมโมเนียให้เป็นไนเตรตใน สภาวะ แอโรบิกด้วยปฏิกิริยาไนตริฟิเคชัน ซึ่งแบคทีเรียเกี่ยวข้องในกระบวนการนี้ ได้แก่ ไนโตรโซโมนัสและแบคทีเรียไนโตรแบกเตอร์ โดยแบคทีเรียตัวแรกจะออกซิไดส์แอมโมเนียให้เป็นไนทรีตต่อจากนั้นแบคทีเรียไนโตรแบกเตอร์จะออกซิไดส์ไนทรีตไปเป็นไนเตรต

(3) กลุ่มจุลินทรีย์สะสมฟอสฟอรัส (Phosphate Accumulating Organisms, PAOs)

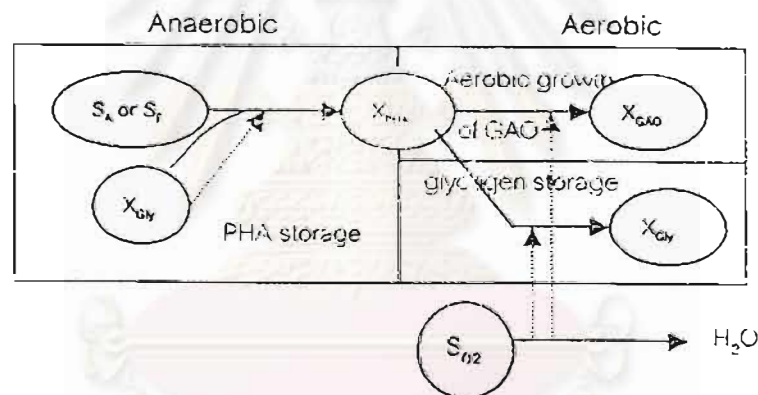
เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมฟอสฟอรัสไว้ในเซลล์ได้มากกว่าปกติ ซึ่งมีกลไกการทำงานดังรูปที่ 2.10 (Mino และคณะ, 1995) คือ เมื่ออยู่ในสภาวะแอนแอโรบิก แบคทีเรียกลุ่มนี้จะดูดซึมสารอาหารจำพวกกรดไขมันระเหยง่ายเช่นอะซิเตตเข้าภายในเซลล์และจะเก็บสะสมไว้ในรูปพืเอชเอ (Polyhydroxyalkanoate, PHA) ซึ่งในขั้นตอนนี้ แบคทีเรียจะใช้พลังงานจากการย่อยสลายโพลีฟอสเฟตที่สะสมอยู่ในเซลล์ ทำให้เกิดการปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาในรูปออร์โธฟอสเฟต (ในน้ำจะมีปริมาณฟอสฟอรัสสูง) เมื่อเข้าสู่สภาวะแอโรบิกแบคทีเรียจะใช้พืเอชเอที่สะสมไว้ในขั้นตอนแอนแอโรบิกเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและมีการจับใช้ฟอสฟอรัสในปริมาณที่มากกว่าปกติเพื่อสะสมเป็นแหล่งพลังงานในรูปโพลีฟอสเฟต และยังมีแบคทีเรียกลุ่มนี้บางส่วนสามารถใช้ในเทรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนสุดท้ายแทนออกซิเจนอิสระ(Minoและคณะ, 1995)



รูปที่ 2.10 กลไกการทำงานของจุลินทรีย์ที่สะสมฟอสฟอรัส (Mino และคณะ, 1995)

(4) กลุ่มจุลินทรีย์สะสมกลัยโคเจน (Glycogen Accumulating Organisms, GAOs)

Mino และคณะ (1995) กล่าวว่ากลไกการทำงานของจุลินทรีย์กลุ่มนี้คล้ายกับ PAOs แต่ไม่มีการสะสมฟอสฟอรัส (รูปที่ 2.11) คือเมื่ออยู่ในสภาวะแอนแอโรบิก แบคทีเรียกลุ่มนี้จะดูดซึมสารอาหารจำพวกกรดไขมันระเหยเข้าไปในเซลล์และสะสมในรูปแบบพีเอชเอ ซึ่งกระบวนการนี้จะใช้พลังงานจากกลัยโคเจนที่สะสมไว้ในเซลล์ เมื่อเข้าสู่สภาวะแอนแอโรบิก แบคทีเรียจะใช้พีเอชเอเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังสะสม กลัยโคเจนส่วนหนึ่งไว้ในเซลล์ เพื่อเป็นแหล่งพลังงานในการใช้สารอาหารในสภาวะแอนแอโรบิก ซึ่งในขั้นตอนนี้ GAOs ไม่มีการจับใช้ฟอสฟอรัสเพื่อสะสมไว้ในเซลล์เหมือนกับ PAOs



รูปที่ 2.11 กลไกการทำงานของจุลินทรีย์ที่สะสมกลัยโคเจน (Mino และคณะ, 1995)

2.7 การกำจัดสีโดยจุลินทรีย์

Horitsu, Takada, Idaka, Tomoyeda และ Okava (1977) พบว่า p-Aminoazobenzene (PAAB) ถูกย่อยสลายโดย *Bacillus subtilis* ผลจากการย่อยดังกล่าวจะทำให้เกิดอะนิลีน (Aniline) และ p-phenylenediamine ซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดย TLC และ HPLC จากการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าปฏิกิริยาการย่อยสลายขั้นแรกของสี PAAB โดย *B. subtilis* นั้นเกิดจากการแตกพันธะอะโซ

Kim, Ishikawa, Hirai และ Shoda (1995) ได้ทำการศึกษาการย่อยสลายสีโดยเชื้อราสายพันธุ์ DEC1 ที่แยกจากดิน พบว่าสามารถกำจัดสีกลุ่มรีแอกทีฟ, แอซิด, และ ดิสเพิร์ส รวม 18 ชนิด และยังสามารถกำจัดสีผสมของสีทั้ง 3 ชนิดได้ โดยได้ทำการทดลองบนอาหารแข็งและอาหารเหลว อัตราการย่อยสลายจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของสี และพบว่าอัตราการย่อยสลายยังคงสูงอยู่แม้ความเข้มข้นสีประมาณ 12 g/l แสดงให้เห็นว่า รา (DEC1) มีความทนต่อสีที่มีความเข้มข้นสูง แหล่งพลังงานและออกซิเจน มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อกิจกรรมการย่อยสลายสี คุณสมบัติที่เหมาะสมคือ 30 องศาเซลเซียส และจากการศึกษาถึงเอนไซม์ของ DEC1 ที่เกี่ยวข้องกับกรย่อยสลายพบว่า คือ peroxidase

Knapp, Newby และ Reece (1995) ได้ทำการกำจัดสีโดย Wood-Rotting Basidiomycete Fungi พบว่า ราทั้ง 7 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบ มีความสามารถในการย่อยสีต่างกัน ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของสีสังเคราะห์ที่ต่างกัน เชื้อทุกตัวมีความสามารถกำจัดสีได้บางชนิด และประสิทธิภาพการกำจัดสีจะต่างกันในแต่ละตัว แปรผันตั้งแต่ 50% ถึง 100% Chrysophenine มีประสิทธิภาพสูงสุด การกำจัดสีบางตัวเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ไม่มีเชื้อตัวไหนที่พิสูจน์ได้ว่าดีที่สุดในสำหรับทุกสี และเป็นเรื่องที่ยากที่จะทดสอบได้ยาก *Phanerocheate chrysosporium* เป็นเชื้อที่มีความสำคัญน้อยที่สุดในบรรดาเชื้อทั้งหมด ระบบการแยกเชื้อที่ใช้ Mycelial mats เจริญบน Malt extract medium และเสริมด้วย แหล่งพลังงาน (Glucose) ใส่ไปพร้อมกับสี ไม่เหมาะสม

Lyberatos และ Zissi (1996) พบว่า ปฏิกิริยาทางชีววิทยามีความสำคัญมากในการกำจัดสีอะโซในระบบบำบัดน้ำเสีย ในการทดลองนี้ได้ให้ความสำคัญที่การกำจัดสีในสภาวะ Anoxic ของสี Disperse Azo dye (PAAB) (Simple Azodye) โดยเชื้อบริสุทธิ์ของ *Bacillus subtilis* โดยให้เจริญในอาหารสังเคราะห์ *Bacillus subtilis* เป็นแบคทีเรียที่ใช้ในเตรท หรือไนโตท เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ภายใต้สภาวะแอนอ็อกซิก การย่อยสี PAAB โดย *Bacillus subtilis* นี้ตรวจสอบภายใต้การทดลองแบบแบทและศึกษากลไกการย่อยสี ผลลัพธ์ที่ได้พิสูจน์ได้ว่า *Bacillus*

subtilis เป็น Co-Metabolizes PAAB ภายใต้ Denitrifying มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ได้สารผลิตภัณฑ์เป็น Aniline และ p-phenylenediamine ซึ่งเกิดจากการแตกพันธะ

Nigam, Banat, Oxspring, Marchant, Singh และ Smyth (1995) ได้ศึกษาราคาเส้นใยที่ไม่ใช่ออกซิเจนในการเจริญเติบโตและราคาที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ที่เจริญบนสีจากโรงงานกำจัดย้อม โดยมีสีเป็นแหล่งคาร์บอน แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัม (Spectra) ซึ่งชี้ให้เห็นว่า เกิดการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลบริเวณกลุ่มโครโมฟอร์ จากการทดสอบเกี่ยวกับการย่อยสีโดยใช้ Capillary Electrophoresis ก็ยืนยันได้ว่า การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสีเกิดจากรา

Nigam, Banat, Singh และ Marchant (1996) ได้ศึกษาขบวนการทางชีววิทยา เพื่อนำบัดสีที่ออกจากโรงงานฟอกย้อมที่ประกอบด้วยสีอะโซ สีไดอะโซ และสีรีแอคทีฟ ทั้งในสภาวะที่ใช้ ออกซิเจนและไม่ใช่ออกซิเจน โดยแยกเชื้อจากโรงงานฟอกย้อม พบว่าการกำจัดสีของบางองค์ประกอบสีของน้ำที่ปล่อยออกมาและสีผสมเกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่ไม่ใช่ออกซิเจน จุลินทรีย์ที่สำคัญคือแบคทีเรีย ซึ่งสามารถแตกพันธะกลุ่มโครโมฟอร์ในโมเลกุลสีได้ ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน แบคทีเรียที่แยกได้ชนิดหนึ่งสามารถกำจัดสี Cibacron red (Reactive Dye), Remazol Golden Yellow (Azodye) และ Remazol Red (Diazo Dye) ได้อย่างสมบูรณ์ภายใต้กระบวนการหมัก 24-30 ชั่วโมง Remazol Navy Blue (Diazo Dye) และ Cibacron Orange (Reactive Dye) ภายใต้เวลา 48 ชั่วโมง และ Remazol Blue ภายใต้เวลา 54 ชั่วโมง การกำจัดสีเหล่านี้เป็นการกำจัดถาวร ไม่มีสีเปลี่ยนแปลงกลับมาอีก มีสี Remazol Turquoise blue (Phthalocyanine Dye) เพียงสีเดียวเท่านั้น ที่ถูกกำจัดได้ไม่สมบูรณ์

Nigam, McMullan, Banat และ Marchant (1996) ได้ทำการศึกษาเรื่องการทำเจือสีน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมฟอกย้อม โดย Microbial Consortium พบว่า กลุ่มจุลินทรีย์ PDW ที่ถูกแยกออกมา สามารถกำจัดสีทางการค้าที่สำคัญได้อย่างรวดเร็วภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน การกำจัดสีจะขึ้นอยู่กับแหล่งคาร์บอน และแหล่งพลังงานที่รวมอยู่ในสี โดย PDW สามารถกำจัดสีได้สูงสุดเมื่อใช้ yeast extract เป็นแหล่งคาร์บอน แต่มีปัญหาในเรื่องราคาที่สูง เมื่อทดลองใช้แหล่งคาร์บอนอื่นคือ กลูโคส แลคโตส แป้ง และของเสียจากโรงต้มกลั่น PDW สามารถกำจัดสี Remazol Back B ได้ 82, 71, 52 และ 39 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

Nigam, Singh และ Marchant (1995) ได้ศึกษาการย่อยสลายสีย้อมกลุ่มอะโซ ในสภาวะ แอโรบิกและแอนแอโรบิก โดยศึกษากับแบคทีเรียและรา ซึ่งสามารถใช้สีเป็นเหมือนแหล่งคาร์บอน โดยเชื่อมดั่งกล่าวแยกได้จากสภาวะ Polong Enrichment Culture จากตัวอย่างน้ำเสียโรงงานฟอกย้อม ออกมาส่วนใหญ่เจริญได้ดีในอาหารผสมสีย้อมทั้งสองสภาวะ ส่วนความสามารถในการกำจัดสีใน บางสีย้อมและสีย้อมผสม จะเกิดขึ้นในสภาวะแอนแอโรบิก ซึ่งชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน สามารถแตกพันธะอะโซในโมเลกุลสี แบคทีเรียกลุ่ม PDW สามารถกำจัดสีย้อมบางสีได้ 100 % ใน เวลา 24-48 ชั่วโมง ในสภาวะแอนแอโรบิกเมื่อได้เพิ่ม yeast extract 0.5% ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนราประเภท Facultatively Anaerobic จะสร้าง Thick Mycelial เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสี แต่ไม่แสดงให้เห็นการย่อยสี เป็นการชี้ให้เห็นว่าราไม่สามารถแตกพันธะอะโซ แต่สามารถใช้ส่วนอื่น ของโมเลกุลสีในการเจริญเติบโต หลักฐานเกี่ยวกับการกำจัดสีนี้สังเกตเปรียบเทียบระหว่างสีที่ถูก บ่มในสภาวะแอนแอโรบิกกับสีเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสี และวิเคราะห์โดยใช้ UV/Vis Spectrophotometry

Pastl-Grigsby, Burke และ Goszczynski (1996) ได้ศึกษาการกำจัด dimethyl-hydroxy-azobenzene 4' -sulfonic acid โดย *Streptomyces chromofuscus* A11 ซึ่งการศึกษานี้ใช้สี mono-azo 14 ชนิด ซึ่งมีกลุ่ม Carboxylate หรือ Sulfonate พบว่า สีที่มีกลุ่ม Carboxylate จะถูก กำจัดได้ดีที่สุดในช่วง 1-2 วัน ในขณะที่สีที่มีกลุ่ม Sulfonic ถูกกำจัดได้ดีในวันที่ 3 และยังพบว่า การกำจัดสีจะเกิดขึ้นเมื่อกลุ่ม Hydroxy อยู่ในตำแหน่งพารากับกลุ่มอะโซ แต่เมื่ออยู่ในตำแหน่ง ออโทจะไม่เกิดการกำจัดสี

Yuen และ Wong (1996) ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถกำจัดสีเมทิลเรดจากสลัดจ์ ได้เชื้อที่จะนำมาศึกษาคือ *Acetobactor liquefa* S-1 และ *Klebsiella pneumoniae* RS-13 โดย ศึกษาว่าปัจจัยทางกายภาพและทางเคมี เช่น อุณหภูมิ การเติมอากาศ ปริมาณกลูโคส เอทานอล แอมโมเนียมซัลเฟต และ พีเอช ว่ามีผลต่อการกำจัดสีในสภาวะแอโรบิกหรือไม่ พบว่า *Klebsiella pneumoniae* กำจัดสีเมทิลเรดได้ดีกว่าคือ กำจัดสีที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ ต้องการอาหารในปริมาณที่น้อย ซึ่งผลจากการกำจัดสีเมทิลเรดจะเกิดสาร 2 ชนิดคือ 2-aminobenzoic acid (ABA) และ N,N' - dimethyl-p-phenylenediamine (DMPD)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 แผนการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพการลดสีย้อมชนิดอะโซชนิด Reactive Red 2 โดยจุลินทรีย์ในกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 เป็นการศึกษาจุลินทรีย์จากกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกที่มีความสามารถในการกำจัดสีย้อมอะโซและศึกษาสารอะโรมาติกอะมีนที่คาดว่าจะเกิดขึ้น โดยจะศึกษากับสีอะโซที่มีโครงสร้างแบบโมโนอะโซ คือ C.I Reactive Red 2 (Procion Red MX-5B)

ส่วนที่ 2 เป็นการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อม C.I Reactive Red 2 และสารอะโรมาติกอะมีนที่เกิดจากกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก

ในการศึกษาส่วนนี้จะทำใน 3 ชุดการทดลอง ที่เวลาแอนแอโรบิกต่างกัน 3 ค่า คือที่ 10, 18 และ 30 ชั่วโมง ในขณะที่เวลาแอโรบิกเท่ากัน

ดังนั้นในแต่ละชุดการทดลองจะมีวัฏจักรการทำงาน เวลาแอนแอโรบิก+แอโรบิก+ตกตะกอน ดังนี้

- ชุดการทดลองที่ 1 ศึกษาที่วัฏจักรการทำงาน 10+5+1 ชั่วโมง
- ชุดการทดลองที่ 2 ศึกษาที่วัฏจักรการทำงาน 18+5+1 ชั่วโมง
- ชุดการทดลองที่ 3 ศึกษาที่วัฏจักรการทำงาน 30+5+1 ชั่วโมง

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 ขั้นตอนเตรียมการทดลอง

ในการวิจัยครั้งนี้ได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสียในกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก จาก คุณปรีชาวิทย์ รอดรัตน์ นักศึกษาปริญญาโทภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รายละเอียดของระบบเป็นดังนี้

- อุปกรณ์การทดลองระบบบำบัดน้ำเสียแบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกมีดังนี้
- 1) ดังปฏิกิริยาเป็นถังอะคริลิกใสขนาดจุ 12 ลิตร จำนวน 3 ใบ โดยแต่ละใบเจาะรูที่ข้างถึง 2 รู เพื่อให้เป็นที่ระบายทิ้งสลัดจ์ส่วนเกินและระบายน้ำใสส่วนบนออกไป
- 2) ดังเก็บน้ำเสียก่อนเข้าถังปฏิกิริยาจำนวน 3 ใบ เป็นถังพลาสติกที่สามารถจุน้ำได้ถึงละ 8 ลิตร ใช้สำหรับเก็บน้ำเสียก่อนเข้าระบบ โดยปริมาณน้ำที่ถูกปล่อยเข้าถังปฏิกิริยาเท่ากับ 8 ลิตร ต่อวัฏจักร
- 3) เครื่องกวนซึ่งประกอบด้วยมอเตอร์และใบพัดจำนวน 3 ชุด
- 4) เครื่องเติมอากาศซึ่งประกอบด้วยบิมอากาศ(ที่ใช้กับตู้ปลา) และหัวกระจายอากาศ จำนวน 3 ชุด
- 5) ไมโครโปรเซสเซอร์ ยี่ห้อ MITSUBISHI รุ่น Fxos series
- 6) โซลินอยด์วาล์วจำนวน 9 ตัว
- 7) น้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งประกอบด้วยสารต่างๆ ดังตารางที่ 3.1

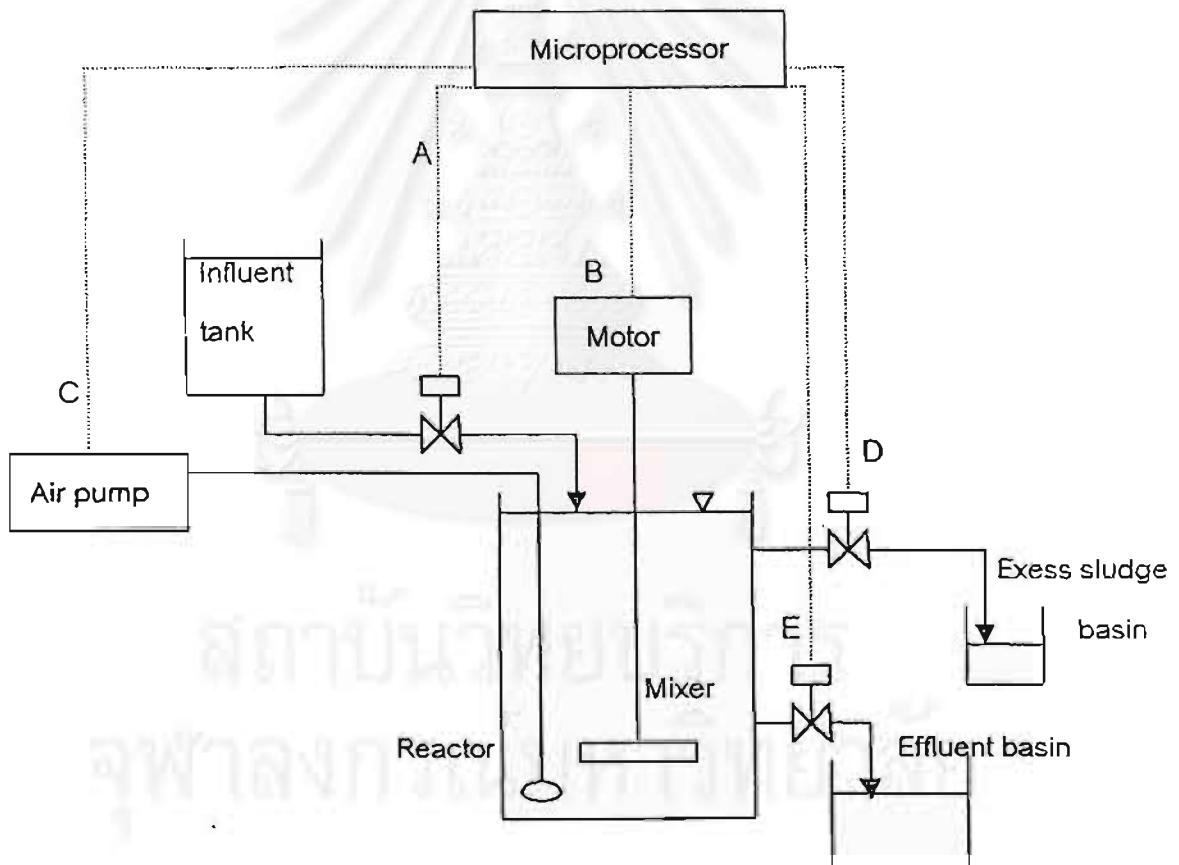
ตารางที่ 3.1 ปริมาณของสารต่างๆที่ใช้ในการสังเคราะห์น้ำเสีย

สารเคมี	ปริมาณสาร (มก./ล.)	ความเข้มข้นที่ต้องการ
น้ำมัน	1,443	1,400 มก./ล.ซีไอดี
Nutrient Broth	25.0	25.0 มก./ล.
$(\text{NH}_2)_2\text{CO}$	93.2	43.5 มก./ล.N
KH_2PO_4	40.9	9.3 มก./ล.P
CaCl_2	13.0	4.7 มก./ล.Ca
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	47.6	4.7 มก./ล. Mg
FeCl_3	5.5	1.9 มก./ล.Fe
สี	400	400 มก./ล.

การติดตั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆในแต่ละชุดการทดลองของกระบวนการแอนแอโรบิก-แอโรบิก ดังรูปที่ 3.1 และมีขั้นตอนการทำงานดังนี้

- 1) ไมโครโปรเซสเซอร์สั่งเปิดโซลินอยด์วาล์ว (A) เพื่อปล่อยน้ำเสียปริมาณ 8 ลิตรเข้าถังปฏิกิริยา เมื่อถึงเวลาที่ตั้งไว้ก็สั่งปิดวาล์ว (มีปริมาณน้ำเสียในถังปฏิกิริยาเท่ากับ 12 ลิตร)

- 2) ไมโครโปรเซสเซอร์สั่งปล่อยกระแสไฟฟ้าให้มอเตอร์เครื่องกวนทำงาน (B) ซึ่งจะเริ่มทำงานพร้อมๆ กับขั้นตอนแรก เครื่องกวนจะทำงานตั้งแต่เริ่มต้นสภาวะแอนแอโรบิกจนกระทั่งสิ้นสุดช่วงเวลาแอโรบิก
- 3) เมื่อเข้าขั้นตอนแอโรบิก ไมโครโปรเซสเซอร์จะสั่งให้เครื่องเติมอากาศทำงาน (C)
- 4) ปลายขั้นตอนแอโรบิกไมโครโปรเซสเซอร์สั่งเปิดโซลินอยด์วาล์ว (D) เพื่อระบายสลัดส์ส่วนเกินเมื่อถึงเวลาที่ตั้งไว้สั่งปิดวาล์ว
- 5) ไมโครโปรเซสเซอร์สั่งปิดอุปกรณ์ทุกอย่างเพื่อให้สลัดส์จมน้ำ
- 6) ไมโครโปรเซสเซอร์สั่งเปิดโซลินอยด์วาล์ว (E) เพื่อระบายน้ำใสส่วนบนทิ้ง เมื่อถึงเวลาที่ตั้งไว้ก็สั่งปิดวาล์ว (มีปริมาณน้ำค้างในถังปฏิกิริยาเท่ากับ 4 ลิตร)
- 7) ครบวัฏจักรกลับไปเริ่มต้นที่ขั้นตอนที่ 1) ใหม่



รูปที่ 3.1 การติดตั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ระบบเอสบีอาร์ (ปรีชาวิทย์ รอดรัตน์)

3.2.2 การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์

- การเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างจะเก็บเมื่อระบบเข้าสู่สถานะคงตัว (Steady State) ซึ่งช่วงที่เก็บตัวอย่างน้ำเข้าจะเก็บก่อนที่น้ำเสียจะเข้าระบบ ส่วนการเก็บตัวอย่างช่วงแอนแอโรบิกและแเอโรบิกจะเก็บก่อนที่จะสิ้นสุดการทำงานในแต่ละชั้น พารามิเตอร์ต่างๆ ตำแหน่งการเก็บตัวอย่าง และความถี่ที่ต้องวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ตำแหน่งการเก็บตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

พารามิเตอร์	ตำแหน่งการเก็บตัวอย่างน้ำ		
	น้ำเข้า	แอนแอโรบิก	แเอโรบิก
ซีไอดี	/	/	/
สีหน่วยเอสยู (0.45)	/	/	/
สีหน่วยเอซีเอ็มไอ	/	/	/

- วิธีวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

วิธีวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ นั้นใช้วิธีวิเคราะห์ตามหนังสือมาตรฐาน (Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 1995) และคู่มือวิเคราะห์น้ำเสียของสมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย, 2540

1) การวัดสี

(1) หน่วย ADMI และ SU

สำหรับการวัดสีในงานวิจัยนี้มีขั้นตอนดังนี้ คือ นำตัวอย่างน้ำไปกรองด้วยกระดาษกรอง 0.45 ไมครอน ทั้งนี้เนื่องจากต้องการวัดค่าสีที่แท้จริง (True Color) จากนั้นจึงนำเข้าเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์สแกนสีวัดออกมาเป็นค่าแอบซอร์บแนต์และค่าเปอร์เซนตทรานสมิตเทนซ์ที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 400 ถึง 700 นาโนเมตร พื้นที่ใต้กราฟระหว่างค่าแอบซอร์บแนต์กับความยาวคลื่นระหว่างความคลื่นระหว่าง 400 ถึง 700 นาโนเมตรจะเป็นค่าสีหน่วยเอสยู ส่วนค่า

เปอร์เซ็นต์ทราสมิทแทนซ์ที่ความยาวคลื่นทุกๆ 10 นาโนเมตรตั้งแต่ความยาวคลื่น 400 ถึง 700 จะนำมาคำนวณเป็นค่าสีเอ็ดเอ็มไอ (Allen และคณะ 1973 ; Standard Methods, 1995)

- (2) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ max)
- นำสี Reactive Red 2 ไปสแกนหาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด
 - นำตัวอย่างน้ำไปกรองด้วยกระดาษกรอง 0.45 ไมครอน จากนั้นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่หาได้จากข้อ 1) ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ จากนั้นจึงนำไปเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสีเริ่มต้น

2) วิเคราะห์ซีโอดี (COD)

วิธีวิเคราะห์ซีโอดี (COD) แสดงในภาคผนวก ๑

3.2.3 การวิเคราะห์จุลินทรีย์

1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วย (หน่วยกรัมต่อลิตร)

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.5 KH_2PO_4 , 2.66

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4.32 กลูโคส , 5.0

สี Reactive Red 2, 0.04 และ agar 15 กรัม

- ชั่งองค์ประกอบอาหารตามอัตราส่วนที่กำหนดไว้ในขวดรูปชมพู่และคนให้เข้ากัน
- ใส่ Agar ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1.5 (กรณีทำอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวไม่ต้องใส่ Agar) ลงในสารละลายทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยการต้มและใช้แท่งแก้วคนจนใสไม่มีผงฝุ่นในอาหาร
- นำไปอบฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2) คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มเด่นที่กำลังจัดสีย้อมอะโซ

(1) เก็บตัวอย่างจุลินทรีย์จากชั้นตอนแอนแอโรบิกและชั้นแอโรบิกของระบบ จากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ (Serial Dilution) โดย

- ใช้ปิเปตขนาด 5 มล. ตูตน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 4.5 มล. ใส่ในหลอดแก้วจำนวน 5 หลอด

- ใช้ปิเปตต์ขนาด 1 มล. ดูดน้ำตัวอย่างที่เก็บจากระบบในแต่ละชั้นใส่ลงในหลอดที่ 1 ผสมให้เข้ากัน แล้วจึงดูดสารละลายหลอดที่ 1 จำนวน 0.5 มล. ใส่ในหลอดที่ 2
- ใช้ปิเปตต์อันใหม่ดูดสารละลายจากหลอดที่ 2 ปริมาตร 0.5 มล. ใส่ในหลอดที่ 3
- ทำเช่นเดียวกันในหลอดที่ 3 ไป 4 และ 4 ไป 5 จะได้ serial dilution ที่มีความเข้มข้น 10^{-1} - 10^{-5}

(2) นำสารละลายตัวอย่าง 1 ml. จากข้อ (1) ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-3} - 10^{-5} ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อจากนั้นใส่อาหารเลี้ยงเชื้อผสมสี ประมาณ 20 ml. หมุนไปมาบนโต๊ะ ปล່อยให้แห้งคว่ำจานเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะไร้ออกซิเจนโดยวิธีเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนให้เป็นสารอื่น โดย นำตัวอย่างใส่ใน candle jar จุดเทียนไข ปิดฝา จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1-2 วัน

(3) คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มเด่นโดยพิจารณาเชื้อที่มีปริมาณมาก

(4) ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มเด่น โดยวิธี streak plate และบ่มในสภาวะแอนแอโรบิก และแอโรบิก จนมั่นใจได้ว่าได้เชื้อบริสุทธิ์

(5) นำเชื้อบริสุทธิ์ที่คัดเลือกได้จาก ข้อ(4) มาศึกษาลักษณะโคโลนี (Colonial Morphology) บนอาหารแข็งสูตรเดียวกับข้างต้นแต่ไม่ผสมสีอะโซและศึกษารูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Microscopic Morphology) โดยวิธีการย้อมแบบ gram stain (ภาคผนวก ๑)

3) การเตรียม Inoculum

เตรียม Inoculum 2 แบบคือ

(1) Inoculum A

- นำเชื้อบริสุทธิ์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 2) ปริมาณ 3 หลวงเชื้อเชื้อ ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเดียวกับ 1) ยกเว้นสีและวุ้น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
- บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 12 ชั่วโมงโดยวางบนเครื่องเขย่า (หรือบ่มเชื้อจนกระทั่งมีค่า OD ประมาณ 0.2)

(2) Inoculum B

- นำเชื้อบริสุทธิ์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 2) ปริมาณ 3 หลวงเชื้อเชื้อ ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเดียวกับ 1) ยกเว้นวุ้น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
- บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 12 ชั่วโมงโดยวางบนเครื่องเขย่า (หรือบ่มเชื้อจนกระทั่งมี OD ประมาณ 0.2)

4) ทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์กลุ่มเด่นในการกำจัดสีย้อม Reactive Red 2 ในอาหารแข็ง

- อาหารแข็งในจานเพาะเชื้อ (สภาวะแอโรบิก)

- (1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสี Reactive Red 2 ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 จาน อาหารต่อเชื้อบริสุทธิ์ 1 ชนิด
- (2) นำ Inoculum ของจุลินทรีย์บริสุทธิ์ จาก ข้อ 3) ปริมาตร 0.1 มล. มา spread บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสีในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
- (3) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1-2 วัน ภายใต้สภาวะแอโรบิก
- (4) สังเกตความสามารถในการกำจัดสีเปรียบเทียบกับจานอาหารที่ไม่ได้ใส่ Inoculum

- อาหารแข็งในหลอดอาหาร (สภาวะแอนแอโรบิก)

- (1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสี Reactive Red 2 ปริมาตร 9.5 มิลลิลิตรในหลอดทดสอบ จำนวน 2 หลอดต่อเชื้อบริสุทธิ์ 1 ชนิด
- (2) นำ Inoculum ของเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ จาก ข้อ 3) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดอาหารที่เตรียมไว้
- (3) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนเป็นเวลา 1-2 วัน สังเกตสีในหลอดทดลองเทียบกับหลอดอาหารที่ไม่ได้ใส่ Inoculum

5) ทดสอบความสามารถในการกำจัดสี Reactive Red 2 ในอาหารเหลว

- ทดสอบภายใต้สภาวะแอนแอโรบิก

- (1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวผสมสี Reactive Red 2 ปริมาตร 9.5 มิลลิลิตรในหลอดอาหาร ซึ่งใน 1 เชื้อบริสุทธิ์จะต้องเตรียมหลอด 5 หลอดเพื่อทดสอบที่เวลาต่างกัน (เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของออกซิเจนดังนั้นจะเปิดหลอดทดลองเพียง 1 ครั้งเท่านั้น)
- (2) นำ Inoculum ของเชื้อบริสุทธิ์ที่คัดเลือกจากข้อ 3) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวในข้อ (1) (อัตราส่วน 5 %V/V) ทั้ง 5 หลอดบ่มที่อุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะแอนแอโรบิก

(3) ทำการตรวจวัดการกำจัดสี ที่เวลาต่างๆ กัน โดยวัดสีในหน่วย ADMI และวัดสีที่ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ตัวอย่างอีกส่วนนำไปวิเคราะห์หาสารอะโรมาติกอะมีน (อะนิลีน) ที่เกิดขึ้น

- ทดสอบภายใต้สภาวะแอโรบิก

(1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวผสมสี Reactive Red 2 ปริมาตร 47.5 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิลิตร จำนวน 2 ขวด

(2) นำ Inoculum ของเชื้อบริสุทธิ์ที่คัดเลือกจากข้อ 3) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ในข้อ (1)

(3) บ่มที่อุณหภูมิห้องโดยวางบนเครื่องเขย่า 200 rpm

(4) สังเกตการกำจัดสีและทำการตรวจวัดการกำจัดสี ที่เวลาต่างๆ กัน เทียบกับขวดที่ไม่ได้ใส่หัวเชื้อ (Inoculum)

(5) เมื่อมีการกำจัดสีให้ตรวจวัดสารอะโรมาติกอะมีน (อะนิลีน)

3.2.4 วิเคราะห์สารที่เกิดจากการย่อยสลายสี Reactive Red 2 (อะนิลีน)

1) จากกระบวนการเอสบีอาร์แอนแอโรบิก-แอโรบิก

เก็บตัวอย่างน้ำในแต่ละชั้นของระบบ เมื่อระบบอยู่ในสถานะคงตัว (Steady State) มาวิเคราะห์หาสารที่เกิดจากการแตกพันธะอะโซซึ่งก็คือสารอะนิลีน (Aniline) โดยนำน้ำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรอง 0.45 ไมครอน และวิเคราะห์ด้วยด้วยเครื่อง HPLC

HPLC Shimatzu LC-3A

Column μ Bondapak™ C18 (3.9 mm. X 30 cm)

Mobile 25% methanol

Flow Rate 1 ml./min

UV (LDC 4100X 238 nm.

2) จากการศึกษาความสามารถในการกำจัดสีของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกจากระบบ

เก็บตัวอย่างน้ำที่สีเริ่มจางลงจนกระทั่งสีหมดไปจากข้อ 3.2.3 มาวิเคราะห์โดยการกรองด้วยกระดาษกรอง 0.45 ไมครอนและวิเคราะห์ด้วย HPLC

3.3 ศึกษาความสามารถในการกำจัดสารอะนิลีนของเชื้อที่คัดเลือก

- 1) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวผสมสารอะนิลีนให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 20 มิลลิตร ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิตร จำนวน 2 ขวด
- 2) นำ Inoculum A ของเชื้อบริสุทธิ์จากข้อ 3.2.3 ปริมาตร 1.0 มิลลิตร มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ในข้อ 1)
- 3) บ่มที่อุณหภูมิห้องโดยวางบนเครื่องเขย่า 200 rpm
- 4) เก็บตัวอย่างที่เวลา 12 ชั่วโมง
- 5) กรองด้วยกระดาษกรอง 0.45 ไมครอนและนำไปวัดด้วยเครื่อง HPLC

3.4 การระบุแบคทีเรีย (Identification)

นำแบคทีเรียที่คัดเลือกมาหาสกุลโดยใช้วิธีดังนี้

3.4.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ตรวจสอบการติดสีแกรม ขนาด รูปร่าง การจัดเรียงตัวของเซลล์ โดยการย้อมสีแกรมและส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

3.4.2 การศึกษาความสามารถในการเคลื่อนที่

นำเชื้ออายุประมาณ 24 ชั่วโมง มา stab ลงในอาหาร motility test บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง

3.4.3 ทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

โดยทำการทดสอบคุณสมบัติต่อไปนี้

1) การทดสอบคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์ catalase

หยด 3 % H_2O_2 ลงบนแผ่นสไลด์ ที่สะอาดและแห้ง เชี่ยวเชื้อที่จะทดสอบอายุ 24 ชั่วโมงมา 2 ท่วงเชียวเชื้อ แต่ละบนหยดของ H_2O_2 ถ้าเกิดฟองแก๊สแสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก

2) การทดสอบคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์ oxidase

หยด 1% tetramethyl paraphenylene diamine hydrochloride ลงบนกระดาษกรองให้ซึมพอหมาด ใช้แท่งแก้วแตะเชื้อจาก nutrient agar slant อายุ 24 ชั่วโมง ลากบนกระดาษกรองดังกล่าวถ้ามีสีม่วงเข้มเกิดขึ้นตามรอยลากแสดงผลการทดสอบเป็นบวก คือสามารถสร้างเอนไซม์ oxidase

3) การทดสอบคุณสมบัติในการย่อยเจลาติน

เชียวเชื้อแบคทีเรียอายุ 24 ชั่วโมง ลงในอาหาร nutrient gelatin บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 7 วัน เชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อย gelatin ได้ จะทำให้อาหารไม่แข็งที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

4) การทดสอบความสามารถในการสร้างอินโดล

นำเชื้อแบคทีเรียที่จะทดสอบไปเลี้ยงใน tryptone brote บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง หยดน้ำยา kovac ลงไป 2-3 หยด เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ ถ้าเกิดชั้นสีแดงลอยอยู่ในชั้นแอลกอฮอล์ แสดงว่าแบคทีเรียชนิดนั้นสามารถสร้างสารอินโดลได้

5) การทดสอบ methy red และ acetoin (MR-VP)

เขียนเชื้อลงในอาหาร MR-VP medium บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน ทดสอบโดยหยด methy red solution ถ้าเกิดสีแดงแสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก ส่วนการทดสอบ acetoin หยด 10 % α -nathol ลงไป 1 มิลลิลิตรเขย่าแล้วเติม KOH 20 % ลงไป 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ ถ้ามีสีแดงเชอร์รี่เกิดขึ้นแสดงผลเป็นบวก

6) การทดสอบความสามารถในการผลิต H_2S สามารถใช้อาหาร ได้ 2 ชนิด

ถ่ายเชื้ออายุ 24 ชั่วโมง เอามาทดสอบโดย stab ลงในหลอดอาหาร TSI agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบผลทุกวันจนครบ 5 วัน โดยดูการเปลี่ยนสีของอาหาร ถ้าเกิดสีดำของเฟอร์รัสซัลไฟด์ตามรอยที่ stab แสดงผลการทดสอบเป็นบวก คือ แบคทีเรียสร้าง H_2S ได้

7) การทดสอบ oxidation-fermentation (O-F test)

นำเชื้อแบคทีเรียที่จะทดสอบอายุประมาณ 24 ชั่วโมง stab ลงในอาหาร Hugh and Leifson's O-F medium 2 หลอด หลอดหนึ่งทำให้อยู่ในสภาพขาดอากาศโดยเททับผิวหน้าอาหารด้วยพาราฟินเหลวที่ฆ่าเชื้อแล้ว ให้หนาประมาณ 2 เซนติเมตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง ส่วนอีกหลอดไม่ต้องเติมอะไร ตรวจสอบผลโดยดูว่าเกิดกรดในหลอดอาหาร ในภาพที่มีอากาศหรือไม่มีอากาศ หรือทั้งสองสภาพ ถ้าเกิดในหลอดที่เททับด้วยพาราฟินและไม่เทแสดงว่าเป็น fermentation แต่ถ้าเกิดเฉพาะในหลอดที่ไม่ได้เทพาราฟิน แสดงว่าเป็น oxidation การเกิดกรดแสดงให้ทราบโดยอาหารเปลี่ยนสีจากเขียวเป็นเหลือง

8) การทดสอบการรีดิวซ์ไนเตรท

เขียนเชื้อแบคทีเรียที่จะทดสอบในอาหาร nitrate broth บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง ทดสอบโดยหยด sulfanilic acid และ α naphthylamine ถ้าเกิดสีแดงปนตะกอนแสดงผลการทดสอบเป็นบวก ถ้าไม่เกิดสีแดงเติมผงสังกะสีลงไป ถ้าเกิดสีแดงขึ้นผลเป็นลบแต่ถ้าไม่เกิดสี เนื่องจากไนเตรทถูกรีดิวซ์ไนไตรท์ และแก๊สไนโตรเจนโดยแบคทีเรียแสดงว่าผลเป็นบวก

9) การทดสอบการเจริญใน Litmus milk

เขียนเชื้อแบคทีเรียอายุประมาณ 24 ชั่วโมงลงในอาหาร litmus milk ตรวจสอบผลการเปลี่ยนแปลงทุก 3 7 14 และ 21 วัน ถ้าสีของอาหารเปลี่ยนจากม่วงเป็นสีขาว แสดงว่าเกิดการรีดักชัน ถ้าเปลี่ยนเป็นสีชมพูแสดงว่าเชื้อสามารถสร้างกรด ถ้าเกิดการตกตะกอนและจับเป็นก้อนของโปรตีน

เนื่องจากกรด แสดงว่าเกิด acid curd และถ้าเชื้อสลายโปรตีนได้ อาหารจะใสแสดงว่าเกิดการ peptonization

10) การทดสอบการใช้ citrate เป็นแหล่งคาร์บอน

streak เชื้อแบคทีเรียลงบนอาหาร Simmons citrate agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหาร ถ้าเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน แสดงว่าเชื้อนั้นสามารถใช้ซิเตรตเป็นแหล่งคาร์บอน

สูตรอาหารและสารเคมีที่ใช้แสดงในการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีแสดงในภาคผนวก ข

3.5 การประเมินผลโดยใช้การทดสอบทางสถิติ

- ชั้นเปรียบเทียบประสิทธิภาพ

เปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดสีของกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก โดยใช้การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ ANOVA เพื่อเปรียบเทียบระหว่าง 3 ชุดการทดลอง ที่มีเวลากักแอนแอโรบิก+แอโรบิก+ตกตะกอน 3 ระดับดังนี้คือ

- (1) ศึกษาที่วัฏจักรการทำงาน 10+5+1 ชั่วโมง
- (2) ศึกษาที่วัฏจักรการทำงาน 18+5+1 ชั่วโมง
- (3) ศึกษาที่วัฏจักรการทำงาน 30+5+1 ชั่วโมง

เมื่อทราบว่ามียุทธ์ที่แตกต่างกันของทั้ง 3 ชุดการทดลอง ก็สามารถหาชุดการทดลองที่ให้ประสิทธิภาพการกำจัดสีต่างกันโดยทดสอบโดยวิธีของ DUNCAN

- หาความสัมพันธ์ของการวัดสีในหน่วย ADMI และ SU โดยใช้ Regresstion Analysis ในโปรแกรม SPSS

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การกำจัดสี Reactive Red 2 โดยกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก

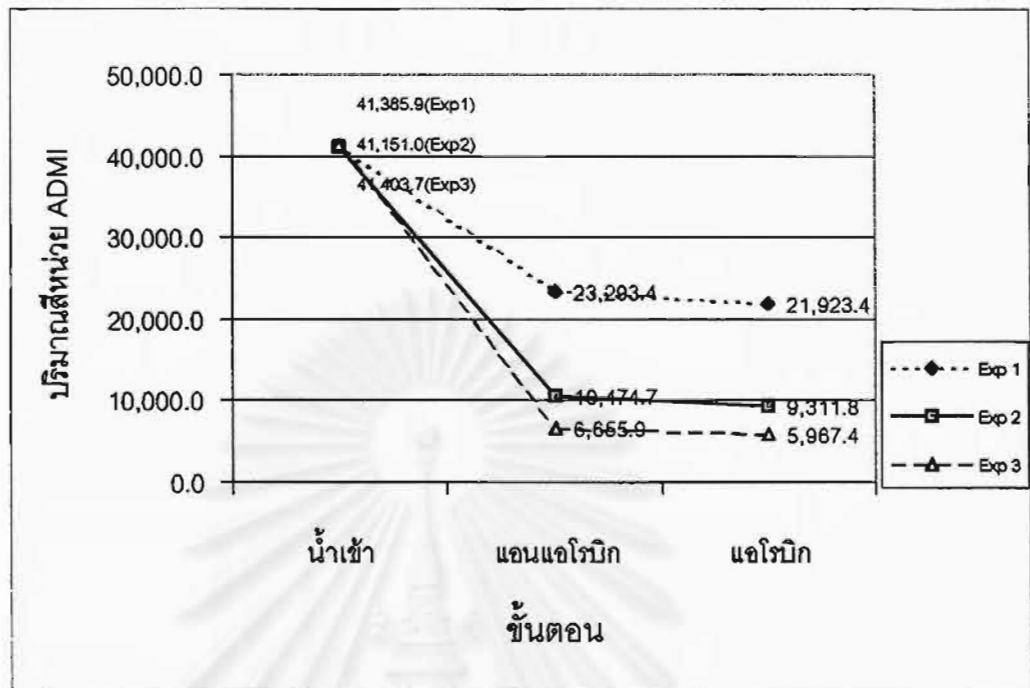
ผลการศึกษาการกำจัดสีย้อม Reactive Red 2 ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ในกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก ใน 3 ชุดการทดลองที่มีช่วงเวลาแอนแอโรบิกต่างกันในขณะที่มีช่วงแอโรบิก และช่วงเวลาการตกตะกอนเท่ากันคือ 5 และ 1 ชั่วโมงตามลำดับ โดยในชุดการทดลองที่ 1 มีช่วงเวลาแอนแอโรบิก 10 ชั่วโมง ส่วนในชุดการทดลองที่ 2 และ ชุดการทดลองที่ 3 มีช่วงเวลาแอนแอโรบิก 18 และ 30 ชั่วโมงตามลำดับ เพื่อพิจารณาว่าช่วงเวลาแอนแอโรบิกมีผลต่อความสามารถในการกำจัดสีหรือไม่ โดยจะทำการเก็บตัวอย่างเมื่อระบบเข้าสู่สภาวะคงตัว (Steady State) ในหนึ่งวัฏจักรจะทำการเก็บตัวอย่างในชั้นตอนแอนแอโรบิก, แอโรบิก และน้ำออกจากระบบ และเก็บตัวอย่างทั้งหมด 10 วัฏจักรในแต่ละชุดการทดลอง ผลการศึกษาแสดงดังต่อไปนี้

4.1.1 ผลการกำจัดสี Reactive Red 2 ในน้ำเสียสังเคราะห์โดยกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก

จะศึกษาความสามารถในการกำจัดสีย้อม Reactive Red 2 เมื่อผ่านกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก โดยใน 1 ตัวอย่างจะทำการวัดสีใน 2 หน่วย คือ หน่วย ADMI และ SU

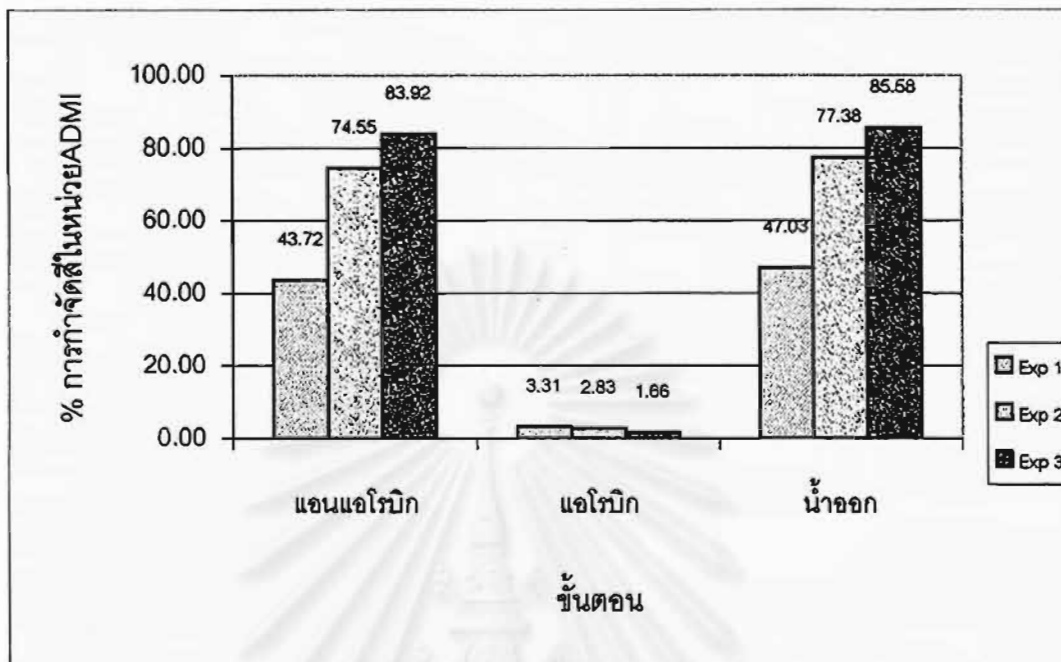
- การกำจัดสีเมื่อวัดสีในหน่วย ADMI

การทดลองของสี Reactive Red 2 เมื่อผ่านกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก โดยนำตัวอย่างทั้ง 10 ตัวอย่างของแต่ละชั้นตอนมาเฉลี่ยพบว่าใน ชุดการทดลองที่ 1 น้ำเสียมีสีเริ่มต้น 41,385.9 เมื่อผ่านชั้นแอนแอโรบิกปริมาณสีลดลงเหลือ 23,293.4 และเหลือปริมาณสี 21,923.4 เมื่อผ่านชั้นแอโรบิกในชุดการทดลองที่ 2 มีปริมาณสีเริ่มต้น 41,151.0 เมื่อผ่านชั้นแอนแอโรบิกมีปริมาณสี 10,474.7 และปริมาณสีลดลงเหลือ 9,311.8 และใน ชุดการทดลองที่ 3 ก็เช่นเดียวกันคือเมื่อผ่านชั้นแอนแอโรบิกมีปริมาณสี 6,655.9 และเมื่อผ่านชั้น แอโรบิกมีปริมาณสี 5,967.4 จากน้ำเสียเริ่มต้น 41,403.7 ดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ปริมาณสีหน่วย ADMU เมื่อผ่านขั้นตอนต่างๆ ในแต่ละชุดการทดลอง

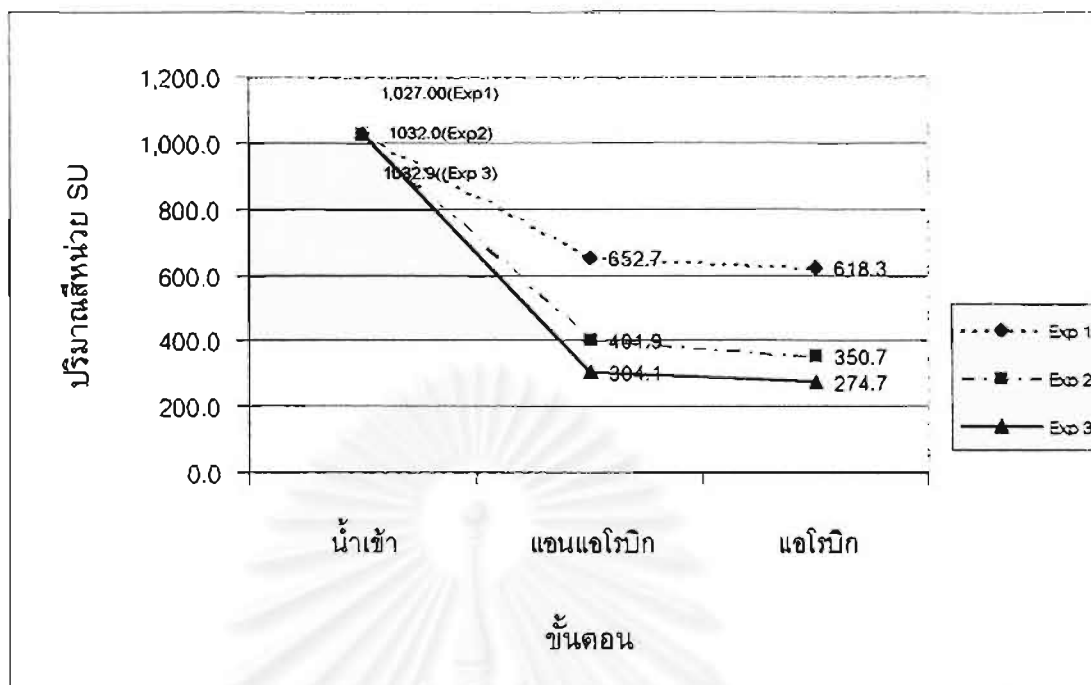
เมื่อนำการลดลงของสีมาคิดเป็นร้อยละของการกำจัดสีเฉลี่ยในแต่ละขั้นตอนพบว่า พบว่าในทุกชุดการทดลองจะเป็นไปในแนวทางเดียวกันคือการทำจัดสีส่วนมากจะเกิดขึ้นในขั้นตอนแอนแอโรบิก ส่วนในขั้นตอนแอโรบิกจะมีการกำจัดเพียงเล็กน้อยเท่านั้นดังนี้ชุดการทดลองที่ 1 (Exp1) มีการกำจัดสีขั้นแอนแอโรบิกและแอโรบิกเท่ากับร้อยละ 43.72 และ 3.31 ในชุดการทดลองที่ 2 (Exp2) มีการกำจัดสีขั้นแอนแอโรบิกและแอโรบิกเท่ากับร้อยละ 74.55 และ 2.83 ในชุดการทดลองที่ 3 มีการกำจัดสีขั้นแอนแอโรบิกและแอโรบิกเท่ากับร้อยละ 83.92 และ 1.66 ซึ่งจะเห็นว่าในขั้นแอนแอโรบิกของชุดการทดลองที่ 3 (Exp3) จะมีความสามารถในการกำจัดสีสูงสุด และเมื่อผ่านทั้งระบบก็เช่นเดียวกันคือชุดการทดลองที่ 3 มีการกำจัดสีสูงสุด รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 2 และ 1 มีความสามารถในการกำจัดสีร้อยละ 85.58, 77.38 , และ 47.03 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.2 จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ชุดการทดลองที่ 3, 24 และ 16 มีความสามารถในการกำจัดสี Reactive Red 2 ในหน่วยเอดีเอ็มไอแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (แสดงดังภาคผนวก ฉ-1)



รูปที่ 4.2 ร้อยละการกำจัดสีเจือปนในหน่วย ADMI ที่แต่ละชั้นของ ชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3

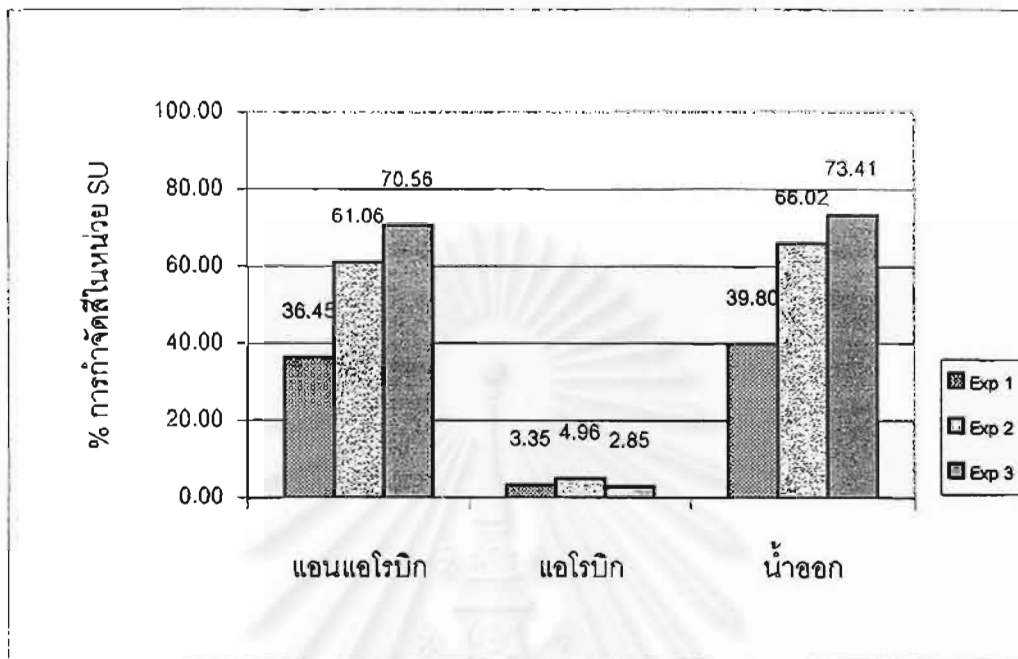
- การกำจัดสีเมื่อวัดสีในหน่วย SU

การทดลองของสี Reactive Red 2 เมื่อผ่านกระบวนการเอคปีอาร์แบบแอนไอออนิก-ไอออนิก โดยนำตัวอย่างทั้ง 10 ตัวอย่างของแต่ละชั้นตอนมาเจือปนว่าในชุดการทดลองที่ 1 น้ำเสียมีสีเริ่มต้น 1,027.0 เมื่อผ่านชั้นแอนไอออนิกปริมาณสีลดลงเหลือ 652.7 และเหลือปริมาณสี 618.3 เมื่อผ่านชั้นไอออนิก ในชุดการทดลองที่ 2 มีปริมาณสีเริ่มต้น 1,032.0 เมื่อผ่านชั้นแอนไอออนิกมีปริมาณสี 401.9 และปริมาณสีลดลงเหลือ 350.7 และในชุดการทดลองที่ 3 ก็เช่นเดียวกันคือเมื่อผ่านชั้นแอนไอออนิกมีปริมาณสี 304.1 และเมื่อผ่านชั้นไอออนิกมีปริมาณสี 274.7 จากน้ำเสียเริ่มต้น 1,023.6 ดังแสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ปริมาณสีหน่วย SU เมื่อผ่านขั้นตอนต่างๆ ในแต่ละชุดการทดลอง

เมื่อนำการทดลองของสีมาคิดเป็นร้อยละของการกำจัดสีเฉลี่ยในแต่ละขั้นตอนพบว่า พบว่าในทุกชุดการทดลองจะเป็นไปในแนวทางเดียวกันคือการกำจัดสีส่วนมากจะเกิดขึ้นในขั้นตอนแอนแอโรบิก ส่วนในขั้นตอนแอโรบิกจะมีประสิทธิภาพการกำจัดเพียงเล็กน้อยเท่านั้นดังนั้นชุดการทดลองที่ 1 มีการกำจัดสีขั้นแอนแอโรบิกและแอโรบิกเท่ากับร้อยละ 36.45 และ 3.35 ในชุดการทดลองที่ 2 มีการกำจัดสีขั้นแอนแอโรบิกและแอโรบิกเท่ากับ ร้อยละ 61.06 และ 4.96 ในชุดการทดลองที่ 3 มีการกำจัดสีขั้นแอนแอโรบิกและแอโรบิกเท่ากับร้อยละ 70.56 และ 2.85)ซึ่งจะเห็นว่าในขั้นแอนแอโรบิกของชุดการทดลองที่ 3 จะให้ค่าการกำจัดสีสูงสุด และเมื่อผ่านทั้งระบบก็เช่นเดียวกัน รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 2 และ 1 มีความสามารถในการกำจัดสีร้อยละ 73.41, 66.02 และ 39.80 ตามลำดับดังรูปที่ 4.4 จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ชุดการทดลองที่ 3, 2 และ 1 มีความสามารถในการกำจัดสี Reactive Red 2 ในหน่วยเอสยูแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (แสดงดังภาคผนวก ฉ-2)



รูปที่ 4.4 ร้อยละการกำจัดขยะในหน่วย SU ที่แต่ละชั้นของ ชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3

4.1.2 ความสัมพันธ์ของการวัดสีในหน่วย ADMI และ SU

เมื่อพิจารณาผลการทดลองที่ผ่านมาพบว่าปริมาณสีในหน่วย ADMI และ SU จะเป็นในแนวทางเดียวกันคือในตัวอย่างที่ปริมาณสีในหน่วย ADMI สูง ปริมาณสีในหน่วย SU ก็จะมีสูงด้วย ดังนั้นจึงได้ทำการทดสอบทางสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการวัดสีในหน่วย ADMI และ SU โดยใช้ Regression Analysis และ ANOVA ในโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ซึ่งจะหาความสัมพันธ์ในแต่ละชุดการทดลอง และ รวมทุกชุดการทดลอง ผลเป็นดังนี้

- ความสัมพันธ์ในชุดการทดลองที่ 1

เมื่อวิเคราะห์จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) พบว่าปฏิเสธสมมติฐานนั้นคือ ปริมาณสีในหน่วย ADMI ที่ได้มีผลต่อปริมาณสีในหน่วย SU จึงสามารถสรุปได้ว่า ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 สามารถนำสีในหน่วย ADMI มาพยากรณ์สีในหน่วย SU ได้จากสมการ

$$Y = (2.087 \times 10^{-2})X + 163.693 \quad ; X \text{ คือ สีนหน่วย ADMI}$$

โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) = 1.0 (ภาคผนวก ฉ-3)

- ความสัมพันธ์ในชุดการทดลองที่ 2

เมื่อวิเคราะห์จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) พบว่าปฏิเสธสมมติฐานนั้นคือ ปริมาณสีในหน่วย ADMI ที่ได้มีผลต่อปริมาณสีในหน่วย SU จึงสามารถสรุปได้ว่า ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 สามารถนำสีในหน่วย ADMI มาพยากรณ์สีในหน่วย SU ได้จากสมการ

$$Y = (2.1 \times 10^{-2})X + 168.282 \quad ; X \text{ คือ สีนหน่วย ADMI}$$

โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) = 0.999 (ภาคผนวก ฉ-4)

- ความสัมพันธ์ในชุดการทดลองที่ 3

เมื่อวิเคราะห์จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) พบว่าปฏิเสธสมมติฐานนั้นคือ ปริมาณสีในหน่วย ADMI ที่ได้มีผลต่อปริมาณสีในหน่วย SU จึงสามารถสรุปได้ว่า ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 สามารถนำสีในหน่วย ADMI มาพยากรณ์สีในหน่วย SU ได้จากสมการ

$$Y = (2.119 \times 10^{-2})X + 155.562 \quad ; X \text{ คือ สีนหน่วย ADMI}$$

โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) = 1.0 (ภาคผนวก ฉ-5)

- ความสัมพันธ์จากทุกชุดการทดลอง

นำตัวอย่างจากทุกชุดการทดลองมาวิเคราะห์ร่วมกัน เมื่อวิเคราะห์จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) พบว่าปฏิเสธสมมติฐานนั้นคือ ปริมาณสีในหน่วย ADMI ที่ได้มีผลต่อปริมาณสีในหน่วย SU จึงสามารถสรุปได้ว่า ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 สามารถนำสีในหน่วย ADMI มาพยากรณ์สีในหน่วย SU ได้จากสมการ

$$Y = (2.104 \times 10^{-2})X + 161.385 \quad ; X \text{ คือ สีนหน่วย ADMI}$$

โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) = 0.999 (ภาคผนวก ฉ-6)

จากผลการทดสอบทางสถิติชี้ให้เห็นว่าในการทดลองนี้ปริมาณสีหน่วย ADMI มีความสัมพันธ์กับสีหน่วย SU ดังนั้นในขั้นต่อไป จึงวิเคราะห์สีเฉพาะในหน่วย ADMI เท่านั้น

4.1.3 การกำจัดซีโอดีโดยกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก

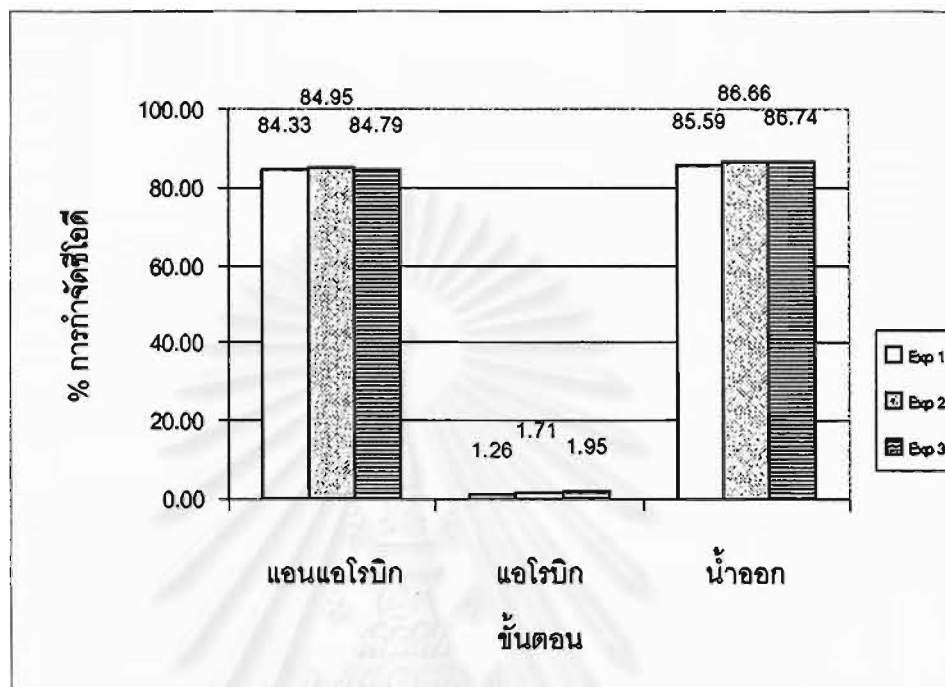
ผลจากการศึกษาการลดลงของซีโอดีในแต่ละชั้นโดยนำปริมาณซีโอดีแต่ละชั้นมาเจี่ยพบว่า ปริมาณซีโอดีที่ลดลงมีปริมาณใกล้เคียงกันดังนี้ ใน ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณซีโอดีเริ่มต้น 1,690.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อผ่านชั้นแอนแอโรบิกปริมาณซีโอดีลดลงเหลือ 265.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและเหลือ 243.8 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อผ่านชั้นแอโรบิก ชุดการทดลองที่ 2 ปริมาณซีโอดีเริ่มต้น 1,707.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อผ่านชั้นแอนแอโรบิกปริมาณซีโอดีลดลงเหลือ 256.9 มิลลิกรัมต่อลิตรและเหลือ 227.7 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อผ่านชั้นแอโรบิก ชุดการทดลองที่ 3 ปริมาณซีโอดีเริ่มต้น 1,691.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อผ่านชั้นแอนแอโรบิก ปริมาณซีโอดีลดลงเหลือ 257.2 มิลลิกรัมต่อลิตรและเหลือ 224.2 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อผ่านชั้นแอโรบิกแสดง ดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 ปริมาณซีโอดีเจี่ยในแต่ละชั้นตอนของแต่ละชุดการทดลอง

เมื่อเฉลี่ยร้อยละการกำจัดซีโอดีในแต่ละชั้นของแต่ละชุดการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่ 1 มีการกำจัดซีโอดีในชั้นแอนแอโรบิกและแอโรบิกเท่ากับ ร้อยละ 84.33 และ ร้อยละ 1.26 ตามลำดับ ชุดการทดลองที่ 2 มีการกำจัดซีโอดีในชั้นแอนแอโรบิกและแอโรบิกเท่ากับ ร้อยละ 84.95 และ ร้อยละ 1.71 ตามลำดับ

และในชุดการทดลองที่ 3 มีการกำจัดซีโอดีในชั้นแอนแอโรบิกและแอโรบิกเท่ากับ ร้อยละ 84.79 และ ร้อยละ 1.95 ตามลำดับ โดยการกำจัดซีโอดีจะเกิดขึ้นในชั้นแอนแอโรบิกเป็นส่วนใหญ่ดังรูปที่ 4.6



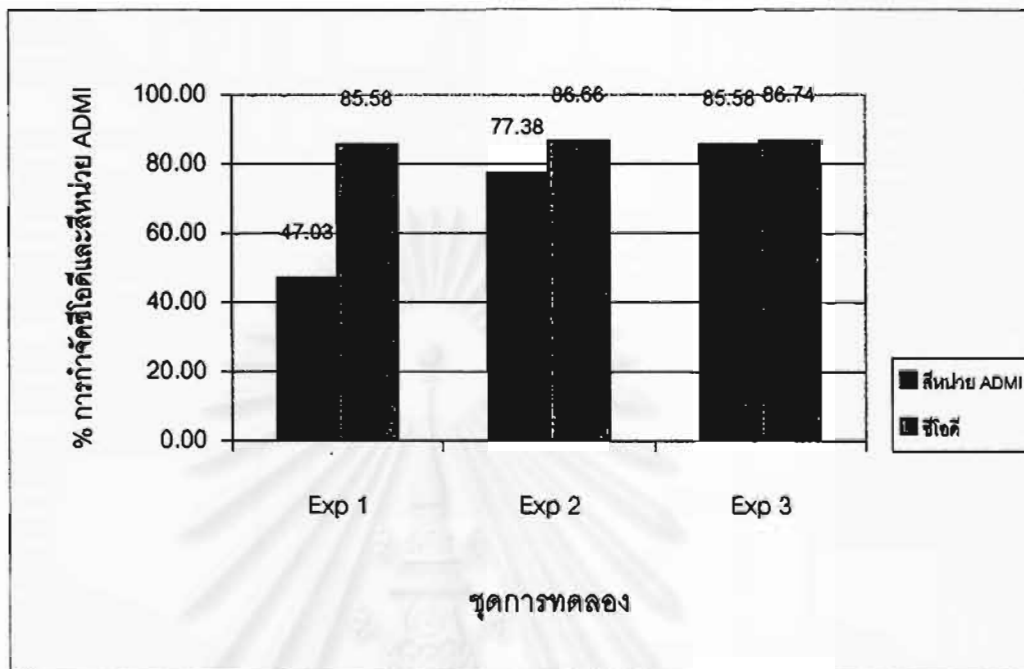
รูปที่ 4.6 ร้อยละการกำจัดซีโอดีเฉลี่ยในแต่ละขั้นตอนของแต่ละชุดการทดลอง

จะเห็นได้ว่าความสามารถในการกำจัดซีโอดีของแต่ละชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าถ้าต้องการกำจัดซีโอดีเพียงอย่างเดียว ชุดการทดลองที่เหมาะสมคือ ชุดการทดลองที่ 1 เนื่องจากมีความสามารถในการกำจัดไม่แตกต่างจาก ชุดการทดลองที่ 3 และ 2 แต่ใช้เวลาน้อยกว่า คือ ใช้เวลา 16 ชั่วโมงต่อหนึ่งวัฏจักร ในขณะที่ ชุดการทดลองที่ 3 และ 2 ต้องใช้เวลาถึง 36 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ

4.1.4 เปรียบเทียบการกำจัดสีในหน่วย ADMI และซีโอดี

ผลการศึกษาการกำจัดสีในหน่วย ADMI และการกำจัดซีโอดี โดยกระบวนการเฮลปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกพบว่าในชุดการทดลองที่ 1 การกำจัดสีในหน่วย ADMI และการกำจัดซีโอดี มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 43.72 และ 85.58 ส่วนชุดการทดลองที่ 2 การกำจัดสีและซีโอดีใกล้เคียงกันคือร้อยละ 74.55 และ

86.66 ตามลำดับ แต่การกำจัดสีใน ชุดการทดลองที่ 3 จะสูงกว่าการกำจัดสีที่ได้นี้คือร้อยละ 83.92 และ 86.74 ตามลำดับ รูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 เปรียบเทียบการกำจัดสีและขุ่นของแต่ละชุดการทดลอง

ซึ่งจะเห็นได้ว่าการกำจัดสีไม่ได้ขึ้นอยู่กับการกำจัดสีคือถึงแม้ว่าในชุดการทดลองที่ 1 จะมีความสามารถในการกำจัดสีต่ำแต่การกำจัดสีไม่ได้แตกต่างจากชุดการทดลองที่ 2 และ 3 นอกจากนี้ยังชี้ให้เห็นว่าปริมาณสีในน้ำเสียส่วนใหญ่ไม่ได้เกิดจากสี เพราะถ้าหากปริมาณสีมีผลอย่างมากต่อการเพิ่มปริมาณสีในน้ำเสียแล้ว ในชุดการทดลองที่ 3 ปริมาณสีก็จะต้องลดลงอย่างมากเช่นเดียวกับการลดลงของสี

4.1.5 ผลการวิเคราะห์สารประกอบอะโรมาติกอะมีนที่เกิดจากการกำจัดสีโดยกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก

ผลการศึกษาว่าหลังจากที่มีการกำจัดสีอะโซที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกแล้วจะมีสารอะโรมาติกอะมีนซึ่งเป็นอันตรายเกิดขึ้นหรือไม่ในการทดลองนี้ใช้สี Reactive Red 2 จากสูตรโครงสร้างของสีดังกล่าวเมื่อแตกพันธะอะโซจะเกิดสาร

อะนิลีน (aniline) ซึ่งเป็นสารประกอบอะโรมาติกอะมีนชนิดหนึ่งขึ้นมา ซึ่งสารนี้สามารถตรวจวัดโดยใช้เครื่อง HPLC แล้วหาปริมาณได้โดยการเทียบกับกราฟสารอะนิลีนมาตรฐาน (ภาคผนวก ก)

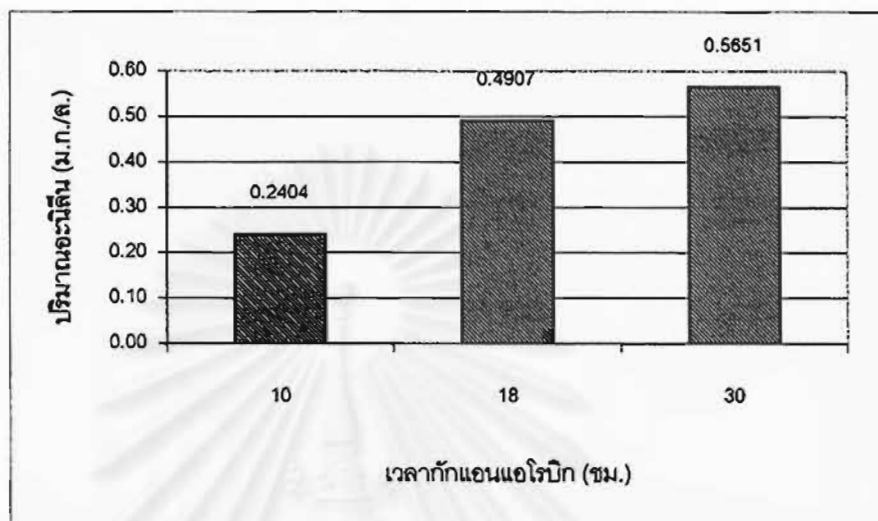
โดยทำการเก็บตัวอย่างจากชั้นตอนน้ำเข้าระบบ, ชั้นตอนแอนแอโรบิก และชั้นแอโรบิกใน 5 วัฏจักร ผลการศึกษาเป็นดังนี้คือ ในทั้ง 3 ชุดการทดลองตรวจวัดไม่พบสารอะนิลีนในน้ำเข้าระบบ แต่เมื่อน้ำผ่านชั้นแอนแอโรบิก พบว่ามีอะนิลีน เกิดขึ้นในชั้นนี้ทั้ง 5 วัฏจักร แต่ปริมาณอะนิลีนที่ตรวจวัดได้จะมีความแปรปรวน โดยจากการเก็บตัวอย่าง 5 วัฏจักรในแต่ละชุดการทดลองพบว่า มี 3 วัฏจักรของชุดการทดลองที่ 3 ที่มีปริมาณอะนิลีนมากที่สุด รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 2 และชุดการทดลองที่ 1 ดังนี้ วัฏจักรที่ 1 มีปริมาณอะนิลีน เท่ากับ 1.0499, 0.5087 และ 0.3110 มก./ล.ตามลำดับ วัฏจักรที่ 2 มีปริมาณอะนิลีนเท่ากับ 0.0779, 0.0745 และ 0.0651 มก./ล.ตามลำดับ วัฏจักรที่ 5 มีปริมาณอะนิลีนในชุดการทดลองที่ 3 และชุดการทดลองที่ 2 เท่ากับ 1.5613 และ 0.5155 มก./ล. ตามลำดับ (ชุดการทดลองที่ 1 ไม่ได้ทำการวิเคราะห์ในวัฏจักรที่ 5) ส่วนในวัฏจักรที่ 3 และ 4 ปริมาณอะนิลีนในชุดการทดลองที่ 3 มีน้อยกว่าชุดการทดลองที่ 2 และ 1 ดังนี้คือ ในวัฏจักรที่ 3 มีปริมาณอะนิลีน 0.0495, 0.2911 และ 0.4613 มก./ล. ตามลำดับ ส่วนในวัฏจักรที่ 4 มีปริมาณอะนิลีน 0.0871, 1.0639 และ 0.1243 มก./ล. ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณอะนิลีนในแต่ละชั้นของแต่ละชุดการทดลอง

cycle	ปริมาณ Aniline (ppm)								
	ชุดการทดลองที่ 1			ชุดการทดลองที่ 2			run36		
	Influence	anaer	aer	Influence	anaer	aer	Influence	anaer	aer
1	ND	0.3111	ND	ND	0.5087	ND	ND	1.0499	ND
2	ND	0.0651	ND	ND	0.0745	ND	ND	0.0779	ND
3	ND	0.4613	ND	ND	0.2911	ND	ND	0.0495	ND
4	ND	0.1243	ND	ND	1.0639	ND	ND	0.0879	ND
5	-	-	-	ND	0.5155	ND	ND	1.5613	ND
6	-	-	-	ND	0.1343	ND	-	-	-

ND = Non detectable

เฉลี่ยทั้ง 5 ครั้งที่ทำการทดลองในแต่ละชุดการทดลองพบว่า ในชุดการทดลองที่ 3 จะมีปริมาณอะนินสูงสุดคือ 0.5651 มก./ล. รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 2 และ 1 ซึ่งมีปริมาณอะนิน 0.4907 และ 0.2404 มก./ล. ตามลำดับดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 ปริมาณอะนินเฉลี่ยในชั้นแวนแอรอริกในแต่ละชุดการทดลอง

การศึกษาในส่วนนี้ทำให้สามารถสรุปได้ว่ากระบวนการเอสบีอาร์แบบแวนแอรอริก-แอรอริกสามารถกำจัดสีและซีโอดีได้และจะเกิดขึ้นในชั้นตอนแวนแอรอริกเป็นส่วนใหญ่ โดยความสามารถในการกำจัดสีจะขึ้นอยู่กับระยะเวลาแวนแอรอริก คือถ้าระยะเวลาแวนแอรอริกนานความสามารถในการกำจัดสีจะสูงตามไปด้วย ส่วนความสามารถในการกำจัดซีโอดีนั้นพบว่าระยะเวลาแวนแอรอริก 10 ชั่วโมง ก็สามารถกำจัดได้ดี ส่วนการเกิดอะนินนั้นจะสัมพันธ์กับความสามารถในการกำจัดสี Reactive Red 2 คือในชุดการทดลองที่มีระยะเวลาแวนแอรอริกนานที่สุดจะสามารถกำจัดสีได้ดีที่สุดและในขณะเดียวกันก็เกิดอะนินสูงสุดด้วยเช่นกัน แต่ปริมาณอะนินที่เกิดขึ้นจะหมดไปเมื่อผ่านชั้นแอรอริก

จากความสามารถในการกำจัดสี Reactive Red 2 ของกระบวนการเอสบีอาร์แบบแวนแอรอริก-แอรอริก ทำให้เป็นที่น่าสนใจว่ากระบวนการดังกล่าวกำจัดสีได้อย่างไร และเนื่องจากกระบวนการนี้เป็นการบำบัดแบบชีวภาพ ดังนั้นการกำจัดสี Reactive Red 2 จึงน่าจะเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระบบ จึงได้ทำการคัดแยกจุลินทรีย์จากระบบเพื่อศึกษาความสามารถในการกำจัดสี Reactive Red 2 ซึ่งจะกล่าวในหัวข้อต่อไป

4.2 การกำจัดสี Reactive Red 2 โดยจุลินทรีย์ที่คัดจากกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก

เนื่องจากที่ผ่านมาเราได้ทราบแล้วว่ากระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกสามารถกำจัดสี Reactive Red 2 ได้ ดังนั้นในกระบวนการดังกล่าวจึงน่าจะมีกลุ่มจุลินทรีย์ที่เป็นตัวกำจัดสีเจริญอยู่ ซึ่งถ้าทราบว่าจุลินทรีย์ดังกล่าวเป็นจุลินทรีย์กลุ่มใด ก็จะทำให้สามารถพัฒนาระบบให้มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีสูงขึ้น ดังนั้นจึงได้ทำการคัดเลือกเพื่อหาจุลินทรีย์ที่มีความสามารถกำจัดสี Reactive Red 2 ได้ดี ผลการศึกษาเป็นดังนี้

4.2.1 การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถกำจัดสี Reactive Red 2

ผลจากการคัดเลือกเชื้อจากน้ำเสียในกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก ในชั้นแอนแอโรบิก และแอโรบิก จากทั้ง 3 ชุดการทดลอง โดยวิธีการ pour plate และ streak plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสี Reactive Red 2 จากนั้นบ่มในสภาวะแอนแอโรบิกและแอโรบิก เลือกโคโลนีเดี่ยวและขีดลากเชื้อจนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์ทั้งหมด 37 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 4.2

จากศึกษาลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของทั้ง 37 สายพันธุ์ทำให้สามารถจัดกลุ่มแบคทีเรียที่มีลักษณะคล้ายกันได้เป็น 6 กลุ่ม โดยทุกสายพันธุ์ติดสีแกรมลบ ลักษณะเซลล์เป็นแท่ง ลักษณะของแบคทีเรียแต่ละกลุ่มแสดงดังตารางที่ 4.3 เมื่อนำแบคทีเรียเหล่านี้ไปทดสอบความสามารถในการกำจัดสีขั้นต้นโดยกระทำในอาหารแข็งผสมสี Reactive Red 2 ที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ในหลอดทดลองและควบคุมให้อยู่ในสภาวะแอนแอโรบิกเนื่องจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสีจะถูกกำจัดได้ดีในสภาวะแอนแอโรบิก พบว่าส่วนใหญ่สามารถทำให้ความเข้มข้นสีลดลงได้ภายในระยะเวลา 3-7 วัน ยกเว้นจุลินทรีย์ในกลุ่ม 1 ซึ่งเมื่อบ่มเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วันสีก็ยังไม่ลดลง

จึงได้ทำการคัดเลือกตัวแทนแต่ละกลุ่มยกเว้นกลุ่ม 1 เพื่อนำไปศึกษาการกำจัดสีต่อไปโดยแบคทีเรียที่คัดเลือกคือ ANAN16-2, ANAN16-4, AAN16-1, AA16-2, AA16-3, ANAN36-3 และ AA36-7

การศึกษากำจัดสีจะทำการทดสอบในอาหารแข็งและอาหารเหลว ผลการทดสอบเป็นดังต่อไปนี้

ตารางที่ 4.2 แสดงจุดสินทรัพย์ที่คัดแยกจากกระบวนการแอนแอโรบิก-แอโรบิกใน 3 ชุดการทดลอง

สภาวะ	RUN16		RUN24		RUN36	
	แอนแอโรบิก	แอโรบิก	แอนแอโรบิก	แอโรบิก	แอนแอโรบิก	แอโรบิก
แอนแอโรบิก	ANAN16-1	AAN16-1	ANAN24-1	AAN24-1	ANAN36-1	AAN36-1
	ANAN16-2	AAN16-2	ANAN24-2		ANAN36-2	AAN36-2
	ANAN16-3	AAN16-3	ANAN24-3		ANAN36-3	
	ANAN16-4	AAN16-4			ANAN36-4	
		AAN16-5				
แอโรบิก		AA16-1	ANA24-1	AA24-1	ANA36-1	AA36-1
		AA16-2			ANA36-2	AA36-2
		AA16-3				AA36-3
						AA36-4
						AA36-5
						AA36-6
						AA36-7
						AA36-8
						AA36-9
						AA36-10
						AA36-11

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงลักษณะเชื้อบริสุทธิ์จากกระบวนการแอนแอโรบิก-แอโรบิก

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี							
	ความหนืด	เส้นผ่านศูนย์กลาง (มม.)	ลักษณะรูปร่าง	ขอบ	ผิวหน้า	สี	ทึบแสง/โปร่งแสง	ระดับนูน
กลุ่มที่ 1 - ANAN24-1 - ANAN24-2 - ANAN24-3 - AA36-9	ร่วน	1.3	กลม	ไม่เรียบ	ขรุขระ	ขาวขุ่น	โปร่งแสง	ปานกลาง
กลุ่มที่ 2 - AAN36-1 - AA36-2 - AA36-7 - AA36-8	หนืด	3.1	กลม	เรียบ	เรียบ	ขาวขุ่น	โปร่งแสง	น้อย
กลุ่มที่ 3 - ANAN16-3 - ANAN16-4 - AAN16-1 - AAN16-2 - AA36-10	หนืด	1.2	กลม	เรียบ	เรียบ	ขาวขุ่น	โปร่งแสง	น้อย

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี							
	ความหนืด	เส้นผ่านศูนย์กลาง	ลักษณะรูปร่าง	ขอบ	ผิวหน้า	สี	ทึบแสง/โปร่งแสง	ระดับนูน
กลุ่มที่ 4 - ANAN16-2 - AA16-3 - AA24-1 - AAN36-1	หนืด	1.2	กลม	เรียบ	เรียบ	ขาวขุ่น	โปร่งแสง	น้อย
กลุ่มที่ 5 - ANAN16-1 - AA16-1 - AA16-2 - ANA24-1 - AAN24-1 - AA36-1 - AA36-3	หนืด	1.6	กลม	เรียบ	เรียบ	ขาวขุ่น	โปร่งแสง	มาก

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนี							
	ความหนืด	เส้นผ่านศูนย์กลาง	ลักษณะรูปร่าง	ขอบ	ผิวหน้า	สี	ทึบแสง/โปร่งแสง	ระดับนูน
กลุ่มที่ 6 - ANAN36-1 - ANAN36-2 ANAN36-3 ANAN36-4 AA36-4 AA36-5	หนืด	2.6	กลม	เรียบ	เรียบ	ขาวขุ่น	โปร่งแสง (เรืองแสง)	น้อย

4.2.2 การกำจัดสี Reactive Red 2 ในอาหารแข็ง

การทดสอบในอาหารแข็งนี้จะกระทำในทั้ง 2 สภาวะคือ สภาวะแอนแอโรบิกและแอโรบิก ทั้งนี้เพื่อดูว่าแบคทีเรียที่คัดเลือกมานั้นจะกำจัดสีได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะใด ผลการทดลองเป็นดังนี้

1) ทดสอบในสภาวะแอนแอโรบิก

ทำการทดสอบโดยการนำแบคทีเรียที่คัดเลือกแล้วมาเตรียมเป็น Inoculum A ซึ่งเตรียมโดยการนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ต้องการทดสอบ 1-2 โคโลนีมาใส่ในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งมีค่า Optical Density (OD) ประมาณ 0.2 จากนั้นผสมลงในอาหารแข็งในอัตราส่วน 5 %V/V) โดยมีความเข้มข้นสุดท้ายของ สี Reactive Red 2 เท่ากับ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร และบ่มในสภาวะแอนแอโรบิก สังเกตการลดลงของสีโดยให้ค่าการลดสี 4 ระดับดังนี้

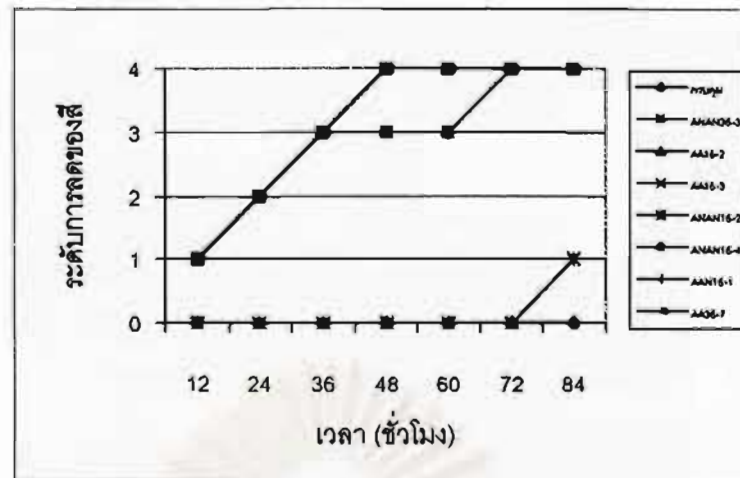
ระดับ 1 คือ ลดสีไปประมาณ 25 %

ระดับ 2 คือ ลดสีไปประมาณ 50 %

ระดับ 3 คือลดสีไปประมาณ 75 % และ

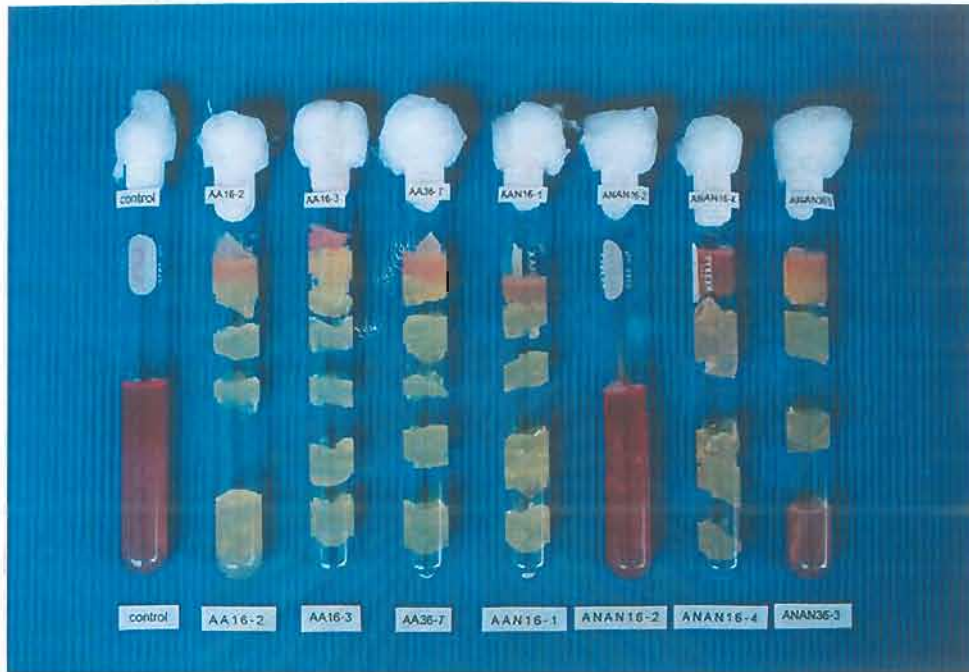
ระดับ 4 คือลดสีไปประมาณ 100 % (สีหมดไป)

ผลการทดลองพบว่าในหลอดที่ได้ผสมเชื้อรหัส ANAN16-4, AA16-2, AA16-3 และ AA36-7 ลงไป จะเริ่มสังเกตเห็นสีจางลงเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง และความเข้มสีจะลดลงจนกระทั่งสีหมดไป 100%(ระดับ 4) เมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนเชื้อรหัส ANAN 36-3 และ AAN 16-1 ก็จะมีเริ่มสังเกตเห็นสีจางลงเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมงเช่นกัน และสามารถกำจัดสีได้ 100 % เมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ส่วนเชื้อรหัส ANAN 16-2 สีจะเริ่มลดลงเล็กน้อยเมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 84 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าในทุกเชื้อจะมีก๊าซเกิดขึ้นซึ่งสังเกตได้จากการแตกของวุ้น ดังแสดงรูปที่ 4.9

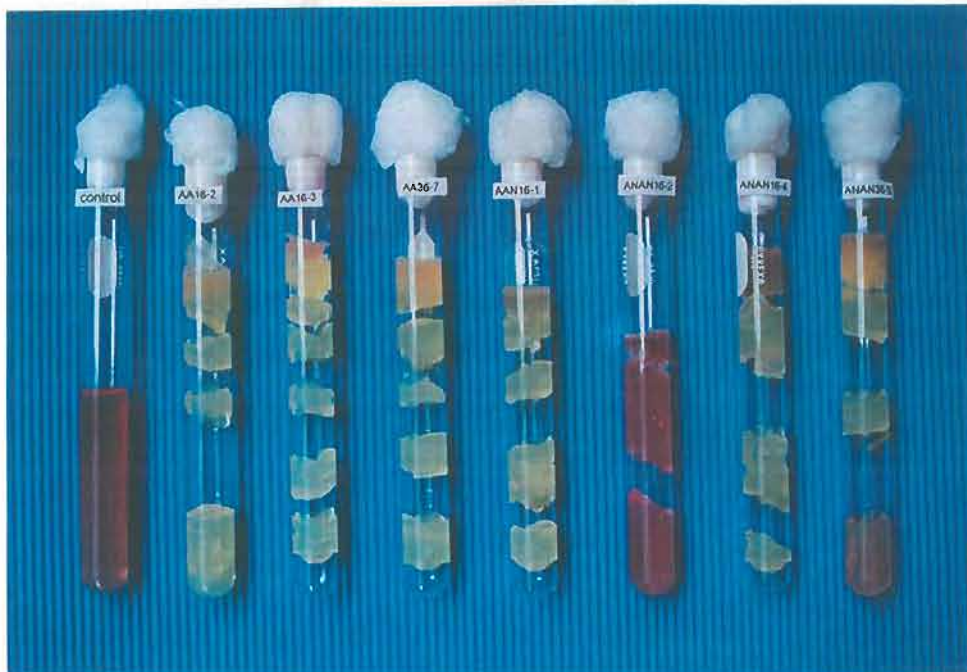


รูปที่ 4.9 กราฟแสดงระดับการลดลงของสีในสภาวะแอนแอโรบิกเมื่อเตรียมหัวเชื้อแบบ A

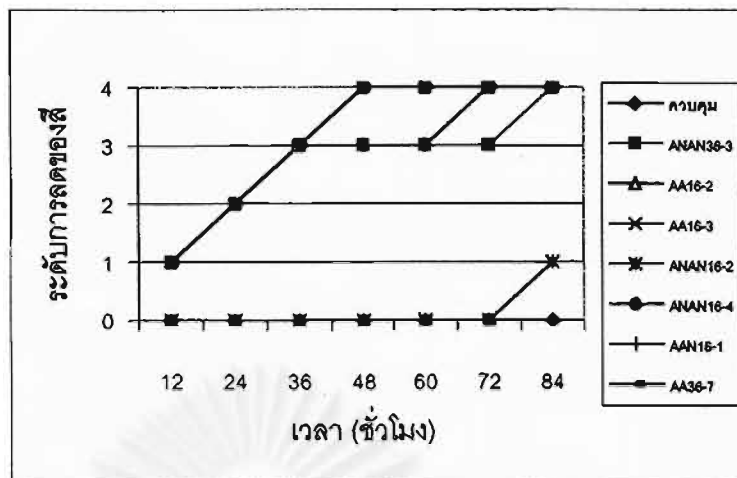
เนื่องจากการเตรียมหัวเชื้อ A เตรียมจากอาหารที่ไม่ได้ผสมสี ซึ่งอาจทำให้แบคทีเรียไม่ชินต่อสภาพดังกล่าว ดังนั้นจึงได้เตรียมหัวเชื้อแบบ B เพื่อศึกษาว่าจะมีความสามารถในการกำจัดสีสูงขึ้นหรือไม่ โดยการนำเชื้อที่ต้องการทดสอบ 1-2 โคโลนีมาใส่ในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสี ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตรเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งมีค่า Optical Density (OD) ประมาณ 0.2 ผสมในอาหารแข็งในอัตราส่วน 6 % (V/V) ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของสี Reactive Red 2 เท่ากับ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร และบ่มในสภาวะแอนแอโรบิก พบว่าในหลอดที่ได้ผสมเชื้อรหัส ANAN16-4, AAN16-1, AA16-2, AA16-3 และ AA36-7 ลงไป จะเริ่มสังเกตเห็นสีจางลงเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง และความเข้มสีจะลดลงเรื่อยๆจนกระทั่งสีหมดไป 100% เมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนเชื้อรหัส ANAN 36-3 ก็เริ่มสังเกตเห็นสีจางลงเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมงเช่นกัน แต่จะสามารถกำจัดสีได้ 100 % เมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 96 ชั่วโมง ส่วนเชื้อรหัส ANAN 16-2 สีจะเริ่มลดลงเล็กน้อยเมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 84 ชั่วโมง ดังรูปที่ 4.10, 4.11 และ 4.12 นอกจากนี้ยังพบว่าในทุกเชื้อจะมีก๊าซเกิดขึ้นซึ่งสังเกตได้จากการแตกของวุ้น



รูปที่ 4.10 แสดงการกำจัดสีในสภาวะแอนแอโรบิกที่เวลา 48 ชั่วโมงของแต่ละรหัสเชื้อเมื่อเตรียมหัวเชื้อแบบ B



รูปที่ 4.11 แสดงการกำจัดสีในสภาวะแอนแอโรบิกที่เวลา 84 ชั่วโมงของแต่ละรหัสเชื้อเมื่อเตรียมหัวเชื้อแบบ B



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงระดับการลดลงของสีในสภาวะแอนแอโรบิกเมื่อเตรียมหัวเชื้อแบบ B

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดเชื้อใช้หัวเชื้อ A และ หัวเชื้อ B พบว่าการเตรียมหัวเชื้อทั้ง 2 แบบไม่ทำให้ความสามารถในการกำจัดสีต่างกัน ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อไปจึงได้ทำการศึกษาโดยใช้หัวเชื้อที่เตรียมแบบ A เท่านั้น

2) ทดสอบในสภาวะแอนโรบิก

จากการทดสอบโดยการนำแบคทีเรียที่คัดเลือกแล้วมาเตรียมเป็น Inoculum A ที่มีค่า Optical Density (O.D.) ประมาณ 0.2 ผสมในอาหารแข็งที่มีความเข้มข้นของ สี Reactive Red 2 เท่ากับ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร (พีพีเอ็ม) ในอัตราส่วน 5 %(V/V) และบ่มเชื้อในสภาวะแอนโรบิก พบว่าสีของอาหารเลี้ยงเชื้อยังคงเหมือนเดิมเมื่อเทียบกับสีในอาหารที่ไม่ได้มีการใส่เชื้อลงไปนั้นแสดงว่าไม่มีการกำจัดสี Reactive Red 2 เกิดขึ้น ถึงแม้ว่าจะบ่มเชื้อเป็นเวลาถึง 120 ชั่วโมงก็ตาม

จากผลการทดสอบในอาหารแข็งแสดงให้เห็นว่าการกำจัดสี Reactive Red 2 จะเกิดขึ้นในกระบวนการแอนแอโรบิก เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลองจึงได้ทำการทดสอบในอาหารเหลวต่อไป

4.2.3 การกำจัดสี Reactive Red 2 ในอาหารเหลว

1) สภาวะแอนแอโรบิก

จากการทดสอบโดยการนำแบคทีเรียที่คัดเลือกแล้วมาเตรียมเป็น Inoculum A ที่มีค่า Optical Density (O.D.) ประมาณ 0.2 ผสมในอาหารเหลวในอัตราส่วน 5 %(V/V) ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของ

สี Reactive Red 2 เท่ากับ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร (พีพีเอ็ม) และบ่มเชื้อในสภาวะแอนแอโรบิก ผลการวัดสีในหน่วยเอดีเอ็มไอเป็นดังนี้

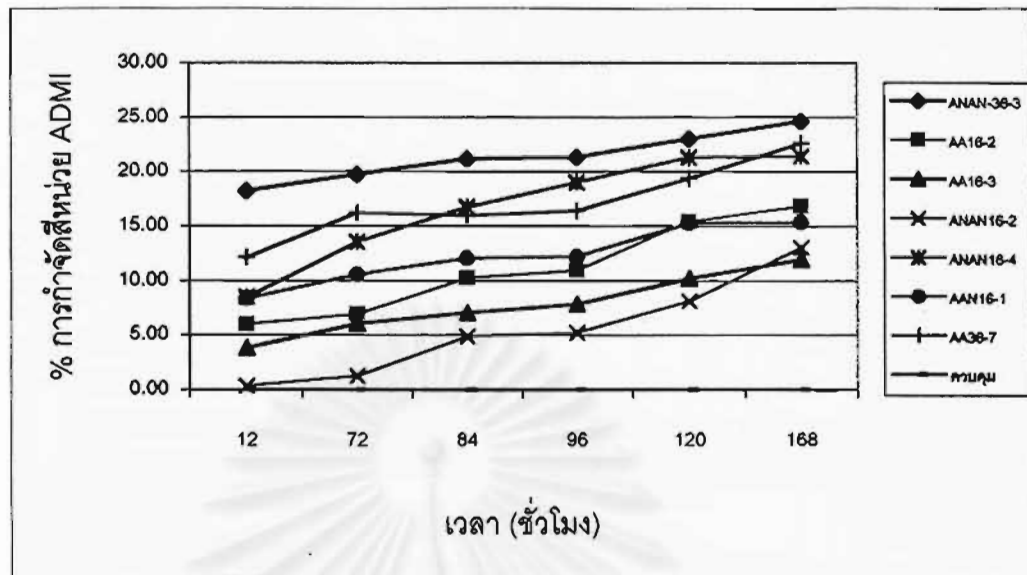
- การกำจัดสี Reactive Red 2 ในหน่วย ADMI

ผลการกำจัดสี Reactive Red 2 ในสภาวะแอนแอโรบิกของเชื้อทั้ง 7 ชนิด เมื่อวัดในหน่วยเอดีเอ็มไอ พบว่าเชื้อที่คัดเลือกทั้ง 7 ตัว สามารถกำจัดสีได้ดังแสดงในตารางที่ 4.4 เมื่อคิดการกำจัดสีในรูปร้อยละ พบว่าเมื่อให้ระยะเวลากำจัดสี 12 ชั่วโมง เชื้อรหัส ANAN36-3 และ AA36-7 จะมีการกำจัดสี Reactive Red 2 สูงกว่าเชื้ออื่นๆ คือ มีการกำจัดสีเท่ากับร้อยละ 18.25 และ 12.5 ตามลำดับ และเมื่อให้ระยะเวลากำจัดต่อไปจนครบ 168 ชั่วโมง พบว่าเชื้อทั้งสองมีการกำจัดเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 24.63 และ 22.63 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.13 ซึ่งร้อยละการกำจัดดังกล่าวจัดว่าน้อยมากทั้งที่เมื่อสังเกตการลดสีในหลอดทดลองพบว่าสีแดงของสี Reactive Red 2 จะเปลี่ยนไปเป็นสีเหลืองอ่อนซึ่งเป็นสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสีในหน่วยเอดีเอ็มไอในอาหารเหลวที่สภาวะแอนแอโรบิกของเชื้อที่คัดเลือก

รหัสเชื้อ	ปริมาณสีในหน่วยเอดีเอ็มไอเมื่อเวลา (ชั่วโมง)						
	เริ่มต้น	12	72	84	96	120	168
ANAN-36-3	1365.152	1115.964	1095.352	1075.869	1073.458	1050.978	1028.902
AA16-2	1249.071	1174.142	1162.56	1120.64	1112.32	1056.256	1038.527
AA16-3	1198.024	1152.231	1125.403	1113.253	1103.852	1075.326	1054.694
ANAN16-2	1213.766	1209.41	1198.024	1153.786	1149.853	1114.888	1054.783
ANAN16-4	1365.212	1249.071	1179.639	1136.164	1105.231	1074.216	1072.353
AAN16-1	1365.056	1250.703	1220.543	1200.176	1198.024	1156.083	1154.824
AA36-7	1365.123	1199.324	1143.849	1146.648	1140.944	1100.389	1056.248
ควบคุม	1365.412	1365.411	1365.412	1365.41	1365.405	1365.409	1365.403

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



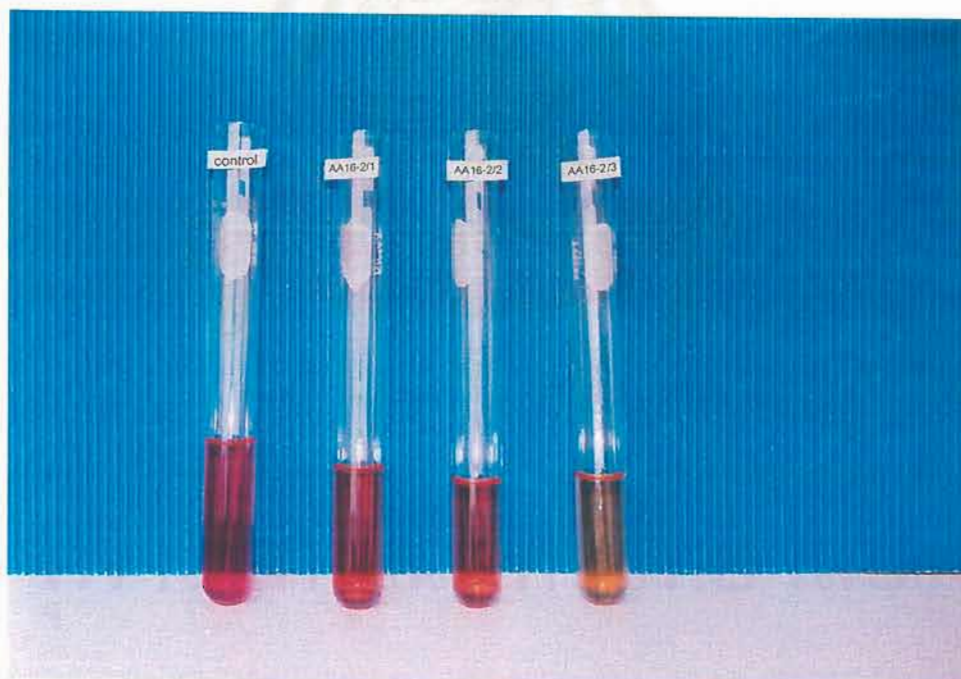
รูปที่ 4.13 แสดงร้อยละการกำจัดสีหน่วยเอดีเอ็มไอที่สภาวะแอนแอโรบิกของแต่ละเชื้อที่คัดเลือก

จากความสามารถในการกำจัดสีในหน่วยเอดีเอ็มไอจะพบว่าร้อยละการกำจัดมีค่าน้อย คือไม่ถึงร้อยละ 50 ทั้งที่เมื่อสังเกตสีจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสี Reactive Red 2 พบว่าเมื่อบ่มเชื้อบางตัวเป็นเวลา 168 ชั่วโมง สีของอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสี Reactive Red 2 ซึ่งมีสีแดงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อนของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผสมสี ดังรูปที่ 4.14-4.19

ซึ่งเหตุที่ร้อยละการกำจัดสีมีค่าต่ำอาจเป็นเพราะว่าการวัดสีในหน่วยเอดีเอ็มไอนั้นจะคำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของทุกสีในช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร ซึ่งสีเหลืองอ่อนของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงดังกล่าวและถูกนำมาคิดด้วยด้วยเนื่อง ในการทดลองนี้เราสนใจที่การกำจัดสี Reactive Red 2 ดังนั้นการวัดความสามารถในการกำจัดสีดังกล่าวจึงได้ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ max) ของสี Reactive Red 2 เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งจะกล่าวในหัวข้อต่อไป



รูปที่ 4.14 แสดงการกำจัดสี Reactive Red 2 ในสภาวะแอนแอโรบิกของเชื้อ รหัส ANAN 36-3 ที่เวลา 12,84,120 และ 168 ชั่วโมง



รูปที่ 4.15 แสดงการกำจัดสี Reactive Red 2 ในสภาวะแอนแอโรบิกของเชื้อ รหัส AA16-2 ที่เวลา 12,84 และ 168 ชั่วโมง



รูปที่ 4.16 แสดงการกำจัดสี Reactive Red 2 ในสภาวะแอนแอโรบิกของเชื้อ รหัส AA16-3 ที่เวลา 12,84,120 และ 168 ชั่วโมง



รูปที่ 4.17 แสดงการกำจัดสี Reactive Red 2 ในสภาวะแอนแอโรบิกของเชื้อ รหัส ANAN 16-4 ที่เวลา 12,84,120 และ 168 ชั่วโมง



รูปที่ 4.18 แสดงการกำจัดสี Reactive Red 2 ในสภาวะแอนแอโรบิกของเชื้อ รหัส AA36-7 ที่เวลา 12, 84, 120 และ 168 ชั่วโมง



รูปที่ 4.19 แสดงการกำจัดสี Reactive Red 2 ในสภาวะแอนแอโรบิกของแต่ละเชื้อที่เวลา 168 ชั่วโมง

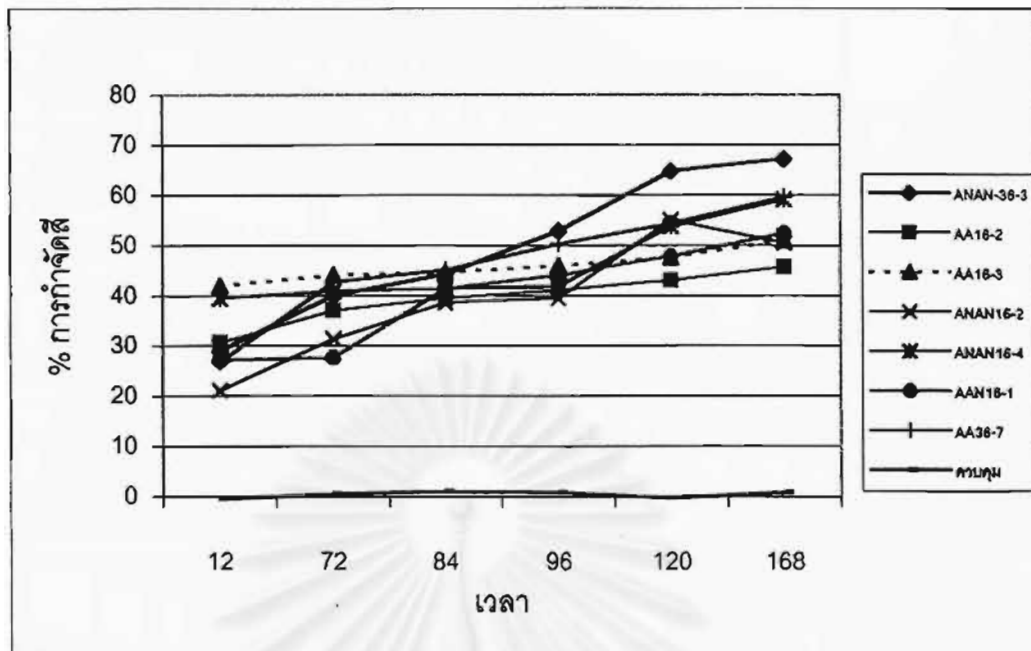
- การกำจัดสี Reactive Red 2 เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max})

ผลการหาค่าความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด พบว่าสี Reactive Red 2 มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร ดังนั้นจึงใช้ค่าความยาวคลื่นนี้วัดความสามารถในการกำจัดสีพบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 168 ชั่วโมง แบคทีเรียรหัส ANAN36-3 ทำให้สี Reactive Red 2 มีค่าการดูดกลืนแสงต่ำสุด รองลงมาคือ AA36-7 และ ANAN16-4 มีค่าการดูดกลืนแสง 0.122, 0.150 และ 0.152 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.5

เมื่อคิดการกำจัดสีในรูปร้อยละพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 168 ชั่วโมง แบคทีเรียรหัส ANAN36-3 มีประสิทธิภาพการกำจัดสี Reactive Red 2 สูงสุด รองลงมาคือ AA36-7 และ ANAN16-4 มีการกำจัดสีร้อยละ 67.20, 59.68 และ 59.14 ตามลำดับแสดงรูปที่ 4.20

ตารางที่ 4.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร เมื่อบ่มในสภาวะแอนแอโรบิก

รหัสเชื้อ	ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อเวลา (ชั่วโมง)						
	เริ่มต้น	12	72	84	96	120	168
ANAN-36-3	0.372	0.264	0.223	0.207	0.175	0.131	0.122
AA16-2	0.372	0.258	0.234	0.225	0.219	0.212	0.202
AA16-3	0.372	0.216	0.208	0.206	0.201	0.195	0.182
ANAN16-2	0.372	0.293	0.255	0.228	0.225	0.167	0.184
ANAN16-4	0.372	0.225	0.220	0.218	0.216	0.172	0.152
AAN16-1	0.372	0.271	0.269	0.218	0.208	0.194	0.177
AA36-7	0.372	0.272	0.213	0.204	0.185	0.170	0.150
ควบคุม	0.372	0.374	0.370	0.368	0.369	0.373	0.369



รูปที่ 4.20 ร้อยละการกำจัดสีในสภาวะแอนแอโรบิกเมื่อวัดที่ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (530 นาโนเมตร)

2) สภาวะแอนโรบิก

- การกำจัดสี Reactive Red 2 ในหน่วย ADMI

ผลการกำจัดสี Reactive Red 2 ของเชื้อทั้ง 7 ชนิด ในสภาวะแอนโรบิก เมื่อคิดเป็นร้อยละการกำจัดสี Reactive Red 2 พบว่า เชื้อทุกเชื้อมีความสามารถในการกำจัดสีต่ำมากคือไม่ถึงร้อยละ 1 และเมื่อสังเกตสีในหลอดทดลองก็จะพบว่าเมื่อให้ระยะเวลากำจัดเป็นเวลาถึง 8 วันสีก็ยังคงไม่แตกต่างจากสีเริ่มต้น ดังแสดงในตารางที่ 4.6

- การกำจัดสี Reactive Red 2 เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่

ค่าความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ max)

ผลการวัดความสามารถในการกำจัดสีโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดพบว่าในทุกกรณีเชื้อค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงจากค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้นแม้ว่าจะใช้เวลาถึง 8 วัน แสดงตารางที่ 4.7 เมื่อคิดการกำจัดสีในรูปร้อยละ แสดงดังรูป

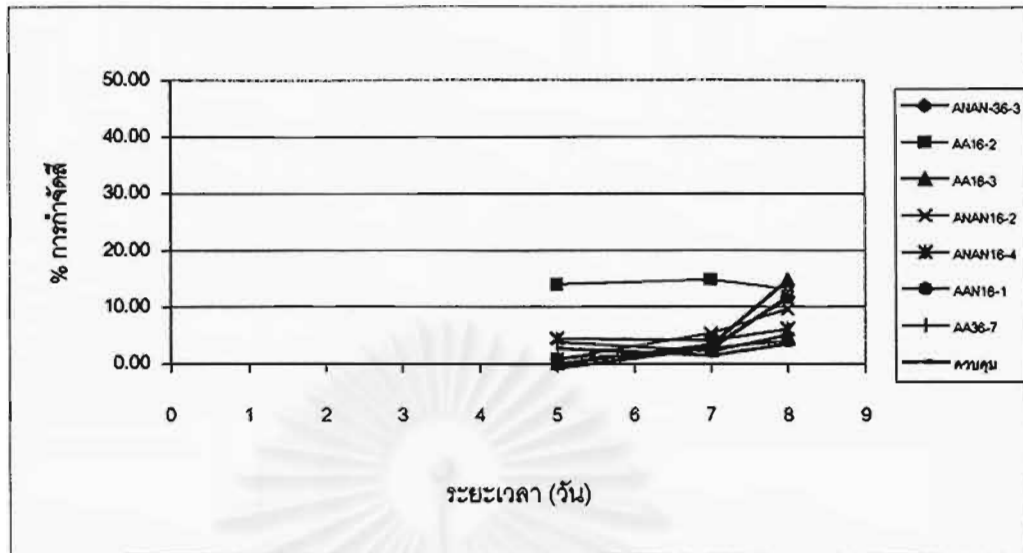
ที่ 4.21 พบว่าการกำจัดสี Reactive Red 2 ของแบคทีเรียรหัส ANAN36-3, AA16-2 และ AA16-3 จะมีค่าสูงสุดคือร้อยละ 11.83, 13.17 และ 14.78 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.6 แสดงร้อยละการกำจัดสีในหน่วยเอ็ดเอ็มไอในสภาวะแอโรบิก

รหัสเชื้อ	% การกำจัดสีในหน่วยเอ็ดเอ็มไอ		
	5 วัน	7 วัน	8 วัน
ANAN-36-3	0.04	0.06	0.07
AA16-2	0.06	0.06	0.06
AA16-3	0.12	0.13	0.14
ANAN16-2	0.03	0.04	0.05
ANAN16-4	0.07	0.09	0.10
AAN16-1	0.03	0.04	0.06
AA36-7	0.11	0.42	0.45
ควบคุม	0.00	0.01	0.02

ตารางที่ 4.7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะแอโรบิก

รหัสเชื้อ	ค่าการดูดกลืนแสงเมื่อเวลา (วัน)			
	เริ่มต้น	5	7	8
ANAN-36-3	0.372	0.375	0.362	0.328
AA16-2	0.372	0.32	0.317	0.323
AA16-3	0.372	0.372	0.36	0.317
ANAN16-2	0.372	0.369	0.352	0.336
ANAN16-4	0.372	0.355	0.357	0.349
AAN16-1	0.372	0.369	0.362	0.357
AA36-7	0.372	0.358	0.364	0.353
ควบคุม	0.372	0.362	0.367	0.359



รูปที่ 4.21 ร้อยละการกำจัดสีในสภาวะแอนโรบิกเมื่อวัดที่ความยาวคลื่น
ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (530 นาโนเมตร)

จากการทดลองทั้งในอาหารแข็งและในอาหารเหลวพบว่า การกำจัดสี Reactive Red 2 จะเกิดขึ้นได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะแอนโรบิก เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดระหว่างในอาหารแข็งกับในอาหารเหลวพบว่าในอาหารแข็งสีจะถูกกำจัดได้เร็วกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในอาหารแข็งจะมีสภาวะแบบแอนโรบิกมากกว่าเนื่องจากวุ้นส่วนบนจะเป็นตัวกั้นออกซิเจนไม่ให้ผ่านลงไปซึ่งสังเกตได้จากการทดลองซึ่งพบว่าในขณะที่สีของอาหารส่วนล่างจางลงสีของอาหารที่ผิวจะยังคงมีสีแดงอยู่ ในขณะที่ในอาหารเหลวจะมีออกซิเจนผ่านลงไปได้แม้ว่าจะเลี้ยงเชื้อใน candle jar เนื่องจากใน candle jar ออกซิเจนไม่ได้ถูกกำจัด 100 %

เมื่อทราบว่าเป็นเชื้อที่คัดเลือกสามารถกำจัดสีได้ จึงได้ทำการศึกษาต่อไปว่าเชื้อดังกล่าวมีกลไกการกำจัดสีอย่างไร ซึ่งจะกล่าวในหัวข้อต่อไป

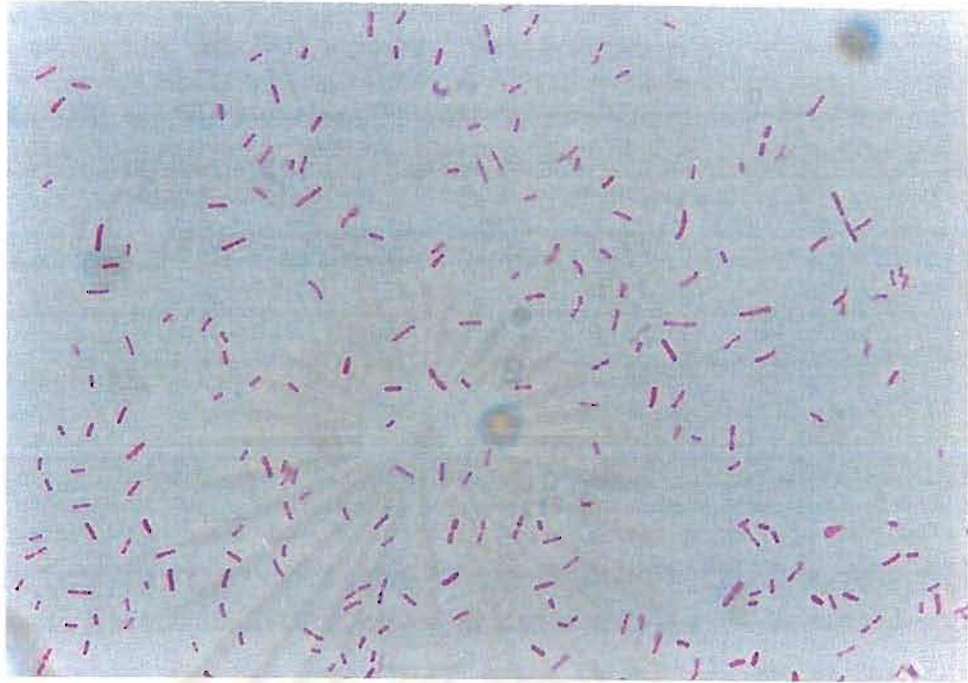
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.4 การตรวจวัดสารที่เกิดจากการกำจัดสี Reactive Red 2 โดยแบคทีเรียที่คัดเลือก

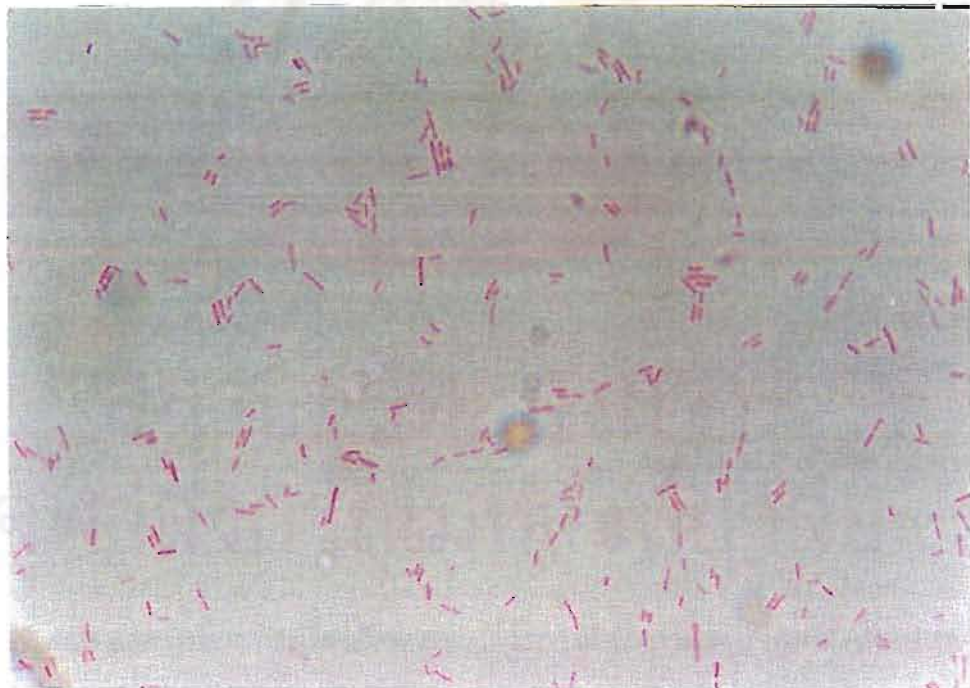
ในการกำจัดสี Reactive Red 2 คาดว่าจะมีสารอันตรายสารหนึ่งที่เกิดขึ้นเนื่องจากการแตกพันธะในกลุ่มโครโมฟอร์นั้นคือสารอะนิลีน ซึ่งสารดังกล่าวสามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้เครื่อง HPLC โดยทำการเก็บตัวอย่างเมื่อบ่มเชื้อรหัส ANAN36-3 และ AA36-7 (เป็นแบคทีเรียที่กำจัดสีดีที่สุด) ในสภาวะแอนแอโรบิกเป็น 7 วัน นำมาวิเคราะห์ด้วย HPLC จะได้พื้นที่ใต้พีค (peak) ของอะนิลีน เมื่อนำพื้นที่ที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานอะนิลีนซึ่งมีสมการเชิงเส้น $Y = 8.12 \times 10^5 X + 0.053$ และมีค่า $R^2 = 0.998$ พบว่าเมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน เชื้อรหัส ANAN36-7 มีปริมาณอะนิลีน 0.0676 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนเชื้อรหัส AA36-7 มีปริมาณอะนิลีน 0.1686 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาการเกิดอะนิลีนร่วมกับการกำจัดสีพบว่า เชื้อรหัส ANAN36-7 กำจัดสีได้ดีกว่าแต่กลับมีปริมาณอะนิลีนน้อยกว่าทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในระหว่างที่มีการกำจัดสีก็มีการกำจัดอะนิลีนควบคู่ไปด้วยซึ่งจะได้ทำการศึกษาต่อไปว่าแบคทีเรียที่คัดเลือกมามีความสามารถในการกำจัดอะนิลีนด้วยหรือไม่ ส่วนเชื้อที่บ่มในสภาวะแอโรบิก (สีถูกกำจัดเพียงเล็กน้อยเท่านั้น) จะตรวจวัดไม่พบปริมาณอะนิลีน ผลจากการเกิดอะนิลีนทำให้สามารถยืนยันได้ว่า การที่ปริมาณสีลดลงเนื่องจากการแตกพันธะอะโซโดยแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าว

4.3 การระบุ (Identification) แบคทีเรียที่สามารถกำจัดสี Reactive Red 2

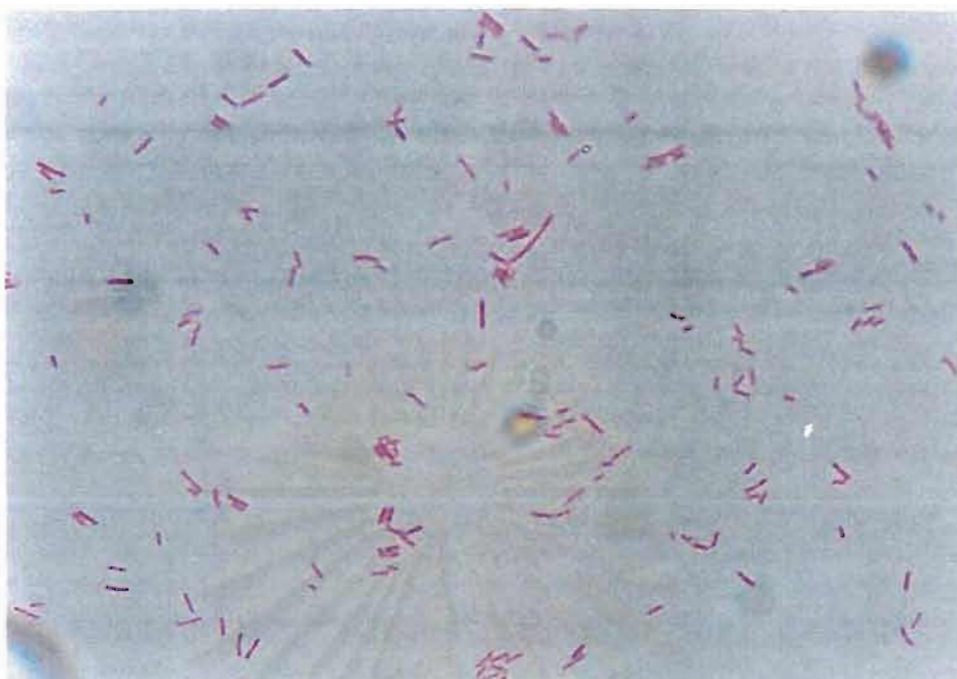
จากการศึกษาความสามารถในการกำจัดสีของแบคทีเรียทั้ง 7 สายพันธุ์ที่คัดเลือก พบว่า มีแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ที่สามารถกำจัดสีได้ดี จึงได้ทำการระบุแบคทีเรียดังกล่าวในระดับจีโนม โดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา รูปร่างและการเรียงตัวของเซลล์ คุณสมบัติการติดสีแกรม (แสดงดังรูปที่ 4.22-4.27) และทำการทดสอบคุณสมบัติด้านชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียดังกล่าว ทำให้สามารถระบุหาสกุลของแบคทีเรียได้ดังนี้ จากแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ พบว่า มีสายพันธุ์ที่เป็น *Pseudomonas* sp. 1 สายพันธุ์ เป็น *Klebsiella* sp. 3 สายพันธุ์ และอีก 1 สายพันธุ์ที่เป็น *Proteus* sp. ดังตารางที่ 4.8 *Klebsiella* sp. และ *Proteus* sp. เป็นแบคทีเรียที่อยู่ใน Family Enterobacteriaceae ส่วน *Pseudomonas* sp อยู่ใน Family Pseudomonadaceae โดยสกุลที่มีความสามารถในการกำจัดสีในอาหารเหลือสูงสุดคือ *Pseudomonas* sp. รองลงมาคือ *Proteus* sp และ *Klebsiella* sp. ตามลำดับ



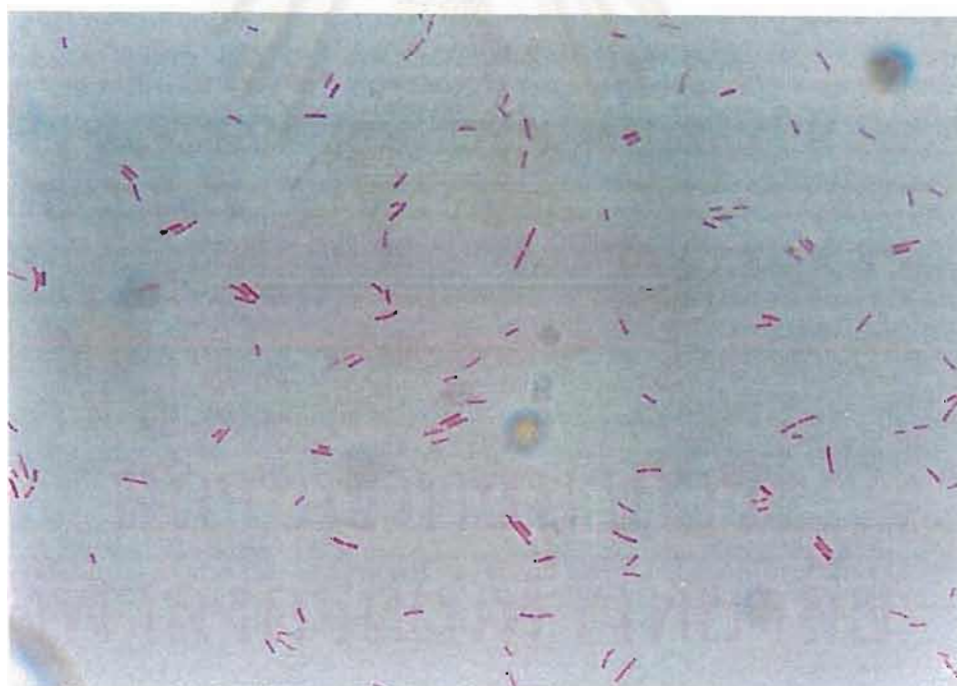
รูปที่ 4.22 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัส ANAN 36-3



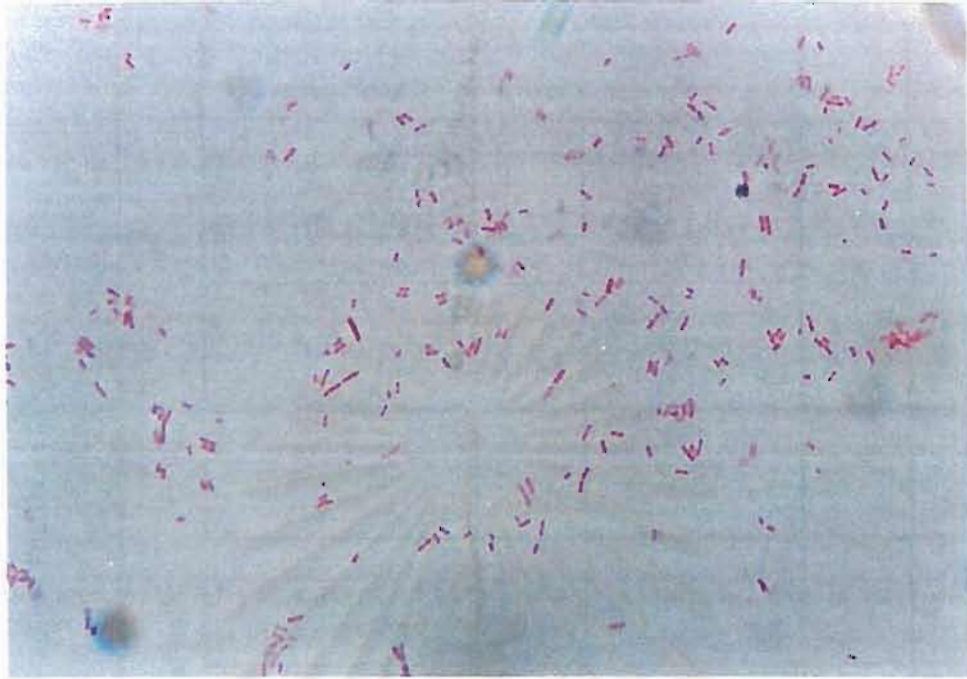
รูปที่ 4.23 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัส AA16-2



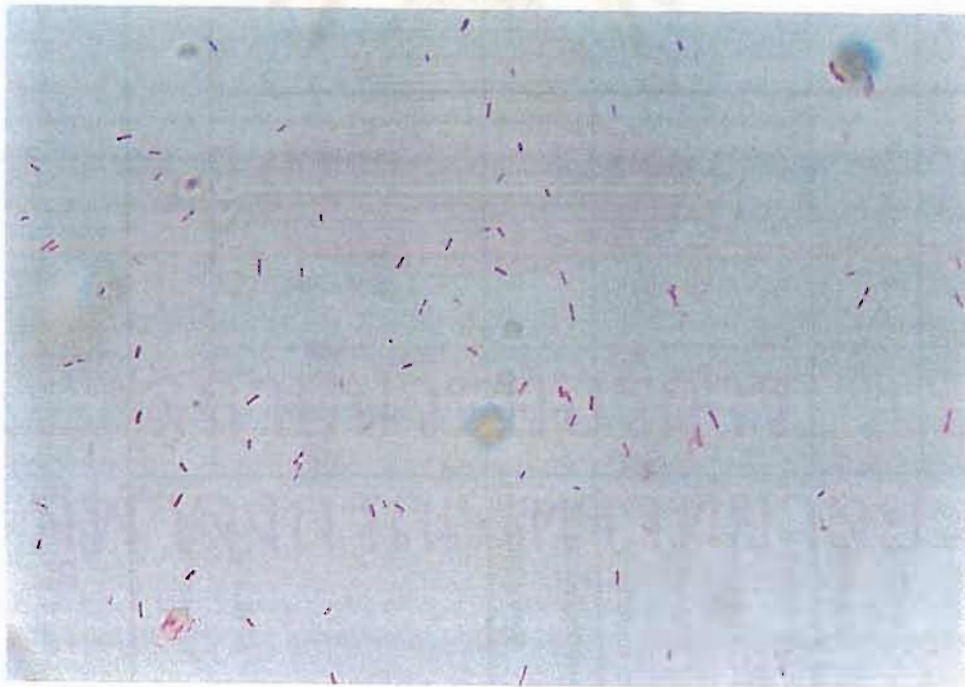
รูปที่ 4.24 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัส AA16-3



รูปที่ 4.25 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัส ANAN 16-4



รูปที่ 4.26 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัส AA36-7



รูปที่ 4.27 แสดงรูปร่าง การเรียงตัวของเซลล์และการติดสีแกรมของเชื้อรหัส AAN16-1

ตารางที่ 4.8 เปรียบเทียบสมบัติของแต่ละสายพันธุ์กับ *Pseudomonas* sp. *Klebsiella* sp. และ *Proteus* sp.

ผลการทดสอบ ของสายพันธุ์	ลักษณะสมบัติ									
	การออกกัมโมเนส	การบดคาวเลส	การทดสอบ MR	การทดสอบ VP	การทดสอบอินโดล	การใช้ซิเตรท	การรีดิวซ์ไนเตรท	TSI	การออกซิไดส์และการหมัก	การเคลื่อนที่
ANAN36-3	+	+	-	-	-	+	+	K/K(g)	O	+
<i>Pseudomonas</i> sp.	+	+	-	-	-	+	+	K/K(g)	O	+
AA16-2	-	+	-	+	-	+	+	A/A(g)	F	-
AA16-3	-	+	-	+	-	+	+	A/A(g)	O	-
ANAN16-4	-	+	-	+	-	+	+	A/A(g)	F	-
<i>Klebsiella</i> sp	-	+	-	+	-	+	+	A/A(g)	F	-
AAN16-1	-	+	+	+	+	+	+	K/A(g)	F	+
AA36-7	-	+	+	+	+	+	+	K/A(g)	F	+
<i>Proteus</i> sp	-	+	+	+	+	+	+	K/A(g)	F	+

4.4 ศึกษาความสามารถในการกำจัดอะนิลีนในสภาวะแอโรบิกของเชื้อทั้ง 6 ชนิด

จากการที่ทำการศึกษาโดยใช้หัวเชื้อ (Inoculum) ที่เตรียมจากการนำเชื้อผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมอะนิลีน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จนกระทั่งมี OD ประมาณ 0.3 จากนั้นนำ Inoculum ไปผสมในอาหารผสมอะนิลีน ด้วยอัตราส่วน 5 %(V/V) บ่มเชื้อที่สภาวะแอโรบิกเป็นเวลา 12 ชั่วโมงโดยนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่า 200 rpm. และนำไปวัดปริมาณอะนิลีนด้วยเครื่อง HPLC พบว่าแบคทีเรียที่ทำการทดสอบทุกตัวสามารถทำให้ปริมาณอะนิลีนหมดไป ในขณะที่หลอดที่ไม่ได้ใส่เชื้อลงไปจะยังตรวจพบอะนิลีนอยู่ในปริมาณ 0.3073 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าถึงแม้ว่าการกำจัดสี Reactive Red 2 ในสภาวะแอนแอโรบิกโดยแบคทีเรียที่คัดเลือกจะทำให้มีสารอะนิลีนที่เป็นอันตรายเกิดขึ้น แต่เมื่อนำตัวอย่างดังกล่าวไปบำบัดในสภาวะแอโรบิกต่อไป ก็จะทำให้ปริมาณอะนิลีนที่เกิดขึ้นถูกกำจัดให้หมดไปได้โดยแบคทีเรียกลุ่มเดียวกัน

อภิปรายผลการทดลอง

5.1 การกำจัดสี Reactive Red 2 ในกระบวนการเอสปีอาร์แบบ แอนแอโรบิก-แอโรบิก

ผลการทดลองของทั้ง 3 ชุดการทดลองชี้ให้เห็นว่าระบบเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก เป็นระบบที่สามารถกำจัดสี Reactive Red 2 ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Huifanel และคณะ (1991) โดยในชุดการทดลองที่มีเวลากักแอนแอโรบิกนานที่สุดจะมีความสามารถในการกำจัดสีสูงสุด ด้วย ความสามารถในการกำจัดสีของทุกชุดการทดลองจะเกิดขึ้นในขั้นตอนแอนแอโรบิกเป็นส่วนใหญ่ (Kremer, 1987 อ้างโดย Reife และ Freeman, 1996 ; Carliell และ คณะ, 1994 ; Brown และ Laboureur, 1983 อ้างโดย Reife และ Freeman, 1996) เช่นเดียวกับกับงานวิจัยของ Loyd และคณะ (1992) อ้างโดย Reife และ Freeman (1996) กล่าวว่ากระบวนการแบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกมีประสิทธิภาพการกำจัดสีสูงและส่วนใหญ่เกิดขึ้นในขั้นแอนแอโรบิก ส่วนในขั้นตอนแอโรบิกจะมีประสิทธิภาพการกำจัดสีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zaoyan และคณะ (1992) นอกจากนี้ Carliell และคณะ (1996) ; Thorat และ Kapadnis, (1996) ยังพบว่าสีย้อมไม่ถูกย่อยสลายในกระบวนการแอโรบิกเช่นเดียวกัน (Carliell และคณะ, 1996 ; Thorat และ Kapadnis, 1996)

ถึงแม้ว่าในขั้นตอนแอนแอโรบิกจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดสี Reactive สูง แต่จากการทดลองทั้ง 3 ชุดการทดลอง พบว่าจะมีสารอะนิลีนซึ่งเป็นสารประกอบอะโรมาติกอะมีนเกิดขึ้นในขั้นตอนแอนแอโรบิก จากงานวิจัยของ Kremer (1987) อ้างโดย Reife และ Freeman (1996) กล่าวว่า ในสภาวะแอนแอโรบิก สี Acid Red 88 จะเกิดการรีดักชันเป็นสาร 1-amino-2-naphthol และ naphthionic acid นอกจากนี้การศึกษาของ Carliell และคณะ (1996) ยังพบว่า สี Reactive Red 141 เมื่อถูกกำจัดจะเกิดสาร 2-aminonaphthalene-1,5-disulfonic acid และ 1,7-diamino-8-naphto-3,6-disulfonic acid และ p-diaminobenzene ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการกำจัดสีจะเกิดเมื่อมีการแตกพันธะอะโซ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Brown และ Laboureur (1983) ; Carliell และคณะ(1994)

จากโครงสร้างของสี Reactive Red 2 หากการรีดิวซ์สารเกิดในทำนองเดียวกันนี้ สิ่งที่จะควรจะเกิดขึ้นคืออะนิลีน ซึ่งผลการทดลองก็พบว่ามิอะนิลีนเกิดขึ้นจริง นอกจากสารอะนิลีนแล้วการแตกพันธะอะโซยังมีสารอีกชนิดหนึ่งเกิดขึ้นด้วย (ผลการ วัดอะนิลีนด้วย HPLC แสดงในภาคผนวก ฏ) ซึ่งสารดังกล่าวไม่อยู่ในบัญชีรายชื่อสารอันตรายจึงไม่ได้ทำการศึกษาในที่นี้

จากการเก็บตัวอย่างใน 5 วัฏจักรของแต่ละชุดการทดลองพบว่า ในบางวัฏจักรปริมาณอะนินินที่เกิดขึ้นไม่สอดคล้องกับความสามารถในการกำจัดสี คือ ชุดการทดลองที่มีเวลากักแอนแอโรบิกนาน และมีการกำจัดสีสูงแต่กลับมีปริมาณอะนินินน้อยกว่าชุดการทดลองที่มีช่วงแอนแอโรบิกสั้นกว่า ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากในชั้นแอนแอโรบิกของกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกนั้น ส่วนบนของถังปฏิริยาจะมีสภาวะเป็นแอโรบิกอันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ไม่ได้ควบคุมและในกระบวนการนี้ก็มีกลุ่มแบคทีเรียที่กำจัดอะนินินอยู่ด้วย ดังนั้นในขณะที่เกิดการกำจัดสี อะนินินบางส่วนจึงถูกย่อยสลายไปพร้อมๆ กัน

เมื่อผ่านชั้นแอโรบิกในทุกชุดการทดลองตรวจวัดไม่พบอะนินินในน้ำตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่า อะนินินที่เกิดขึ้นในชั้นตอนแอนแอโรบิกถูกกำจัดให้หมดไปได้ในชั้นตอนแอโรบิก ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Brown และ Hamburger (1987) ที่ได้พบว่า สารอะโรมาติกอะมีนถูกย่อยสลายได้ยากในสภาวะแอนแอโรบิก แต่ถูกย่อยได้ดีในสภาวะแอโรบิก

เมื่อศึกษาการกำจัดซีโอดี พบว่า ในทั้ง 3 ชุดการทดลองมีความสามารถในการกำจัดใกล้เคียงกันและมีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีสูงในชั้นตอนแอนแอโรบิก เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Huifang และ คณะ (1991)

ดังนั้นกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกจึงเป็นกระบวนการที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมเนื่องจากสามารถกำจัดสีและซีโอดีได้สูงและไม่ก่อให้เกิดสารที่เป็นอันตรายด้วย ซึ่งเมื่อพิจารณาในทุกชุดการทดลองจะพบว่าชุดการทดลองที่ 2 เป็นชุดที่มีความเหมาะสมเนื่องจากในชุดการทดลองนี้จะสามารถกำจัดสีและซีโอดีได้ใกล้เคียงกับชุดการทดลองที่ 3 ซึ่งต้องใช้เวลารวมถึง 36 ชั่วโมงต่อหนึ่งวัฏจักรในขณะที่ชุดการทดลองที่ 2 ใช้เวลา 24 ชั่วโมงต่อหนึ่งวัฏจักรซึ่งทำให้รองรับน้ำเสียได้ในปริมาณสูงกว่า

5.2 การคัดเลือกเชื้อที่สามารถกำจัดสี Reactive Red 2

น้ำเสียจากกระบวนการเอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกเป็นแหล่งที่พบจุลินทรีย์หลายชนิดที่ทนและสามารถกำจัดสี Reactive Red 2 ได้ โดยการคัดเลือกจุลินทรีย์ในขั้นแรกนั้นใช้วิธีการ pour plate และ streak plate บนอาหารแข็งที่ผสมสี Reactive Red 2 ที่มีความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร

ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองนี้ได้ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานเนื่องจากมีแบคทีเรียหลายชนิดที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งอาหารและพลังงาน นอกจากนี้ในการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวยังได้ทำการเลี้ยงเชื้อทั้งในสภาวะแอนแอโรบิกและแอโรบิกเนื่องจากตัวอย่างที่เก็บมาจากกระบวนการเอสปีอาร์ได้เก็บมาจากทั้ง 2 ขั้นตอนคือทั้งขั้นตอนแอนแอโรบิกและแอโรบิก จากการแยกเชื้อโดยวิธีดังกล่าวทำให้ได้แบคทีเรียทั้งหมด 37 สายพันธุ์ ที่สามารถเจริญได้บนอาหารแข็งผสมสีดังนั้นเป็นไปได้ว่าน่าจะมีแบคทีเรียอยู่ 3 กลุ่มคือ กลุ่มแรกสามารถใช้สี Reactive Red 2 เป็นแหล่งคาร์บอน กลุ่มที่สองเป็นกลุ่มที่ไม่สามารถย่อยสลายสีได้แต่เจริญได้ด้วยแหล่งคาร์บอนอื่นซึ่งในที่นี้คือกลูโคส และกลุ่มสุดท้ายเป็นแบคทีเรียที่สามารถใช้ประโยชน์จากสารที่เกิดจากการย่อยสลายสีโดยแบคทีเรียอื่นที่สามารถย่อยสีได้ ดังนั้นจึงทำการคัดเลือกกลุ่มที่ย่อยสลายสีได้ต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อทั้ง 37 สายพันธุ์สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียดังกล่าวจึงจัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobic เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่มดังกล่าวจะเจริญได้ดีในน้ำเสียและสลัดจ์ในกระบวนการบำบัดแบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wong และ Yuen, 1996 และได้แบ่งกลุ่มแบคทีเรียที่มีลักษณะโคไลเน การย้อมติดสีแกรม และลักษณะเซลล์คล้ายกันไว้ในกลุ่มเดียวกัน จากนั้นได้ทำการทดลองการกำจัดสีขั้นต้นในอาหารแข็งที่ผสมสีโดยบ่มเชื้อในสภาวะแอนแอโรบิก และได้คัดเลือกแบคทีเรียที่น่าสนใจได้ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ AA16-2, AA16-3, AA36-7, AAN16-1, ANAN16-2, ANAN16-4 และ ANAN36-3 เพื่อนำไปศึกษาความสามารถในการกำจัดสีต่อไป

5.3 การกำจัดสี Reactive Red 2 ในอาหารแข็ง

จากการสังเกตการกำจัดสีของเชื้อแต่ละตัวในแต่ละหลอดอาหารในสภาวะแอนแอโรบิกพบว่าสีถูกกำจัดให้หมดไปได้ในสภาวะแอนแอโรบิก และทุกเชื้อจะมีลักษณะเหมือนกันคือที่บริเวณผิวหน้าของอาหารจนกระทั่งลึกลงไปประมาณ 1 เซนติเมตรสีจะยังคงอยู่และลดลงเล็กน้อย ในขณะที่ส่วนใต้บริเวณนี้ลงไปสีจะถูกกำจัดได้ 100% ซึ่งสาเหตุอาจเนื่องมาจากบริเวณด้านบนของหลอดดังกล่าวมีการปนเปื้อนของออกซิเจนอยู่บ้าง ส่วนบริเวณใต้ลงมาจะไม่มีมีการปนเปื้อนของออกซิเจนเนื่องจากมีวุ้นเป็นตัวกันไม่ให้ออกซิเจนผ่านลงไป ทำให้การกำจัดสีเกิดขึ้นได้ดีกว่าที่บริเวณผิวซึ่งผลการทดลองดังกล่าวยืนยันได้ว่าการกำจัดสีจะเกิดขึ้นได้ดีในสภาวะแอนแอโรบิก ส่วนในสภาวะแอโรบิกไม่มีการกำจัดสีเกิดขึ้นในทุกเชื้อที่ทำการทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของของ Nigam และคณะ, (1995) Nigam และคณะ (1996)

นอกจากนี้ผลจากการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดสีของเชื้อที่เตรียมหัวเชื้อแบบ A (Inoculum A) ซึ่งเตรียมในอาหารที่ไม่ผสมสี กับหัวเชื้อที่เตรียมโดยผสมสี Reactive Red 2 ลงในอาหารที่ใช้เตรียมหัวเชื้อ (Inoculum B) พบว่าความสามารถไม่แตกต่างกัน สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากในการเตรียมหัวเชื้อทั้ง 2 แบบจะเตรียมในสภาวะแอนโรบิกซึ่งอาจทำให้แบคทีเรียเหล่านั้นไม่สร้างเอนไซม์ที่ย่อยสีออกมาเนื่องจากการทดลองที่ผ่านมาพบว่ากำจัดสีจะเกิดในสภาวะแอนแอโรบิกนั้นแสดงว่าการสร้างเอนไซม์ที่ย่อยสีดังกล่าวก็จะเกิดในสภาวะแอนแอโรบิกด้วย ดังนั้นเราจึงควรทดสอบว่าเมื่อเตรียมหัวเชื้อในสภาวะแอนแอโรบิกจะทำให้แบคทีเรียมีความสามารถในการกำจัดสีเพิ่มขึ้นหรือไม่

5.4 การกำจัดสี Reactive Red 2 ในอาหารเหลว

การศึกษาการกำจัดสี Reactive Red 2 ในอาหารเหลวนี้นี้ได้ทำการทดลองเช่นเดียวกับในอาหารแข็ง เพียงแต่ในอาหารจะไม่ผสมวุ้นลงไป และจะมีการวัดปริมาณสีในหน่วยเอดีเอ็มไอและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ซึ่งจากการทดลองพบว่าในสภาวะแอนโรบิกจะสามารถกำจัดสีได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ในขณะที่ในสภาวะแอนแอโรบิกพบว่าทุกเชื้อสามารถกำจัดสีได้ดีเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า แต่จะพบว่าค่าร้อยละของการกำจัดสีในหน่วยเอดีเอ็มไอมีค่าน้อยมาก คือเชื้อที่กำจัดสีดีที่สุด (ANAN36-3) มีร้อยละการกำจัดสีในหน่วยเอดีเอ็มไอเพียงร้อยละ 24.63 ทั้งนี้จากตัวอย่างสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนว่าสีของอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสีเปลี่ยนจากสีแดงไปเป็นสีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผสมสี หลักการวัดสีหน่วย ADMI นั้นจะคำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงของทุกสีในช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร ซึ่งสีเหลืองอ่อนของอาหารเลี้ยงเชื้ออาจจะมีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงดังกล่าวด้วย

การแก้ไขในเรื่องสีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ส่งผลต่อการศึกษาการลดลงของสีในหน่วย ADMI โดยการวัดสีในหน่วย ADMI ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผสมสีและได้มีการใส่แบคทีเรียลงไป แล้วลบออกจากสีหน่วย ADMI ของน้ำตัวอย่างที่มีสีผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น ผลที่ได้ก็จะคาดเคลื่อนเนื่องมาจากเมื่อผสมแบคทีเรียลงในอาหารก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยการเปลี่ยนแปลงจะขึ้นกับจำนวนแบคทีเรียและการทำงานของแบคทีเรียซึ่งจำนวนแบคทีเรียและการทำงานของแบคทีเรียในอาหารที่ผสมสีกับอาหารที่ไม่ได้ผสมสีก็จะแตกต่างกัน ดังนั้นสีของอาหารเลี้ยงเชื้อในตัวอย่างที่ไม่ได้มีการผสมสีลงไปก็จะแตกต่างจากสีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสีลงไป ทำให้ปริมาณสี

หน่วย ADMI ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่นำไปลอบอกไม่ใช่ตัวแทนที่ดีของปริมาณสีของอาหารเลี้ยงเชื้อของน้ำตัวอย่างที่ต้องการศึกษาการกำจัดสีหน่วย ADMI

เมื่อพิจารณางานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการวัดความสามารถในการกำจัดสีจะใช้วิธีวัดค่าการดูดกลืนที่เปลี่ยนไปที่ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) (Nigam และคณะ, 1996) ดังนั้นการวัดความสามารถในการกำจัดสีดังกล่าวจึงควรเลือกวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่เฉพาะสำหรับสีแต่ละตัวเท่านั้น โดยความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสี Reactive Red 2 คือ 530 นาโนเมตร ผลการวัดแบบดังกล่าวทำให้ได้ความสามารถในการกำจัดสีของเชื้อรากลุ่ม ANAN36-3 มีค่าร้อยละ 67.20

จากการทดลองทั้งในอาหารแข็งและในอาหารเหลวพบว่าการกำจัดสี Reactive Red 2 จะเกิดขึ้นได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะแอนแอโรบิก เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดระหว่างในอาหารแข็งกับในอาหารเหลวพบว่าในอาหารแข็งสีจะถูกกำจัดได้เร็วกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในอาหารแข็งจะมีสภาวะแบบแอนแอโรบิกมากกว่าเนื่องจากวัฏจักรส่วนบนจะเป็นตัวกั้นออกซิเจนไม่ให้ลงไปซึ่งสังเกตได้จากการทดลองที่พบว่าในขณะที่สีของอาหารส่วนล่างจางลงสีของอาหารที่ผิวจะยังคงมีสีแดงอยู่ ในขณะที่ในอาหารเหลวจะมีออกซิเจนผ่านลงไปได้แม้ว่าจะเลี้ยงเชื้อใน candle jar เนื่องจากใน candle jar ออกซิเจนไม่ได้ถูกกำจัด 100 % และนอกจากนั้นถึงแม้ว่าปริมาณสีจะลดลงอย่างมากก็ยังคงเห็นสีอยู่เนื่องจากสีที่มีความเข้มข้นเพียง 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรก็จะทำให้มองเห็นสีได้

5.5 การตรวจวัดสารที่เกิดจากการกำจัดสี Reactive Red 2 โดยแบคทีเรียที่คัดเลือก

การผลการวิเคราะห์โดยนำตัวอย่างน้ำที่ผ่านการกำจัดสี Reactive Red 2 ในสภาวะแอนแอโรบิก โดยเชื้อรากลุ่ม ANAN36-3 และ AA36-7 ซึ่งเป็นเชื้อที่กำจัดสีได้ดีที่สุด ไปวิเคราะห์ปริมาณอะนิลีน พบว่า มีอะนิลีนเกิดขึ้น นั่นแสดงว่าการกำจัดสี Reactive Red 2 เกิดขึ้นเนื่องจากการแตกพันธะอะโซ (N=N) ซึ่งเป็นกลุ่มโคโมฟอร์ของสี (กลุ่มที่ทำให้เกิดสี) ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Horitsu และคณะ, 1977; Lyberatos และ Zissi, 1996 ; Nigam และคณะ, 1995 ; Yeon และ Wong, 1995 .

ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวถึงแม้ว่าจะชี้ให้เห็นว่าการบำบัดแบบแอนแอโรบิกจะก่อให้เกิดสารอะนิลีนที่เป็นอันตรายได้ แต่สารอะนิลีนก็สามารถถูกกำจัดได้ดีในสภาวะแอโรบิกดังนั้นการใช้ระบบที่มีขั้นตอนแอนแอโรบิกตามด้วยแอโรบิกจึงให้ประสิทธิภาพการกำจัดสูงและไม่ก่อให้เกิดสารที่เป็นอันตรายและสิ่งหนึ่งที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดให้สูงขึ้นคือการคัดเลือกแบคทีเรียที่เหมาะสมและเพิ่มจำนวนแบคทีเรียดังกล่าวลงไปในระบบ

5.6 การระบุ (Identification) แบคทีเรียที่สามารถกำจัด Reactive Red 2

จากการเทียบเคียงแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการกำจัดได้ดี พบว่า มี 1 สายพันธุ์ที่เป็น *Pseudomonas* sp. 3 สายพันธุ์ที่เป็น *Klebsiella* sp. และอีก 1 สายพันธุ์ที่เป็น *Proteus* sp. ซึ่งสกุลที่มีความสามารถในการกำจัดในอาหารเหลวสูงสุดคือ *Pseudomonas* sp. ซึ่งอยู่ใน Family Pseudomonadaceae และอยู่ในกลุ่ม Gram negative aerobic rods and cocci รองลงมาคือ *Proteus* sp. ซึ่งแบคทีเรีย *Klebsiella* sp. และ *Proteus* sp. เป็นแบคทีเรียที่อยู่ใน Family Enterobacteriaceae และอยู่ในกลุ่ม Gram negative facultatively anaerobic rods โดยที่แบคทีเรียในกลุ่มนี้จะเจริญได้ดีในน้ำเสียและสลัดจ์ในกระบวนการบำบัดแบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wong และ Yuen, 1996 ซึ่งพบว่ามีแบคทีเรียที่สามารถกำจัดได้ดี 5 ตัวและทุกตัวอยู่ใน Family Enterobacteriaceae โดย *Klebsiella* sp. จะเป็นตัวที่กำจัด Reactive Red 2 ได้ดีที่สุด ดังนั้นการที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดจึงอาจจะทำได้โดยการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียดังกล่าวลงไปในระบบ

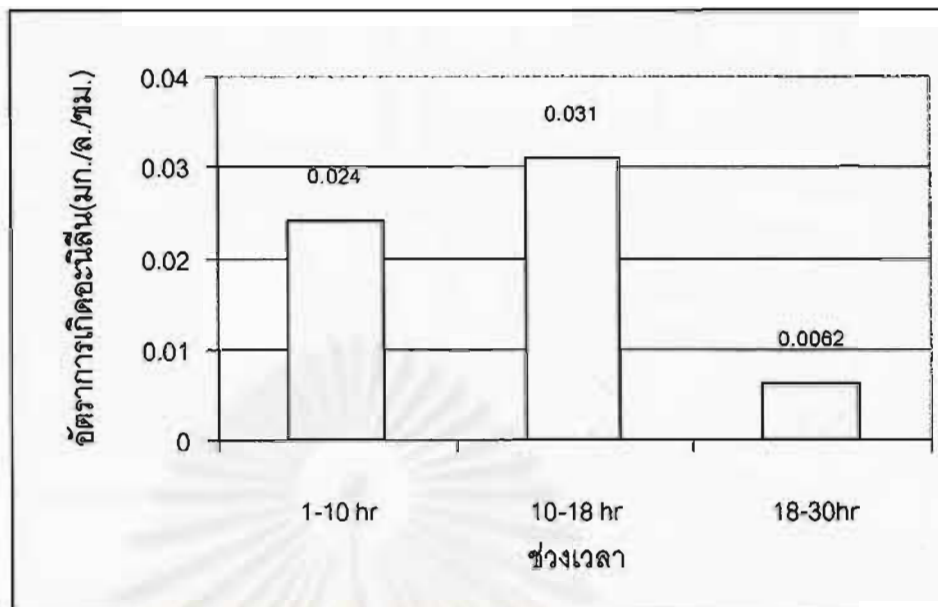
5.7 การศึกษาการกำจัดอะนิลีนโดยแบคทีเรียกลุ่มเดียวกับที่กำจัด Reactive Red 2

จากการศึกษาการกำจัดอะนิลีนที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแบคทีเรียที่คัดเลือกในสภาวะแอโรบิกเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และนำไปวัดปริมาณอะนิลีนด้วยเครื่อง HPLC พบว่าทุกตัวสามารถทำให้ปริมาณอะนิลีนหมดไปได้ ในขณะที่หลอดที่ไม่ได้ใส่เชื้อลงไปจะยังตรวจพบอะนิลีนอยู่ ทำให้สรุปได้ว่าเชื้อทุกตัวสามารถกำจัดอะนิลีนได้เมื่ออยู่ในสภาวะแอโรบิก ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Brown และ Hamburger, 1987 ที่ได้พบว่า สารอะโรมาติกอะมีนถูกย่อยสลายได้ง่ายในสภาวะแอนแอโรบิกแต่ถูกย่อยได้ดีในสภาวะแอโรบิก และจากข้อมูลที่ย่างโดยกองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม, 2541 แสดงให้เห็นว่า อะนิลีนในน้ำเสียสามารถถูกกำจัดได้โดยจุลินทรีย์เช่น

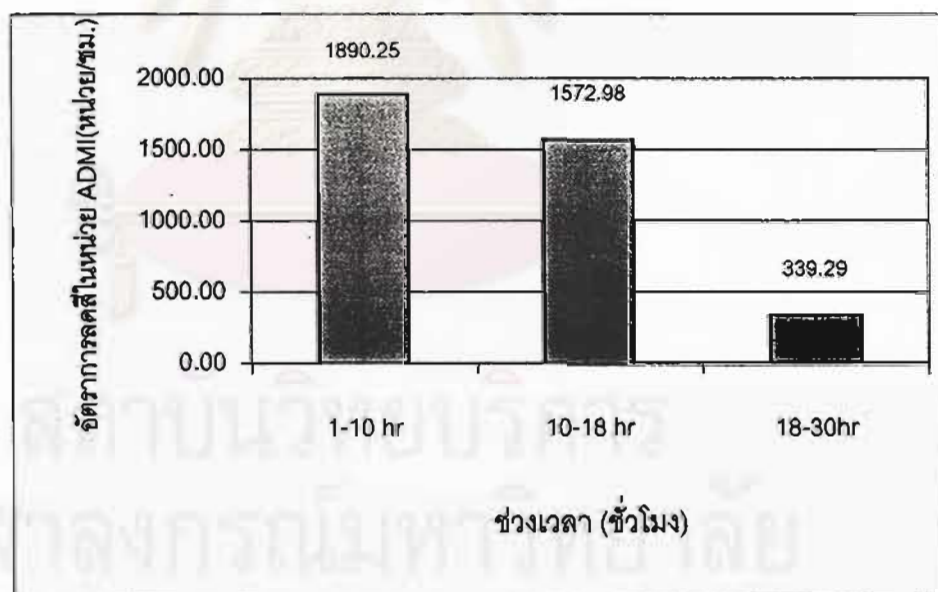
Pseudomonas aeruginosa และ *Bacillus polymyxa* โดย *Pseudomonas aeruginosa* สามารถลดอะนิลีนได้ร้อยละ 77 ส่วนการใช้ *Bacillus polymyxa* ลดอะนิลีนได้ถึงร้อยละ 93 และถ้าใช้แบคทีเรียทั้งสองชนิดร่วมกันสามารถลดอะนิลีนได้ถึงร้อยละ 96 จากผลการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าถึงแม้ว่าการกำจัดสี Reactive Red 2 ในสถานะแอนแอโรบิกจะทำให้มีสารอะนิลีนที่เป็นอันตรายเกิดขึ้นแต่เมื่อนำตัวอย่างดังกล่าวไปบำบัดในสถานะแอโรบิกต่อไป ก็จะทำให้ปริมาณอะนิลีนที่เกิดขึ้นถูกกำจัดได้ต่อไปด้วย ดังนั้นถ้าเราออกแบบระบบบำบัดให้มีชั้นแอนแอโรบิกแล้วตามด้วยแอโรบิกโดยใช้หัวเชื้อที่เตรียมจากเชื้อที่คัดเลือกข้างต้น ก็จะทำให้ระบบมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดสีในขณะเดียวกันอะนิลีนก็ถูกกำจัดได้ด้วยโดยแบคทีเรียกลุ่มเดียวกันนี้

5.8 อัตราการเกิดอะนิลีนและอัตราการลดลงของสีในชั้นแอนแอโรบิก

เมื่อพิจารณาการกำจัดสีและการเกิดอะนิลีนในแต่ละชุดการทดลอง โดยนำมาหาอัตราการเกิดอะนิลีนในแต่ละช่วงเวลา พบว่าชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3 มีอัตราการเกิดอะนิลีน 0.024, 0.027 และ 0.0188 มก./ล./ชม.ตามลำดับ ชุดการทดลองที่สองจะมีอัตราการเกิดอะนิลีนสูงสุด ซึ่งอัตราการเกิดอะนิลีนนี้ไม่น่าจะเท่ากันตลอดช่วงเวลา และจากตัวอย่างที่ทำการเก็บตัวอย่างน้ำที่มีเวลากักแอนแอโรบิก 3 ค่าคือ 10, 18 และ 30 ชั่วโมงทำให้สามารถประเมินอัตราการเกิดสารอะนิลีนโดยสมมุติว่า ที่ช่วงเวลา 10 ชั่วโมงแรกของชุดการทดลองที่ 2 มีอัตราการเกิดอะนิลีนเท่ากับในชุดการทดลองที่ 1 และอัตราการเกิดอะนิลีนในช่วงเวลา 18 ชั่วโมงของชุดการทดลองที่ 3 เท่ากับอัตราการเกิดอะนิลีนในชุดการทดลองที่ 2 ทำให้ประมาณการเกิดอะนิลีนที่ช่วงเวลาต่างๆ ดังนี้ คือ ช่วง 10 ชั่วโมงแรกมีอัตราการสร้างอะนิลีน 0.024 มก./ล./ชม. หลังจากเวลา 10 ชั่วโมงจนถึง 18 ชั่วโมงมีอัตราการสร้างอะนิลีน 0.031 มก./ล./ชม. และหลังจาก 18 ชั่วโมงจนถึง 30 ชั่วโมงมีอัตราการเกิดอะนิลีน 0.0062 มก./ล./ชม. เมื่อพิจารณาร่วมกับอัตราการลดลงของสีในชั้นแอนแอโรบิก พบว่าช่วง 10 ชั่วโมงแรกมีอัตราการลดลงของสี 1890.25 หน่วย/ชั่วโมง จากชั่วโมงที่ 1 ถึงชั่วโมงที่ 18 มีอัตราการลดลง 1,572.98 หน่วย/ชั่วโมง และจากชั่วโมงที่ 18 ถึง 30 มีอัตราการลดลง 339.29 หน่วย/ชั่วโมง (อัตราการเกิดอะนิลีนแสดงดังรูป 5.1 และอัตราการลดลงของสีแสดงดังรูปที่ 5.2)



รูปที่ 5.1 อัตราการเกิดอะนิลินที่ช่วงเวลาต่างๆ ในชั้นแอนเอโรบิก

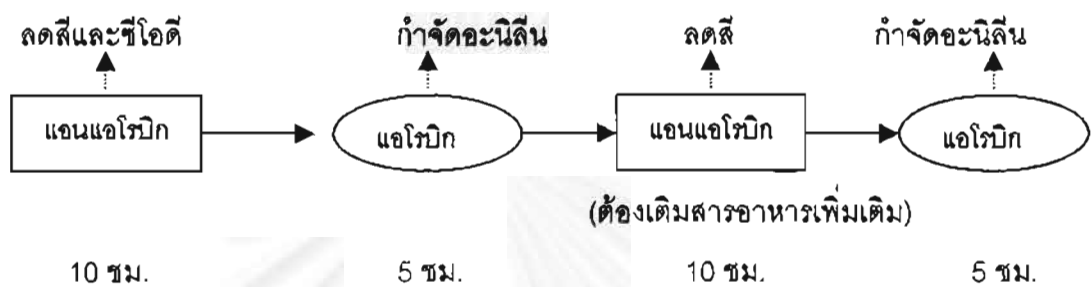


รูปที่ 5.2 อัตราการลดลงของซีในช่วงเวลาต่างของชั้นแอนเอโรบิก

จากกราฟจะเห็นว่าในช่วง 10 ชั่วโมงแรกอัตราการลดลงของซีจะสูงที่สุด แต่จะมีอัตราการเกิดอะนิลินน้อยกว่าในช่วง 10 - 18 ชั่วโมง ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวมีความสำคัญในการที่จะนำไปพิจารณาออกแบบระบบบำบัดต่อไป ดังนั้นถ้าเราออกแบบระบบให้สามารถกำจัดซีได้ดีโดยให้มีช่วง

แอนแอโรบิก 10 ชั่วโมง ตามด้วยแอโรบิก 5 ชั่วโมง แล้วเข้าสู่ขั้นแอนแอโรบิก 10 ชม. และแอโรบิก 5 ชม. อีกครั้งดังรูปด้านล่าง น่าจะทำให้ระบบมีประสิทธิภาพในการลดสีสูงขึ้น นอกจากสามารถลดสีและไม่เกิดอะนิลีนแล้วยังทำให้ปริมาณซีไอลดลงได้ด้วยเนื่องจากผลการทดลองข้างต้นชี้ให้เห็นว่าซีไอลดลงได้ดีที่เวลาแอนแอโรบิกเพียง 10 ชั่วโมง ดังนี้

แต่ระบบที่เสนอนี้จะมีข้อเสียคือ จะต้องเพิ่มถังปฏิบัติการและต้องเติมสารอาหารเพิ่มเติมในถังแอนแอโรบิกถังที่ 2 (ธงชัย พรรณสวัสดิ์, สัมภาษณ์, 28 เมษายน 2543) ซึ่งจะต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงขึ้น

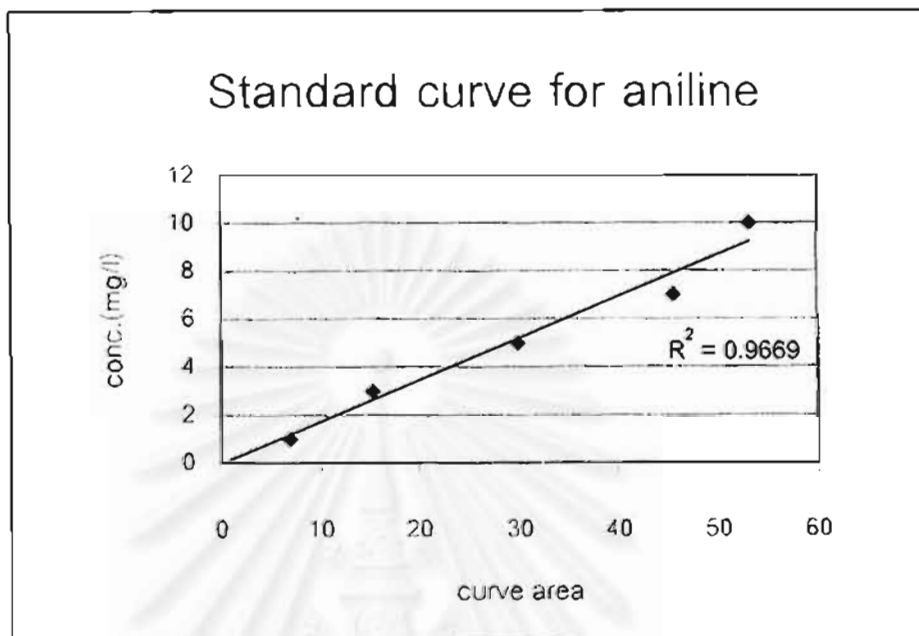


แต่การประเมินอัตราการเกิดอะนิลีนดังกล่าวข้างต้นไม่สามารถนำไปใช้ได้เนื่องจาก ในแต่ละชุดการทดลองจะมีอายุสัปดาห์ไม่เท่ากัน (ธงชัย พรรณสวัสดิ์, สัมภาษณ์, 28 เมษายน 2543) ดังนั้นจึงไม่สามารถประเมินอัตราการกำจัดสีและอัตราการเกิดอะนิลีนที่ช่วงเวลาต่างๆ ได้จากตัวอย่างที่ได้จากชุดการทดลองที่ต่างกัน

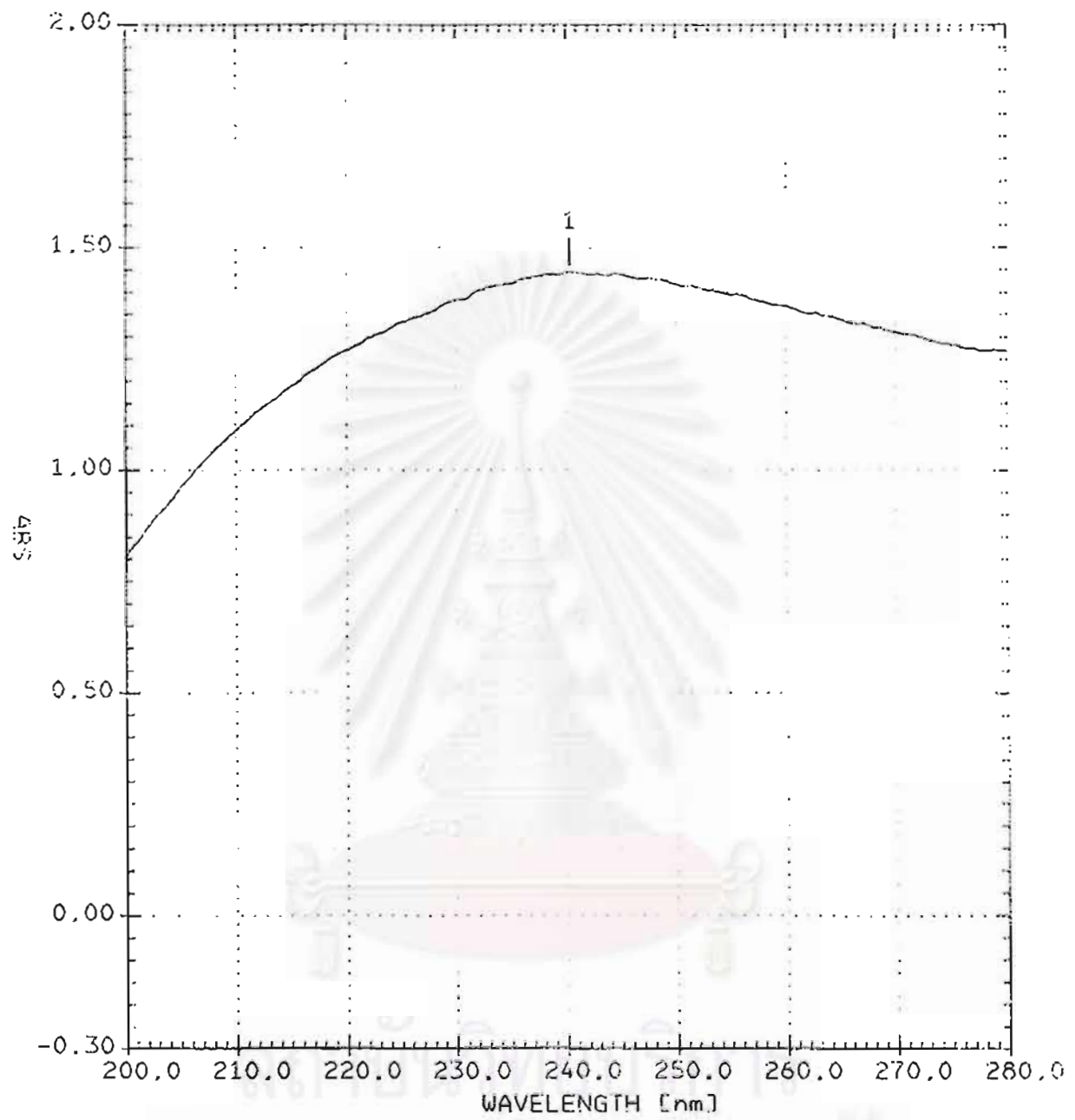
5.9 การตรวจวัดอะนิลีนโดยใช้พื้นที่ใต้กราฟ

การวัดอะนิลีนโดยใช้ HPLC เป็นวิธีการที่สิ้นเปลือง จึงได้ทดลองทำการหาค่าอะนิลีนโดยการสแกนค่าการดูดกลืนแสงตั้งแต่ช่วงเวลา 200-280 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV- Spectrophotometer พบว่ามีพีค (Peak) ที่น่าสนใจ 2 พีค คือ ที่ความยาวคลื่น 231 และ 201.5 นาโนเมตร แต่เนื่องจากงานวิจัยของ Horitsu และคณะ (1977) และ Zissi และคณะ (1996) พบว่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวัดอะนิลีนด้วยเครื่อง HPLC คือ 238 นาโนเมตร ดังนั้นจึงเลือกความยาวคลื่น 231 นาโนเมตร มาทำการทดสอบโดยหาพื้นที่ใต้พีคที่จุดดังกล่าวพบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นอะนิลีนมีค่าสัมประสิทธิ์ในการตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.967 (ดังรูปที่ 5.3) และเมื่อนำตัวอย่างน้ำเสียมาทดสอบด้วยวิธีข้างต้นและเทียบกับการวัดด้วย HPLC พบว่า มีปริมาณสูงเกินความเป็นจริง โดยมีค่าการดูดกลืนแสงถึง 1.5 (ดังรูปที่ 5.4) ในขณะที่อะนิลีนมาตรฐาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตรมีค่าการดูดกลืนแสง

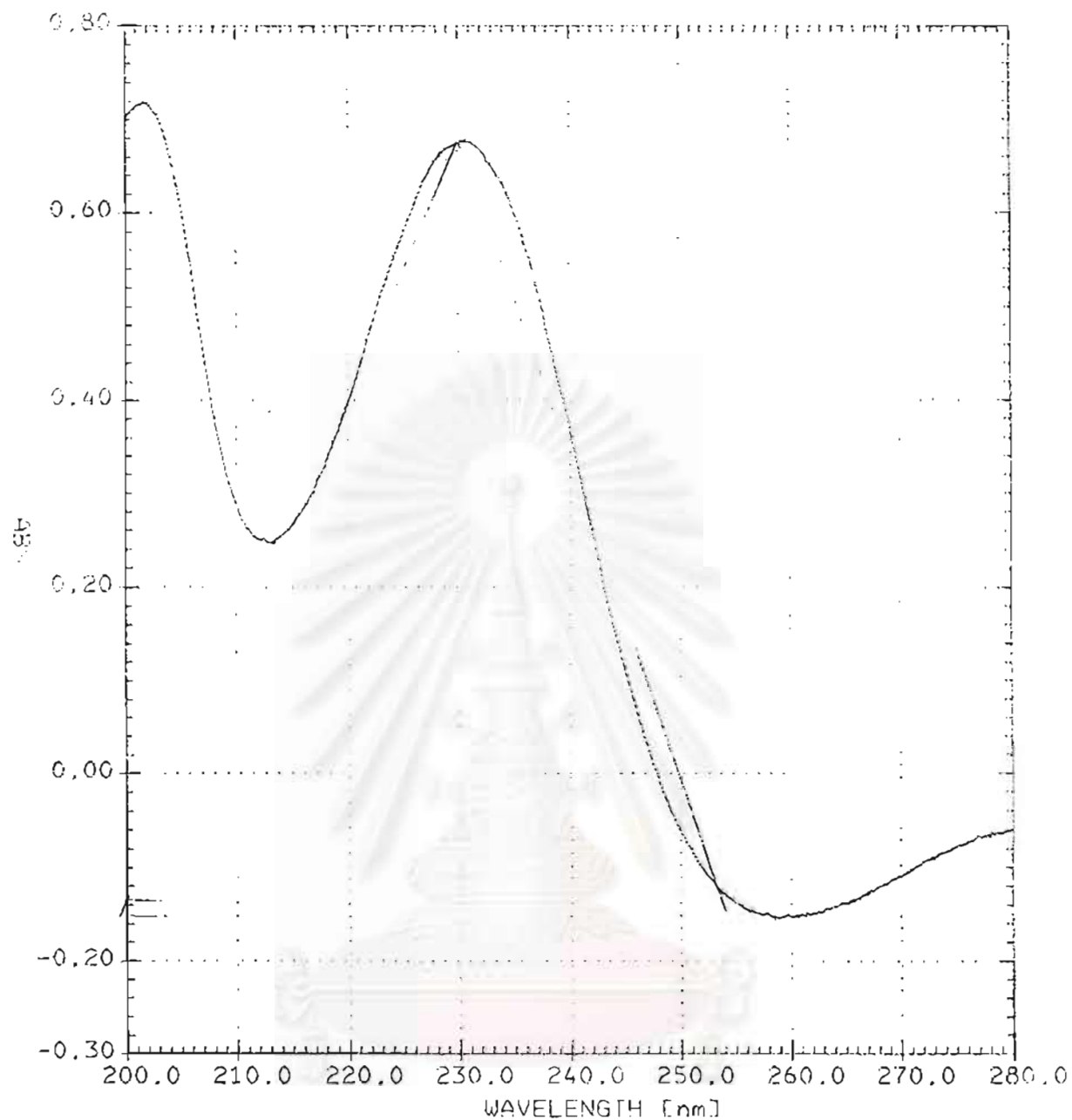
เพียง 0.68 (ดังรูปที่ 5.5) ดังนั้นการวัดอะนิลีนในน้ำเสียโดยวิธีนี้จึงยังทำไม่ได้ อาจเนื่องมาจากมีการรบกวนจากสารอื่นๆ ในน้ำเสียที่ทำให้ค่าที่อ่านได้สูงกว่าความเป็นจริง



รูปที่ 5.3 แสดงกราฟอะนิลีนมาตรฐาน



รูปที่ 5.4 แสดงพื้นที่ใต้พิกของตัวอย่างน้ำเสีย



รูปที่ 5.5 แสดงพื้นที่ใต้พีคของอะนิตินมาตรฐาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

บทที่ 6

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อม Reactive Red 2 ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ในกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก ใน 3 ชุดการทดลองที่มีช่วงเวลาแอนแอโรบิกต่างกันในขณะที่มีช่วงแอโรบิก และช่วงเวลาการตกตะกอนเท่ากันคือ 5 และ 1 ชั่วโมงตามลำดับ โดยในชุดการทดลองที่ 1 มีช่วงเวลาแอนแอโรบิก 10 ชั่วโมง ส่วนในชุดการทดลองที่ 2 และ ชุดการทดลองที่ 3 มีช่วงเวลาแอนแอโรบิก 18 และ 30 ชั่วโมงตามลำดับ โดยสรุปผลการทดลองดังนี้

- การกำจัดสีในหน่วย ADMI และ SU ในทุกชุดการทดลองจะเป็นไปในแนวทางเดียวกันคือ ความสามารถในการกำจัดสี Reactive Red 2 ส่วนมากจะเกิดขึ้นในขั้นตอนแอนแอโรบิก โดยชุดการทดลองที่ 3 มีกำจัดสีในขั้นแอนแอโรบิกสูงสุด รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 2 และ ชุดการทดลองที่ 1 และเมื่อผ่านทั้งระบบก็เช่นเดียวกัน ส่วนในขั้นตอนแอโรบิกจะมีการกำจัดสีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น การกำจัดสีโอดีจะเกิดขึ้นในขั้นตอนแอนแอโรบิกเป็นส่วนใหญ่ และเมื่อผ่านทั้งระบบของทั้ง 3 ชุดการทดลอง การกำจัดสีโอดีจะมีค่าใกล้เคียงกัน
- การกำจัดสี Reactive Red 2 ในขั้นแอนแอโรบิกของทุกชุดการทดลองจะเกิดสารอะนิลีนขึ้นโดยชุดการทดลองที่ 3 จะมีปริมาณ aniline สูงสุด รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 2 และ 1 ตามลำดับ แต่เมื่อผ่านทั้งระบบจะไม่พบสารอะนิลีน

ผลจากการศึกษาจุลินทรีย์ที่มีความสามารถกำจัดสี Reactive Red 2 โดยทำการคัดเลือกแบคทีเรียจากกระบวนการเอสบีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิก สรุปได้ดังนี้

- แบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการกำจัดสีได้ดี พบว่า มี 1 สายพันธุ์ที่เป็น *Pseudomonas* sp. 3 สายพันธุ์ที่เป็น *Klebsiella* sp. และอีก 1 สายพันธุ์ที่เป็น *Proteus* sp. ซึ่งสกุลที่มีความสามารถในการกำจัดสี Reactive Red 2 ในอาหารเหลวสูงสุดคือ *Pseudomonas* sp.
- การกำจัดสี Reactive Red 2 โดยแบคทีเรียที่คัดเลือกจากระบบจะเกิดขึ้นในสภาวะแอนแอโรบิกเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งการกำจัดสีจะเกิดขึ้นเมื่อมีการแตกพันธะอะโซทำให้เกิดสารอะนิลีน ส่วนในสภาวะแอโรบิกจะสามารถกำจัดสีได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

- แบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ที่คัดเลือกมานอกจากจะกำจัดสี Reactive Red 2 ได้แล้วยังสามารถกำจัดอะนิลีนได้เมื่ออยู่ในสภาวะแอโรบิก

ข้อเสนอแนะ

1) ควรทำการศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์ของเชื้อที่มีความสามารถในการกำจัดสี Reactive Red 2 จากการศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดสี Reactive Red 2 โดยแบคทีเรียพบว่ากำจัดสีจะเกิดขึ้นเมื่อมีการแตกพันธะอะโซในโมเลกุลสี ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวน่าจะเกิดขึ้นเนื่องจากเอนไซม์ที่สร้างขึ้นโดยแบคทีเรียที่คัดเลือก ดังนั้นเราควรทำการศึกษาต่อไปว่าการกำจัดสีโดยแบคทีเรียกลุ่มนี้เกิดเนื่องจากเอนไซม์จริงหรือไม่ ถ้าเราทราบว่ากำจัดสีเกิดเนื่องจากเอนไซม์จริง ก็สามารถทำการสกัดเอนไซม์ที่มีความสามารถดังกล่าวและนำมาใส่ระบบได้เลย ซึ่งเอนไซม์ที่ได้จากแบคทีเรียจะมีข้อดีกว่าเอนไซม์ที่ได้จากสัตว์และพืช ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็ว และสามารถเพิ่มผลผลิตได้เร็วโดยวิธีปรับปรุงพันธุกรรมของแบคทีเรีย และนอกจากนี้ยังสามารถปรับสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ได้ง่ายกว่าในพืชและสัตว์ (ทะนง , 2522 อ่างโน รักชนก อีกรวินสุท, 2539)

การผลิตเอนไซม์ของแบคทีเรียจะมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการ เช่น ช่วงการเจริญเติบโตที่เอช อุณหภูมิ สารอาหาร จากการศึกษาของ Stuer และคณะ (1986) อ้างโดย รักชนก อีกรวินสุท (2539) พบว่า ช่วงการเจริญที่เหมาะสมในการผลิตไลเปสจาก *Pseudomonas aeruginosa* คือ ช่วงปลาย Log Phase โดย Extracellular Enzyme ส่วนมากถูกปล่อยออกมาในช่วง Post Exponential Growth Phase ซึ่งเป็นช่วงที่รับสเตรทที่สำคัญเริ่มขาดแคลน นอกจากช่วงการเจริญเติบโตแล้วแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และสารอาหารก็มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ของแบคทีเรีย ส่วนอุณหภูมิและพีเอชนอกจากจะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์แล้วยังมีผลต่อความคงตัวของเอนไซม์ด้วย ซึ่งปัจจัยที่กล่าวข้างต้นนี้ควรได้ทำการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์และการทำงานของเอนไซม์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์

ขั้นตอนการเตรียมและการทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์นั้นมีด้วยกันหลายวิธี เช่น การกรองด้วย Ultrafiltration การตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต Ion Exchange Chromatography และ Gel Filtration เป็นต้น

จากคุณสมบัติที่เหมาะสมของเอนไซม์ที่ได้จากแบคทีเรียในการนำไปประยุกต์ใช้งาน เช่นการเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็ว การปรับปรุงให้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการใช้งานได้ง่าย ทำให้การค้นหาเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติที่ดีในการกำจัดสี Reactive Red 2 หรือมีความเหมาะสมในการใช้งานจึงเป็นงานวิจัยที่นอกเหนือจากจะมีความสำคัญต่อความรู้ความเข้าใจในการศึกษาด้านนี้แล้วยังก่อให้เกิดประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปใช้เพื่อแก้ปัญหาสิ่งแวดล้อม

2) ควรเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดสี Reactive Red 2 เมื่อใช้เชื้อเดี่ยว กับเชื้อที่ผสมกันทั้ง 6 สายพันธุ์

3) ควรนำเชื้อที่คัดเลือกไปทดสอบความสามารถในการกำจัดสีชนิดอื่นๆ เนื่องจากสีย้อมที่ใช้ในอุตสาหกรรมมีอยู่มากมายหลายชนิด

4) ควรศึกษาความสามารถในการกำจัดอะนิลีนของเชื้อที่เวลาต่างๆ โดยติดตามการกำจัด อะนิลีนในแต่ละชั่วโมงเพื่อให้ทราบว่ามีปริมาณอะนิลีน ปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อลิตรถูกกำจัดได้หมดที่เวลาเท่าใด และควรศึกษาทั้งในสภาวะแอนแอโรบิกและแอโรบิก เพื่อหาแบคทีเรียที่มีความสามารถสูงสุดในการกำจัดอะนิลีน

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กรมควบคุมมลพิษ, กรม. 2541. อะนิลีน (Aniline). ตุลาคม.

กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์, กรม. 2542. สถิติการค้าระหว่างประเทศของไทย ปี 2539-2542(ม.ค.-ก.ย.)
กรุงเทพมหานคร. พฤศจิกายน 2542.

จินตนา แป้นสุวรรณ. 2540. การศึกษาเปรียบเทียบสมรรถนะภาพของการกำจัดสีจากน้ำเสียโรงฟอก
ย้อมระหว่างกระบวนการเอสปีอาณันแบบธรรมดา กับแบบเอท/ไอ. วิทยานิพนธ์ปริญญา
มหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นันทยา ยานูเมศ. 2534. กระบวนการผลิตและลักษณะน้ำทิ้งในอุตสาหกรรมสิ่งทอ. การบำบัดน้ำทิ้ง
ของโรงงานอุตสาหกรรมสิ่งทอ 23-40.

นันทยา ยานูเมศ. 1995. ความเป็นพิษและมลพิษของสีย้อมและสารเคมีที่ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ.
Thai Environmental Engineering Journal. กรกฎาคม-สิงหาคม.

ดวงพร คันธโชติ. 2537. อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร.
ไอ.เอส.พรินติ้ง เฮ้าส์.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และ สมคิด วงศ์ชัยสุวรรณ. การเทียบสีน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม I : สีและ
การเห็นสี. วิศวกรรมสาร. ปีที่ 36. เล่มที่ 1. กุมภาพันธ์.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และ วิบูลย์ลักษณ์ วิสุทธิศักดิ์. 2540. คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2.
กรุงเทพมหานคร: เรือนแก้วการพิมพ์.

รักษนก ธีรกวินสกุล. 2539. การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนและการตรวจสอบลักษณะสมบัติของไลเปสจาก
Pseudomonas Aeruginosa. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี คณะ
วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อัจฉราพร ไศละสูต. 2527. คู่มือย้อมสี. กรุงเทพมหานคร: อักษรบัณฑิต.

อังคณา ตูลย์ไตรรัตน์. 2540. สุขภาพและสิ่งแวดล้อมกับการใช้สีอินทรีย์. คัลเลอร์เวย์. 2(มีนาคม-
เมษายน): 29-37.

ภาษาอังกฤษ

- Allen, W., Prescott, W., Derby, R.E., Garland, C.E., Peret, J.M., and Saltzman, M. 1973. Proceeding of the 28th Perdue Industrial Wastewater Conference. Part 2, Purdue University, Lafayette Indiana. :661-675.
- Baumert, KJ., Penney, JC., and Crews, PC. 1996. Influence of household fabric softeners on properties of selected woven fabrics. Textile Chemist and Colorist 28(4): 36-40.
- Brown, D., and Hamburger, B. 1987. The degradation of dyestuffs : Part III – Investigations of Their Ultimate Degradability. Chemosphere. 16(7): 1539-1553.
- Capalash, N., and Sharma, P. 1992. Biodegradation of textile azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. World Journal of Microbiology & Biotechnology 8: 309-312.
- Carliell, CM., Barclay, SL., Naidoo, N., Buckley, CA., Mulholland, DA., and Senior, E. 1995. Microbial decolorisation of a reactive azo dye under anaerobic conditions. Water SA. 21(1): 61-69.
- Chao, WL., and Lee, SL. 1994. Decoloration of azo dyes by three white-rot fungi : influence of carbon source. World Journal of Microbiology & Biotechnology 10: 556-559.
- Greene, JC., and Baughman, GL. 1996. Effects of 46 dyes on population growth of freshwater green alga *Selenastrum capricornutum*. Textile Chemist and Colorist 28(4): 23-30.
- Harmer, C., and Bishop, P. 1992. Transformation of azo dye AO-7 by wastewater biofilms. Wat. Sci. Tech. 26(3): 627-636.
- Horissu, H., Takada, M., Idaka, E., Tomoyeda, M. and Ogawa, T. 1977. Degradation of p-Aminoazobenzene by *Bacillus subtilis*. European J. Appl. Microbiol. 4: 217-224.
- Lyberatos, G. and Zissi, U. 1996. Azo-dye biodegradation under anoxic conditions. Wat. Sci. tech. 34(5-6) : 495-500.
- Mino, T., Liu, W.T., Kurisu, F. and Matsuo, T. 1995. Modelling Glycogen Storage and Denitrification Capability of Microorganisms in Enhanced Biological Phosphate Removal Process. Wat. Sci. Tech. 31(2) : 25-34.
- Nigam, P., Singh, D. and Marchant, R. 1995. An investigation of the biodegradation of textile dyes by aerobic and anaerobic microorganism. Environmental Biotechnology 278-293.
- Nigam, P., Banat, IM., Singe, D., and Marchant, R. 1996. Microbial process for the decolorisation of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes. Process Biochemistry 31(5): 435-442.

- Nigam, P., McMullan, G., Banat, I.M., and Marchant R. 1996. Decolorisation of effluent from the textile industry by a microbial consortium. Biotechnology Letters 18(1): 117-120.
- Nigam, P., Singh, D. and Marchant, R. 1995. An investigation of the biodegradation of textile dyes by aerobic and anaerobic microorganism. Environmental Biotechnology 278-293.
- Omil, F., Bakker, C.D., Hulshoff, L.W., and Leinga, G. 1996. Effect of pH and low temperature shocks on the competition between sulphate reducing bacteria and methane producing bacteria in UASB reactor. Environmental Technology 18: 255-263.
- Oxspring, D.A., McMullan, G., Smyth, W.F., and Marchant, R. 1996. Decolorisation and metabolism of the reactive textile dye, Remazol Black B, by an immobilized consortium. Biotechnology Letters 18(5): 527-530.
- Pastri-Grigsby, M. B., Burke, N.S., Goszczynski, S. 1996. Transformation of Azo Dye Isomers by *Streptomyces chromofuscus* A11. Applied and Environmental Microbiology 62(5) : 1814-1817.
- Peres, C.M., Naveau, H., and Agathos, S. N. 1998. Biodegradation of nitrobenzene by its simultaneous reduction in to aniline and mineralization of the aniline formed. Appl Microbiol Biotechnol. 49: 343-349.
- Polman, J.K., and Breckenridge, C.R. 1996. Biomass-mediated binding and recovery of textile dyes from waste effluents. Textile Chemist and Colorist 28(4): 31-35.
- Rahman, R.A. 1991. Factor analysis for identification of most influential variables for the growth of biodecolorisation culture. Environmental Technology 12: 609-615.
- Rangnekar, D.W., and Singh, P.P. 1980. An introduction to synthetic dyes. Bombay: Himalaya Publishing House.
- Razo-Flores, E., Luitjen, M., Donlon, B.A., Lettinga, G. and Field, A.J. 1997. Complete biodegradation of Azo dye Azodisalicylate under Anaerobic condition. Environ. Sci. Technol. 31(7) : 2098-2103.
- Reife, A. and Freeman, H.S. 1996. Environmental Chemistry of Dyes and Pigment. Wiley&sons. Inc.
- Spadaro, J.S., Gold, M.H. and Renganathan, V. 1992. Degradation of azo dyes by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Applied and Environmental Microbiology 58(8) : 2397-2401.

- Spadaro, J.T., Renganathan, V. 1994. Peroxidase-catalyzed oxidation of azo dyes : mechanism of disperse yellow 3 degradation. Chemistry and Biophysics July : 301-307.
- Tai-Lee, H., 1996. Removal of reactive dyes from aqueous solution by different bacterial genera. Wat. Sci. tech. 34(10): 89-95.
- Tang, WZ., Zhang, Z., An, H., Quintana, MO., and Torres, DF. 1997. TiO₂/UV Photodegradation of azo dyes in aqueous solutions. Environmental Technology 18: 1-12.
- Tanghe, T., Dhooge, W. and Verstraete, W. 1999. Isolation of a bacterial strain able to degrade branched Nonylphenol. Applied and Environmental Microbiology 65(2): 746-751.
- Wong, P. K. and Yuen, P. Y. 1996. Decolorization and biodegradation of methyl red by *Klebsiella Pneumoniae* RS-13. Wat. Res. 30(7): 1736-1744.
- Wuhrmann, K., Mechsner, Kl., and Kappeler, Th. 1980. Investigation on Rate-Determining Factors in the microbial reduction of azo dyes. European J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 9: 325-338.
- Zaoyan, Y., Ke, S., Guangliang, s., Fan, Y., Jinshan, D., and Huanian, M. 1992. Anaerobic-Aerobic Treatment of a Dye Wastewater by combination of RBC with Activated sludge. Wat. Sci. Tech. 26(9-11): 2093-2096



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตาราง ก แสดงสินค้าออกสำคัญ 10 อันดับแรกของไทย ปี 2538-2542 (ม.ค.-ก.ย.)

ประเภท	2538	2539	2540	2541	2542(ม.ค.-ก.ย.)
1. เครื่องคอมพิวเตอร์ อุปกรณ์และ ส่วนประกอบ	131,241.9	167,673.9	220,302.7	320,525.6	221,367.3
2. เสื้อผ้าสำเร็จรูป	102,019.3	79,875.4	97,135.9	123,133.0	79,128.3
3. แผงวงจรไฟฟ้า	58,181.8	58,538.6	75,837.7	93,833.1	76,601.2
4. ยานพาหนะ อุปกรณ์ และส่วน ประกอบ	27,760.7	29,230.9	48,419.6	68,348.4	64,303.0
5. ข้าว	48,626.8	50,734.8	65,093.4	86,803.1	51,533.4
6. อาหารทะเลกระป๋อง	33,294.8	34,244.3	49,309.3	67,952.1	44,337.9
7. อัญมณีและเครื่องประดับ	52,498.6	54,272.9	55,622.3	57,350.5	40,899.9
8. กุ้งสดแช่เย็น แช่แข็ง	50,302.0	43,404.5	47,183.9	58,343.3	33,653.7
9. เม็ดพลาสติก	10,889.3	10,664.3	23,980.2	40,786.3	33,424.7
10. เครื่องรับวิทยุและโทรทัศน์และส่วน ประกอบ	31,589.2	34,626.8	43,578.8	58,058.2	32,022.5
รวมสินค้า 10 รายการ	546,404.3	563,266.4	726,463.8	975,133.6	677,272.1
สินค้าอื่นๆ	859,905.8	847,772.9	1,080,218.2	1,272,955.8	896,282.4
มูลค่าส่งออกรวม	1,406,310.1	4,411,039.3	1,806,682.0	2,248,089.4	1,573,554.5

ที่มา : ศูนย์สารสนเทศเศรษฐกิจการค้า โดยความร่วมมือจากกรมศุลกากร

ภาคผนวก ข

ตาราง ข สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนต่างๆ ในกระบวนการฟอกย้อม

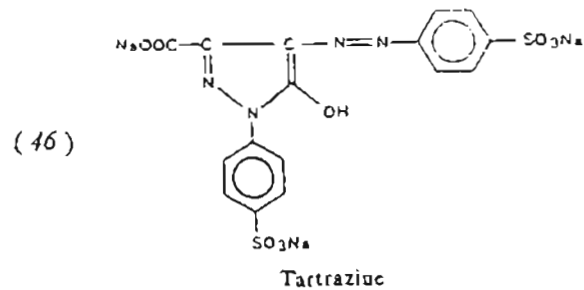
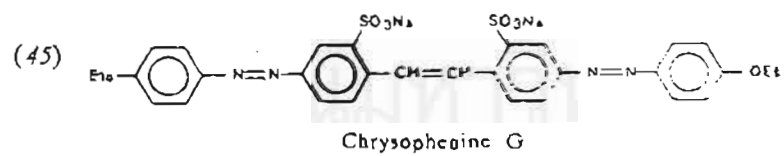
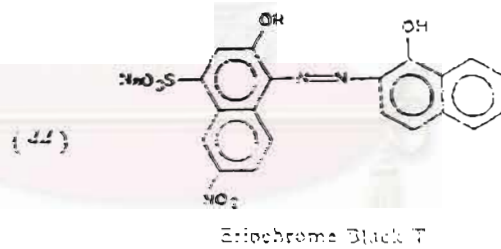
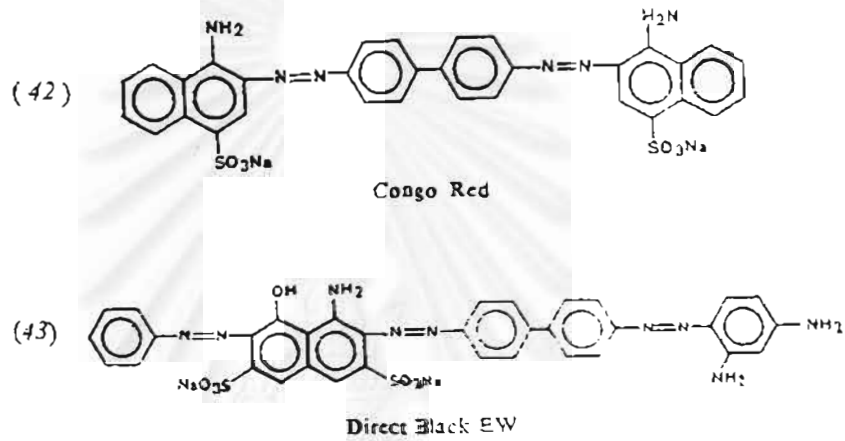
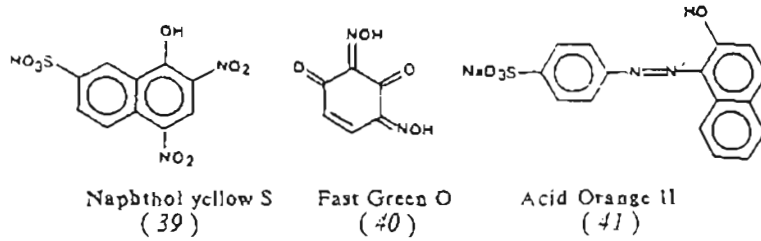
PREPARATION			DYEING	FINISHING
Desizing	Scouring	Bleaching		
Acids	Acids	Acids	Acids	Acids
Alkalis	Alkalis	Activators	Alkalis	Adhesives
Detergent	Antifoam agents	Alkalis	Antifoam agent	Alkalis
Electrolytes	Detergents	Anti-corrodants	After treatments	Antifoam agents
Enzymes	Emulsifiers	Fluorescent	Bloking agents	Antislip
Oxidizing agents	Solvents	brightening agent	Carriers	Binders
solvents	Spotting acids	Fume suppressor	Dispersing agents	Coatings
		Oxidation bleaching agent	Electrolytes	Catalysts
		Reduction bleaching agents	Emulsifier	Defustrants
		Sequestrants stabilizer	Fixing agents	Electrolytes
			Gas fading inhibitors	Filter
			Levelling agents	Handle modifier
			Lubricants	Flame retardants
			Mordants	Hygiene finishes
			Oxidizing agents	Latices
			Reducing agents	Lubricants
			Retarding agents	Mercirizing assistant
			Sequestrants	Milling assistants
			Solvents	Mildewcides
			Wetting penetrating agents	Mothproofing agents
				Oil release-repellent
				Resins-thermosetting
				Linear and cyclic reactants
				Rotproofing agents
				Setting agents
				Stiffening agents
				Scrooping agent
				Shrink-resist finishes
				Soil release-repellent
				Stain release-repellent
				Weighting agents

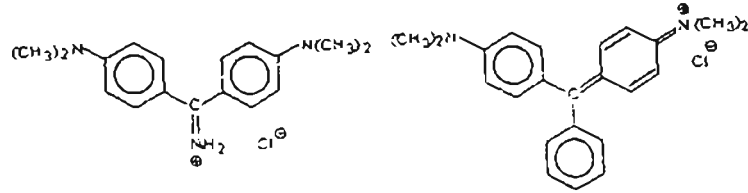
ภาคผนวก ค

ตาราง ค การจำแนกประเภทของสิ่งสกปรกเจือปนในน้ำทิ้งตามระดับ BOD และความยากง่ายในการย่อยสลายทางชีวภาพ

<p>Relatively harmless inorganic contaminants</p> <p>Alkalis</p> <p>Mineral acids</p> <p>Neutral salts (chlorides, sulphates, phosphates, silicates)</p> <p>Oxidizing agents (hydrogen peroxide, chlorine dioxide)</p>
<p>Moderate to high BOD but readily biodegradable</p> <p>Starch sizes</p> <p>Vegetable oils, fats and waxes</p> <p>Biodegradable surfactants (linear alkyl anionics, short-chain EQ adducts)</p> <p>Organic acids (formic, acetic, oxalic)</p> <p>Reducing agents (sulphides, sulphates, thiosulphates)</p>
<p>Dyes and polymers difficult to biodegrade</p> <p>Dyes and fluorescent brighteners</p> <p>Most fibres and polymeric impurities</p> <p>Polyacrylate sizes</p> <p>Synthetic-polymer finishes (crease-resist, shrink-resist, flame-retardant, fluorocarbon)</p> <p>Silicones (antifoams, water-repellents)</p>
<p>Moderate BOD and difficult to biodegrade</p> <p>Wool grease</p> <p>Polyvinyl alcohol sizes</p> <p>Starch ethers and esters</p> <p>Mineral oil (spin finishes)</p> <p>Surfactants resistant to biodegradation (branched alkyl or aryl anionics, long-chain EQ adducts)</p>
<p>Negligible BOD but unsuitable for conventional biological treatment</p> <p>Formaldehyde and N-methylol reactants</p> <p>Chlorinated solvents and carriers</p> <p>Cationic retarders and softeners</p> <p>Biocides (pentachlorophenol, organometal complexes insecticides)</p> <p>Sequestering agents (EDTA, NTA)</p> <p>Heavy-metal salts (Cr, Cu, Hg, Cd, Sb)</p>

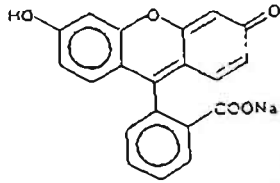
ภาคผนวก ง
สูตรโครงสร้างสีบางชนิด



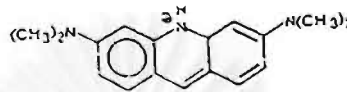


Auramine O
(47)

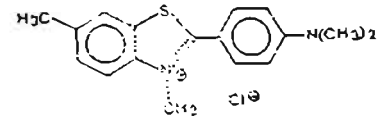
Malachite Green
(48)



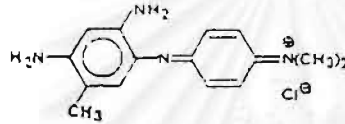
Fluorescein
(49)



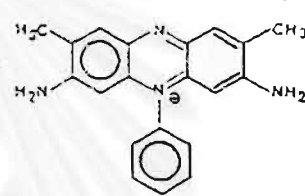
Acridine Orange NO
(50)



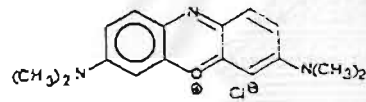
Basic Yellow T
(51)



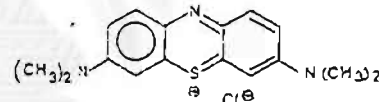
Toluidine Blue
(52)



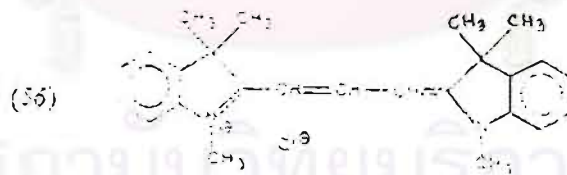
Safranin T
(53)



Capri Blue GN
(54)

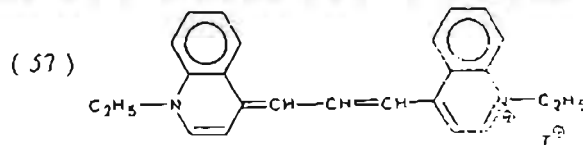


Methylene Blue
(55)



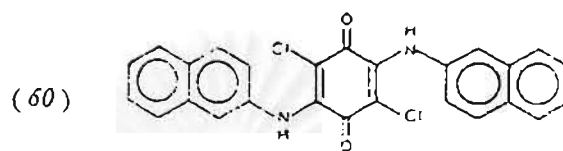
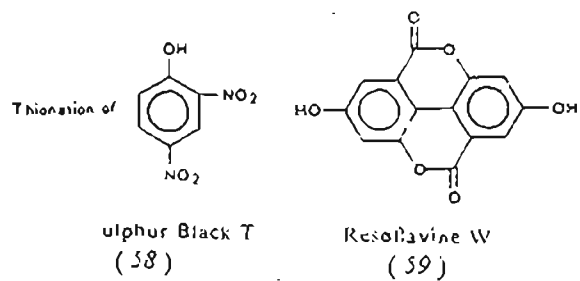
(56)

Azorubine 7B

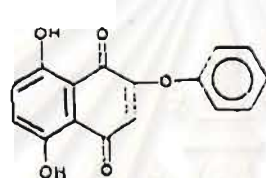
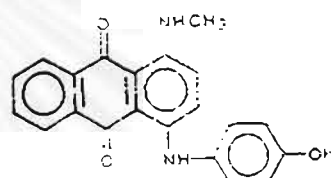
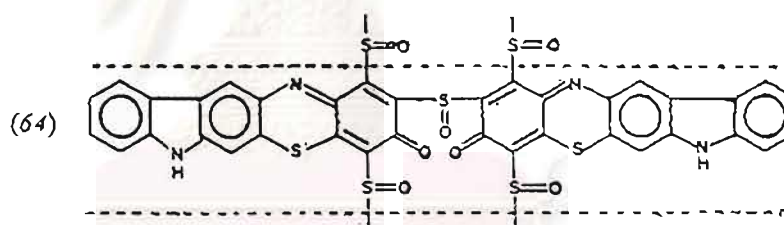


(57)

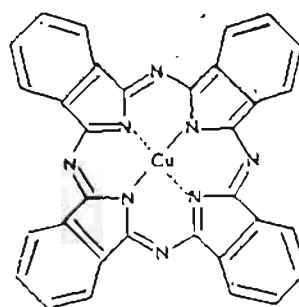
Kryptocyanine



Heliodon Brown CR

Alizarin Dark Green W
(61)Perlon Fast Green BR
(62)

Hydron Blue R

Monostral Fast Blue BS
(65)

ภาคผนวก จ

วิธีวิเคราะห์ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand, COD) โดยวิธีรีฟลักซ์แบบปิด (Closed Reflux)

การวิเคราะห์หาค่าซีโอดีเป็นการวัดความสกปรกของน้ำเสีย โดยปรกติคิดเปรียบเทียบในรูปของปริมาณออกซิเจนที่ต้องการใช้ในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ โดยใช้สารเคมีที่มีอำนาจในการออกซิไดส์สูงในสารละลายที่เป็นกรด การวิเคราะห์อาจเลือกใช้วิธีรีฟลักซ์แบบเปิด (Open reflux) ซึ่งสามารถใช้ได้กับของเสียชนิดต่างๆ ที่สามารถเก็บตัวอย่างจำนวนมากได้ หรือใช้วิธีรีฟลักซ์แบบปิด (Close reflux) ซึ่งเป็นวิธีที่ประหยัดกว่าในการใช้ metallic salt reagents โดยตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ต้องมีเนื้อเดียวกัน

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ภาชนะที่ใช้ในการย่อยสลาย (digestion vessel) ใช้หลอดทดลองที่เป็นบอโรซิลิเกตขนาด 25×150 มม. พร้อมฝาจุกที่บุด้วย TFE
2. ฮีตดิงบล็อก (heating block) เป็นอลูมิเนียมหล่อที่มีช่องหลาย ๆ ช่อง เป็นช่องที่จะให้หลอดตั้งอยู่ได้พอดี
3. เครื่องให้ความร้อนหรือเตาอบ (block heater or oven) ให้ความร้อนอยู่ในช่วง 150 ± 2 องศาเซลเซียส

รีเอเจนต์

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.0167 โมลาร์
ซึ่งสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิโพแทสเซียมไดโครเมต 4.913 กรัมซึ่งถูกทำให้แห้งในเตาอบอุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถแห้ง ใสลงในน้ำกลั่นประมาณ 500 ลบ.ซม. ค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 167 ลบ.ซม. เติมเมอร์คิวริกซัลเฟต 33.3 กรัม คลนให้ละลายตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเจือจางให้มีปริมาตรเป็น 1,000 ลบ.ซม. ด้วยน้ำกลั่น
2. กรดซัลฟิวริกรีเอเจนต์
ละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 22 กรัม ลงในซัลฟิวริกเข้มข้น 1 ขวด ซึ่งมีน้ำหนัก 4.0 กิโลกรัม (ต้องใช้เวลาละลาย 1-2 วัน)
3. สารละลายเฟอโรอินดิเคเตอร์ (ferroin indicator solution)

ละลายไอร์ออน (II) ซัลเฟตเฮปต้าไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.695 กรัม และ 1,10 ฟีนแอนโทรีนโมโนไฮเดรต [1,10 phenanthroline monohydrate ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{H}_2\text{N}_2\text{O}$)] 1.485 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำให้เจือจางเป็น 100 ลบ.ซม.

4. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

ละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต [$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 (\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$] 39.2 กรัม ในน้ำกลั่นประมาณ 500 ลบ.ซม. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 ลบ.ซม. คนให้ละลาย ทิ้งให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 1,000 ลบ.ซม. สารละลายนี้ต้องเทียบมาตรฐานกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตที่ใช้ในการย่อยสลายทุกครั้งที่น่ามาใช้ เติมสารเคมีตามตารางที่ 3.3 ในภาชนะย่อยสลายแต่ใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่าง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วไทเทรตด้วยเอฟเอเอส ใช้เฟอร์รีนเป็นอินดิเคเตอร์ 0.05-0.1 ลบ.ซม. ทำประมาณ 2 หลอด ไทเทรตจนถึงจุดยุติสีจะเปลี่ยนจากฟ้าอมเขียวเป็นน้ำตาลแดง

การคำนวณ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต (FAS)

$$\text{โมลาริตีของเอฟเอเอส} = \frac{\text{ปริมาตรของ } \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \times 0.0167}{\text{ปริมาตรเอฟเอเอสที่ใช้ไทเทรต}}$$

ปริมาตรเอฟเอเอสที่ใช้ไทเทรต

ตารางที่ 3.3 ปริมาณตัวอย่างและรีเอเจนต์ที่ใช้สำหรับขนาดต่างๆ ของภาชนะที่ใช้ในการย่อยสลาย

ขนาดหลอด	ตัวอย่างน้ำ(ลบ.ซม.)	สารละลายในการย่อยสลาย	กรดซัลฟิวริกเอเจนต์ (ลบ.ซม.)	ปริมาตรทั้งหมด
16*100 มม.	2.5	1.5	3.5	7.5
20*150 มม.	5.0	3.0	7.0	15.0
25*150 มม.	10.0	6.0	14.0	30.0

5. กรดซัลฟามิคเพื่อแก้สารแทรกสอดเนื่องจากไนโตรท์ โดยใช้กรดซัลฟามิค 10 มก. เพื่อกำจัดไนโตรท์ทุกๆ 1 มก. โดยใช้ในภาชนะย่อยสลายก่อนนำไปรีฟลักซ์

6. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลท ($\text{HOCC}_6\text{H}_4\text{COOK}$) ซึ่งอบที่ 120 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ 425 มก. ในน้ำกลั่น เจือจางจนมีปริมาตร 1,000 ลบ.ซม.

วิธีวิเคราะห์

1. ล้างหลอดย่อยสลายและฝาจุกด้วยกรดซัลฟิวริกร้อยละ 20 ก่อนนำไปใช้ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนด้วยสารอินทรีย์
 2. เลือกใช้ปริมาตรของตัวอย่างน้ำและสารเคมีที่เหมาะสมตามตารางที่ 3.3
 3. นำตัวอย่างน้ำมาใส่หลอดย่อยสลาย เติมสารละลายที่ใช้ในการย่อยสลายซึ่งได้แก่สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต
 4. ค่อยๆ เทกรดซัลฟิวริกเอเจนต์ให้ไหลลงกันหลอดแก้ว เพื่อให้ชั้นของกรดอยู่ใต้ชั้นตัวอย่างน้ำและน้ำย่อยสลาย
 5. ปิดจุกหลอดแก้วให้แน่น แล้วคว่ำหลอดแก้วไปมาหลายๆ ครั้งเพื่อผสมกันให้ทั่วถึง
 6. นำหลอดเหล่านี้ไปใส่ในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 2 ชม. แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
 7. เปิดฝาจุกใส่แท่งแม่เหล็กที่หุ้มด้วยทีเอฟอี เติมเฟอโรอินอินดิเคเตอร์ประมาณ 0.05-0.1 ลบ.ซม. (1-2 หยด) คนโดยใช้เครื่องกวนชนิดใช้แม่เหล็กอย่างรวดเร็วในขณะที่ไทเทรตด้วย 0.1 โมลาร์เอพเอเอส จุดยุติจะเปลี่ยนอย่างรวดเร็วจากฟ้าอมเขียวเป็นน้ำตาลแดง และต้องทำรีฟลักซ์และไทเทรตแบบลงค์ที่มีรีเอเจนต์กับน้ำกลั่นในปริมาตรเท่ากับตัวอย่างน้ำด้วย
- การคำนวณ

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

โดย A = ลบ.ซม. ของเอพเอเอสที่ใช้ในการไทเทรตแบบลงค์

B = ลบ.ซม. ของเอพเอเอสที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่างน้ำ

M = โมลาริตีของเอพเอเอส

ภาคผนวก จ

การย้อม gram stain

- 1) smear เชื้อ โดยหยดน้ำบนสไลด์ ใช้ loop ตักเชื้อจำนวนเล็กน้อยแล้วเกลี่ยให้เป็นแผ่นฟิล์มบางโดยวน loop ไปทางเดียวกัน
- 2) Air dry แล้ว heat fix ด้วยเปลวไฟ 4-6 ครั้ง
- 3) นำไปย้อม gram stain ที่อ่างน้ำดังวิธีต่อไปนี้
 - หยด Gram Crystal Violet จนท่วม smear ทิ้งไว้ให้เกิดการย้อม 1 นาที
 - ล้างสีย้อมออกโดยให้น้ำประปาไหลผ่านช้าๆ แล้วย้อมต่อทันที
 - หยด Gram Iodine จนท่วม smear ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา 1 นาที
 - ล้าง Gram Iodine ออกโดยให้น้ำประปาไหลผ่านช้าๆ
 - Decolorization โดยเชียงสไลด์แล้วหยด 95 % ethanol เป็นเวลา 10-15 วินาที หรือจนสังเกตพบว่าไม่มีสีน้ำเงินละลายออกมากับ ethanol อีก
 - ล้างสไลด์ด้วยน้ำประปาไหลผ่านช้าๆ
 - ย้อมซ้ำด้วย Gram Safanin O จนท่วม smear นาน 30 นาที
 - ล้างสไลด์ด้วยน้ำประปาไหลผ่านช้าๆ คอยจนสไลด์แห้ง
- 4) ส่องดูด้วย oil-immersion objective lens

ภาคผนวก ข

สูตรอาหารที่ใช้ในการจำแนกแบคทีเรีย

อาหารทุกสูตรใช้ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร เว้นไว้แต่อาหารที่บอกไว้เฉพาะ

motility test medium

tryptone	10.0	gm
Sodium Chloride	5.0	gm
Agar	15.0	gm

Hugh and Liefson' s O.F medium

Peptone	2.0	gm
K ₂ HPO ₄	0.3	gm
NaCl	5.0	gm
Agar	3.0	gm
Bromthymon blue 0.2 % aq. sol ⁿ	15.0	gm

ละลายส่วนประกอบ basal medium แล้วปรับ pH ให้ได้ประมาณ 7.1 เติม bromthymol blue 1.6% จำนวน 4 มิลลิลิตร ลงไปเป็น indicator เติม glucose 10 กรัมผสมลงในอาหาร สีของอาหารจะเป็นสีเขียวแกมน้ำเงิน บรรจุใส่หลอดทดลองทดสอบประมาณ 6-7 มิลลิลิตร นำไปนิ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอน้ำ 115 องศาเซลเซียสความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 20 นาที

Nitrate brote (Difco)

Bacto- Beef extract	3.0	gm
Bacto-peptone	5.0	gm
Potassium nitrate	1.0	gm

Nutrient gelatin medium

Beef extract	3.0	gm
Peptone	5.0	gm
Gelatin	120.0	gm

Tryptone broth

Tryptone	10.0	gm
----------	------	----

MR –VP medium (difco)

Buffered Peptone	7.0	gm
------------------	-----	----

Dipotassium Phosphate	5.0	gm
-----------------------	-----	----

Bacto – Dextrose	5.0	gm
------------------	-----	----

PH 6.9 ที่ 25 °c

Simmons' citrate agar (Difco)

MnSO ₄	0.2	gm
-------------------	-----	----

(NH ₄) ₂ PO ₄	1.0	gm
---	-----	----

K ₂ HPO ₄	1.0	gm
---------------------------------	-----	----

NaCl	5.0	gm
------	-----	----

Sodium citrate	2.0	gm
----------------	-----	----

Bacto – Bromthymol blue	0.08	gm
-------------------------	------	----

Bacto – Agar	15.0	gm
--------------	------	----

PH 6.8 ที่ 25°C

Litmus milk (Difco)

Bacto –skim milk	100.0	gm
------------------	-------	----

Bacto- litmus	0.75	gm
---------------	------	----

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วทำให้เย็นทันที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

TSI agar (Difco)		
Bacto- Beef extract	3.0	gm
Bacto- Yeast extract	3.0	gm
Bacto- Peptone	15.0	gm
Proteose- Peptone	5.0	gm
Bacto- Lactose	10.0	gm
Saccharose	10.0	gm
Bacto- Dextrose	1.0	gm
Ferrous sulfate	0.2	gm
Sodium chloride	5.0	gm
Sodium thiosulfate	0.3	gm
Bacto- Phenol Red	0.024	gm
Bacto- Agar	12.0	gm
PH 7.4 ที่ 25°		



สารเคมี (reagents) ที่ใช้ในการทดสอบ

3% Hydrogen peroxide solution

H ₂ O ₂	3.0	กรัม (คำนวณจากฉลากข้างขวด)
H ₂ O	100	มิลลิลิตร

Kovac's solution

Para- dimethyl- amino benzaldehyde	5.0	กรัม
Amyl or butyl alcohol	75	มิลลิลิตร
HCL, concentrate	25 ,	มิลลิลิตร

Methyl red solution

Methyl red	0.8	กรัม
Ethnol 95%	300	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

ละลายสี methyl red ใน 95% ethanol แล้วจึงเติมน้ำกลั่น

Nitrate test solution

Solution A:

Sulphanilic acid	0.8	กรัม
5 N. acetic acid	100	มิลลิลิตร

ละลาย Sulphanilic acid ใน 5 N. acetic acid โดยใช้ความร้อนช่วย

Tetra- methyl- para- phenylene diamine hydrochloride solution

Tetra-methyl-p- phenylene diamine hydrochloride	10	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลาย tetra – methyl – p – phenylenediamine hydrochloride ในน้ำกลั่น นำสารละลายใส่ขวดสีน้ำตาล เก็บในตู้เย็น ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินใช้ในการทดสอบไม่ได้

Voges – Proskauer test solution

Solution A :

Alpha naphthol	10	กรัม
Ethanol 95%	100	มิลลิลิตร
ละลาย alpha naphthol ใน 95% ethanol เก็บใส่ขวดสีชา		

Solution B :

KOH	20	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
ละลาย KOH ในน้ำกลั่น เก็บในขวดสีน้ำตาล		

Bromthymol blue solution 1.6%

Bromthymol blue	1.6	กรัม
Ethyl alcohol	100	มิลลิลิตร

ภาคผนวก ฉ

ฉ-1 เปรียบเทียบความสามรถในการกำจัดสีหน่วย ADMI ของ ชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3
ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

Source of variation	Degree of freedom	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
SOV	df	SS	MS	F	
ระหว่างกลุ่ม	2	8257.039	4128.519	239.403	0
ภายในกลุ่ม	27	465.616	17.245		
รวม	29	8722.655			

ฉ-2 เปรียบเทียบความสามรถในการกำจัดสีหน่วย SU ของ ชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3
ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

Source of variation	Degree of freedom	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
SOV	df	SS	MS	F	
ระหว่างกลุ่ม	2	6236.53	3118.265	255.259	0
ภายในกลุ่ม	27	373.927	13849		
รวม	29	6610.457			

ฉ-3 ความสัมพันธ์ของสีหน่วย ADMI และ SU ของชุดการทดลองที่ 1

Model	R	R Square	Adjusted R Square
1	1.000	1.000	1.000

a Predictors: (Constant), ADMI16

ANOVA

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Regression	102756.22	1	102756.2166	6057.511669	0.008179
Residual	16.96	1	16.96343683		
Total	102773.18	2			

a Predictors: (Constant), ADMI16

b Dependent Variable: SU16

Coefficients

	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients
	B	Std. Error	Beta
(Constant)	163.639	8.097	
ADMI16	0.021	0.000	1.000

a Dependent Variable: SU16

๘-4 ความสัมพันธ์ของสินนาย ADMI และ SU ของชุดการทดลองที่ 2

Model Summary

	R	R Square	Adjusted R Square
Model			
1	0.999376587	0.998753563	0.997507125

a Predictors: (Constant), ADMI24

ANOVA

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Regression	287580.1	1	287580.1	801.287	0.022
Residual	358.9	1	358.9		
Total	287939.0	2			

a Predictors: (Constant), ADMI24

b Dependent Variable: SU24

Coefficients

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients
	B	Std. Error	Beta
(Constant)	168.2817973	18.62084134	
ADMI24	0.021001101	0.000741905	0.999376587

a Dependent Variable: SU24

ผ-5 ความสัมพันธ์ของสินทรัพย์ ADMI และ SU ของชุดการทดลองที่ 3

Model Summary

	R	R Square	Adjusted R Square
Model			
1	0.999851361	0.999702744	0.999405488

a Predictors: (Constant), ADMI36

ANOVA

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Regression	368850.67	1	368850.67	3363.10	0.010977
Residual	109.68	1	109.68		
Total	368960.35	2			

a Predictors: (Constant), ADMI36

b Dependent Variable: SU36

Coefficients

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients
	B	Std. Error	Beta
(Constant)	155.562	8.937	
ADMI36	0.021	0.000	0.999851361

a Dependent Variable: SU36

ฅ-6 ความสัมพันธ์ของสินน้ำย ADMI และ SU ของทุกชุดการทดลอง

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square
1	0.999599947	0.999200055	0.999085777

a Predictors: (Constant), ADMI

ANOVA

Model	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Regression	843939.334	1	843939.334	8743.597	1.1E-10
Residual	675.646	7	96.521		
Total	844614.980	8			

a Predictors: (Constant), ADMI

b Dependent Variable: SU

Coefficients

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients
		B	Std. Error	Beta
1	(Constant)	161.3849744	6.010849447	
	ADMI	0.021044273	0.000225055	0.999599947

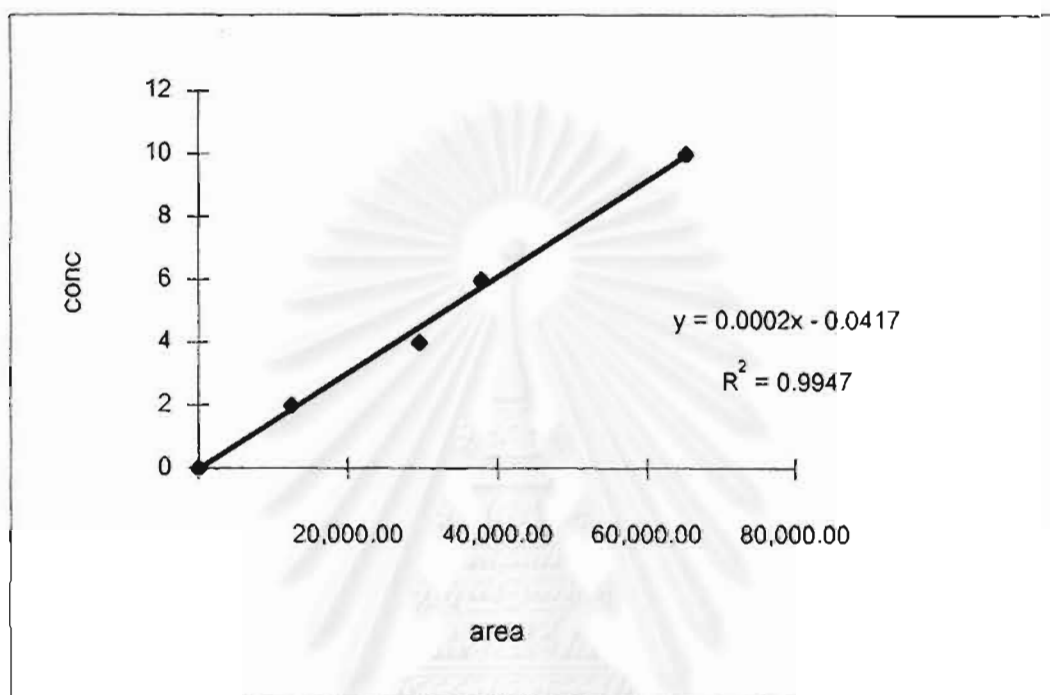
a Dependent Variable: SU

ฅ-7 เปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดซีไอดี ของ ชุดการทดลองที่ 1, 2 และ 3

ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

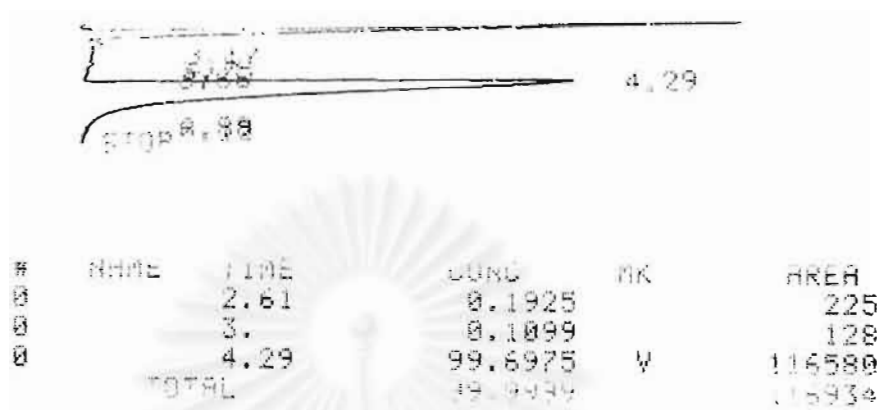
Source of variation	Degree of freedom	Sum of square	Mean Square	F	Sig.
SOV	df	SS	MS	F	
ระหว่างกลุ่ม	2	8.276	4.138	14.499	0
ภายในกลุ่ม	27	7.706	0.285		
รวม	29	15.983			

ภาคผนวก ญ
กราฟมาตรฐานอะนินีน



ภาคผนวก ฏ

ตัวอย่างผลการทดสอบสารอะนิลีนโดย HPLC



รูปที่ ฏ-1 แสดงผลการฉีดอะนิลีนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ ฏ-2 แสดงผลการฉีดตัวอย่างน้ำที่ผ่านการกำจัดสีในสภาวะแอนแอโรบิก

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวมาลิกา เนียมมณี เกิดเมื่อ วันที่ 11 ธันวาคม พ.ศ. 2516 ที่จังหวัดสมุทรสาคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ในปีการศึกษา 2537 และได้เข้าศึกษาต่อ ในสหสาขาวิชา วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่ปีการศึกษา 2539

