การลดความเข้มและการย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน

Decolorization and Biodegradation of Amido Black using Activated Sludge under Aerobic and Aerobic Denitrifying Conditions

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์,[1*] ไตรมาศ บุญไทย[2] และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย[3]

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยาและโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

[2]สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

[3]ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

*Email: subunti@buu.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาถึงการลดความเข้มสีและการย่อยสลายสีอะมิโดแบล็ค ณ ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ ด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน เป็นระยะเวลา 10 วัน โดยมีการเติมเมทานอล 0.1 และ 0.2 มิลลิลิตร ในวันที่ 5 และ 7 ของการทดลอง ผลการทดลองพบว่าตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชันมีความสามารถในการลดความเข้มสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้นเพียง 0.1 มิลลิโมลาร์ เท่านั้น โดยสามารถลดสีจากระดับ 10 เป็นระดับ 1 และจากระดับ 10 เป็นระดับ 3 ตามลำดับ โดยมีเมทานอลเป็นแหล่งคาร์บอนที่ทำให้เกิดกระบวนการ Co-metabolism แต่อย่างไรก็ตามสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0-10.0 มิลลิโมลาร์ ตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะไม่สามารถลดความเข้มสีลงได้ ส่วนความสามารถในการย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คได้ทำการประเมินด้วยการวัดปริมาณก๊าซทั้งหมด จากผลการทดลองพบว่าในระยะเวลาการศึกษา 1 วัน ตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนสามารถย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้น 0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ ได้บางส่วน โดยพบก๊าซทั้งหมดเท่ากับ 0.2, 0.150, 0.1 และ 0.1 มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนั้นยังพบว่าตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะสามารถย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ได้อย่างต่อเนื่อง โดยพบก๊าซทั้งหมดในวันที่ 6 และ 7 ของการทดลอง ส่วนสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้นสูงกว่านี้ไม่พบก๊าซอีกเลย ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะมีความสามารถในการลดความเข้มสีและย่อยสลายได้เฉพาะสีอะมิโดแบล็คที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ เท่านั้น โดยมีเมทานอลเป็นแหล่งคาร์บอนอีก 1 ชนิด เพื่อทำให้เกิดกระบวนการ Co-metabolism และตะกอนเร่งสภาวะที่มีออกซิเจนสามารถลดสีได้มากกว่าตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน

คำสำคัญ: สีอะมิโดแบล็ค ตะกอนเร่ง สภาวะที่มีออกซิเจน สภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน ก๊าซทั้งหมด

Abstract

In the present study, decolorization and biodegradation of amido black at 0.1, 1.0, 5.0 and 10.0 mM using activated sludge under aerobic and aerobic denitrifying conditions were investigated for 10 days. At day 5 and 7 of the experiment, methanol was added for 0.1 and 0.2 mL, respectively. Results showed that activated sludges under aerobic and aerobic denitrifying conditions were capable of decolorizing 0.1 mM amido black only. They could reduce the color intensity from 10 to 1 and from 10 to 3, respectively. Methanol was used as carbon source for co-metabolism process. However, the activated sludges under both conditions were unable

to decolorize amido black at 1.0 – 10.0 mM. For ability of amodo black biodegradation assessed by measurement of total gas production, aerobic activated sludge degrade partial amido black at all tested concentrations (0.1, 1.0, 5.0 and 10.0 mM) with gas production for 0.2, 0.150, 0.1and 0.1 mL, respectively. Moreover, activated sludges under aerobic and aerobic denitrifying conditions were capable of continuously removing 0.1 mM amido black due to detection of gas production at day 6 and 7 of the experiment. In case of higher concentration of amido black, no detection of gas was observed again. Therefore, this study could be concluded that activated sludges under both conditions had potential for decolorization and biodegradation of 0.1 mM amido black only by using methanol as another carbon source for co-metabolism process. Aerobic activated sludge showed a higher effectiveness for decolorization, compared to that of aerobic denitrifying sludge.

Key words: Amido black; Activated sludge; Aerobic condition; Aerobic denitrifying; Total gas

บทนำ

น้ำเสียที่มีสีย้อมเป็นน้ำเสียอีกชนิดหนึ่งที่ก่อให้เกิดมลภาวะในประเทศไทยและทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำเสียที่มีสีย้อมปนเปื้อนที่ปล่อยออกจากอุตสาหกรรมสิ่งทอซึ่งเป็นอุตสาหกรรมใหญ่ที่ใช้สีย้อมจำนวนมาก น้ำเสียของอุตสาหกรรมสิ่งทอมักมีความเข้มข้นของสีสูงประมาณ 10-200 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากสีไม่เกาะกับเส้นใยผ้าทั้งหมดจึงปนเปื้อนออกมากับน้ำเสียมากถึงประมาณ 2-50% ของสีที่ใช้ [1, 2] น้ำเสียชนิดนี้นอกจากจะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อระบบนิเวศ พืช สัตว์และมนุษย์แล้ว [3] น้ำเสียที่มีสีปนเปื้อนจะทำให้ทัศนียภาพของแหล่งน้ำเสื่อมโทรมลง เพราะสีย้อมหลายชนิดที่มองเห็นได้อย่างชัดเจนเมื่อปนเปื้อนลงในแหล่งน้ำถึงแม้ว่าจะมีความเข้มข้นต่ำเพียง 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็ตาม [1]

ดังนั้น การบำบัดน้ำเสียที่มีสีปนเปื้อนก่อนปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง การบำบัดที่นิยมใช้ได้แก่ วิธีการบำบัดน้ำเสียทางเคมีและกายภาพซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง แต่มีข้อจำกัดได้แก่ เป็นวิธีการที่มีราคาค่อนข้างสูงและทำให้เกิดกากตะกอนที่เป็นพิษ ซึ่งเป็นสิ่งที่ต้องทำการบำบัดต่อเนื่องและเกิดค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น [4, 5] ในปัจจุบันการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพเป็นที่สนใจที่จะนำมาทดแทนวิธีการบำบัดทางกายภาพและทางเคมี เนื่องจากเป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายน้อยกว่า 2 วิธีดังที่ได้กล่าวมาและเป็นวิธีที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากสีเป็นสารสังเคราะห์จึงทำให้การย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ทำได้ไม่ง่ายนัก

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงสนใจศึกษาการย่อยสลายสีอะมิโดแบล็ค ซึ่งเป็นสีในกลุ่มอะโซมาเป็นสีตัวอย่างในการศึกษาในครั้งนี้ เนื่องจากเป็นกลุ่มสีที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมสิ่งทอ อาหาร ยา เครื่องสำอางและกระดาษ เป็นต้น [6] โดยลักษณะของสีกลุ่มอะโซ คือ มีพันธะคู่ของไนโตรเจน (N=N) หนึ่งพันธะหรือมากกว่า [7] และประกอบด้วยสารประกอบอะโรมาติกเป็นลักษณะโครงสร้างที่ย่อยสลายได้ยากภายใต้สภาวะธรรมชาติ [8] หรือในกระบวนการระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้ทั่วไป [9] เนื่องจากสีกลุ่มนี้มีความคงตัวสูง [8] นอกจากนั้นยังก่อให้เกิดมะเร็งและก่อให้เกิดโรคภูมิแพ้ [9]

การศึกษาครั้งนี้จะทำการศึกษาการย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คด้วยตะกอนเร่งซึ่งเป็นระบบบำบัดทางชีวภาพที่นิยมใช้เป็นอันดับหนึ่งทั่วโลก ซึ่งระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่ง (Activated sludge) เป็นระบบบำบัดน้ำเสียโดยใช้แบคทีเรียกลุ่มที่ใช้ออกซิเจนเป็นตัวหลักในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียเพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานในการเจริญและเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในระบบ [10] และในการศึกษาครั้งนี้จะทำการศึกษาด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บและการเตรียมตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่ทำการศึกษา (Acclimated activated sludge)

1.1 การเก็บตะกอนเร่ง

นำตะกอนเร่งจากโรงบำบัดน้ำเสียแสนสุขใต้ จังหวัดชลบุรี (ภาพที่ 1) โดยใช้ถังน้ำตักจากบ่อเติมอากาศแบบวนเวียน

1.2 การเตรียมตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่ทำการศึกษา [11]

1.2.1 การเตรียมตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน (Aerobic condition) เมื่อได้ตะกอนเร่งจากโรงบำบัดน้ำเสีย ฯ แล้ว นำมาปรับสภาพให้คุ้นเคยกับแหล่งคาร์บอนภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน (Aerobic condition) ในโหลแก้วทรงกระบอกจากนั้นเติมโซเดียมเบนโซเอต (Sodium benzoate) ให้มีความเข้มข้นในตะกอนเร่งเท่ากับ 1 มิลลิโมลาร์ ทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 1 เดือน และมีการเติมอากาศตลอดเวลา

1.2.2 การเตรียมตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน (Aerobic denitrification) ภายใต้สภาวะนี้ทำเช่นเดียวกับข้อ 1.2.1 แต่เติมแหล่งของตัวรับอิเล็กตรอนคือ เติมโพแทสเซียมไนเทรตให้มีความเข้มข้นในตะกอนเร่งเท่ากับ 5 มิลลิโมลาร์ ทุกวัน วันละ 1 ครั้ง เป็นระยะเวลา 1 เดือน และมีการเติมอากาศตลอดเวลา

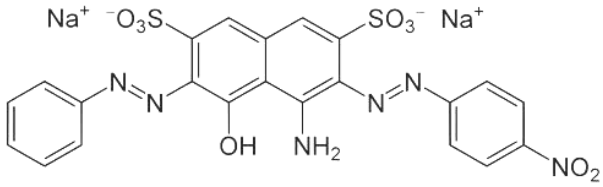
2. วิธีเตรียมและวิเคราะห์สีอะมิโดแบล็ค [11]

เตรียมสีอะมิโดแบล็คด้วยการละลายด้วยตัวทำละลาย DMSO ให้มีความเข้มข้นของสีอะมิโดแบล็คเท่ากับ 0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ (โดยมีโครงสร้างทางเคมีแสดงดังภาพที่ 2)

3. การวัดความเข้มของสีอะมิโดแบล็ค [11]

การวัดความเข้มของสีอะมิโดแบล็ค โดยชุดเปรียบเทียบมาตรฐานระดับสี ซึ่งทำการเจือจางสีครั้งละ 2 เท่า ไปเรื่อยๆ จนกระทั่งได้สี 10 ระดับความเข้มข้น โดยกำหนดให้ 0 เป็นค่าความเข้มสีน้ำเงินเข้มของสีอะมิโดแบล็คในตอนต้น และ 10 เป็นค่าความเข้มข้นของสีเมื่อไม่มีสีน้ำเงินเข้มของสีอะมิโดแบล็ค (ภาพที่ 3)

ภาพที่ 1 ลักษณะของฟล็อกที่เป็นกลุ่มของจุลินทรีย์แขวนลอยสีน้ำตาลในถังเติมอากาศ [10]



ภาพที่ 2 โครงสร้างสีอะมิโดแบล็ค [12]

ภาพที่ 3 ชุดเปรียบเทียบมาตรฐานระดับสีอะมิโดแบล็ค กำหนดให้ 0 เป็นค่าความเข้มสีน้ำเงินเข้มในตอนต้น จากนั้นเจือจางครั้งละ 2 เท่า จนกระทั่งถึงระดับ 10 เป็นค่าความเข้มสีเมื่อไม่มีสีน้ำเงินเข้มของสีอะมิโดแบล็ค (ภาพโดย อรวรรณ สมบูรณ์เงิน)

4 การศึกษาการบำบัดสีอะมิโดแบล็คด้วยวิธีทางชีวภาพภายใต้สภาะวะที่มีออกซิเจนและแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน [11, 13]

นำขวดซีรัมขนาด 150 มิลลิลิตร จำนวน 16 ขวด โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด คือ 1) ชุด Sterile จำนวน 2 ขวด โดยทำการเติมตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน 90 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดด้วยจุกยางและฝาอะลูมิเนียม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำ 3 ครั้งเป็นเวลา 3 วันติดต่อกัน หลังจากนั้นเติมสีอะมิโดแบล็คที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ลงไป 10 มิลลิลิตร ให้ปริมาตรสุดท้ายของสารในขวดซีรัมเท่ากับ 100 มิลลิลิตร ส่วน 2) ชุด Background จำนวน 2 ขวด โดยทำการเติมตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน 90 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดด้วยจุกยางและฝาอะลูมิเนียมโดยไม่ต้องนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ และไม่มีการเติมสีอะมิโดแบล็ค และ 3) ชุด Active จำนวน 12 ขวด (ความเข้มข้นละ 3 ขวด) ทำการเติมตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน 90 มิลลิลิตร เติมสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้นต่างๆ (0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์) ลงไป 10 มิลลิลิตร เพื่อให้ปริมาตรสุดท้ายของสารในขวดซีรัมเท่ากับ 100 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดด้วยจุกยางและฝาอะลูมิเนียม ต่อมานำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน โดยมีการวัดปริมาณก๊าซทั้งหมดตามระยะเวลาต่างๆ [14,15] เนื่องจากการย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คทำให้เกิดก๊าซเป็นผลิตภัณฑ์ดังสมการ

สภาวะที่มีออกซิเจน

สีอะมิโดแบล็ค+O_2 ⟶ สารตัวกลาง+CO_2 +H_2O

สภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน

สีอะมิโดแบล็ค+NO^-_3⟶สารตัวกลาง+N_2+CO_2+H_2O

สำหรับการศึกษาการย่อยสลายสีอะมิโด-แบล็คภายใต้สภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชันทำ

เช่นเดียวกับสภาวะที่มีออกซิเจน แต่เติมตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชันแทนตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

5. การวัดความเข้มของสีอะมิโดแบล็ค [11]

การวัดความเข้มของสีอะมิโดแบล็ค โดยชุดเปรียบเทียบมาตรฐานระดับสี ซึ่งทำการเจือจางระดับสีครั้งละ2 เท่า ไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งได้สี 10 ระดับความเข้มข้น โดยกำหนดให้ 0 เป็นค่าความเข้มสีน้ำเงินของสีอะมิโดแบล็คในตอนต้น และ 10 เป็นค่าความเข้มของสีเมื่อไม่มีสีน้ำเงินของสีอะมิโดแบล็ค

6 การวัดปริมาณก๊าซ [16]

ทำการตรวจวัดปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นโดยใช้หลอดฉีดยาชนิดแก้ว ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นจะดันกระบอกสูบขึ้นและอ่านปริมาณก๊าซที่ได้เป็นมิลลิลิตร

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดลองได้ออกแบบเป็นจำนวน 3 ซ้ำ ข้อมูลจากการทดลองแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการวิจัย

จากการศึกษาถึงการลดความเข้มของสีอะมิโดแบล็คที่มีความเข้มข้น 0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ ด้วยตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน เป็นระยะเวลา 10 วัน และวิเคราะห์คุณสมบัติของตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่ทำการ ศึกษาได้ผลดังนี้

1. การลดความเข้มของสีอะมิโดแบล็ค

จากการศึกษาการกำจัดสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้นทั้ง 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ ด้วยตะกอนเร่งภายใต้ 2 สภาวะคือ สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชันมีความสามารถในการลดสีอะมิโดแบล็ค ความเข้มข้นระดับ 0.1 มิลลิโมลาร์ เท่านั้น โดยสามารถลดสีจากระดับ 10 ถึงระดับ 1 และจากระดับ 10 ถึงระดับ 3 ตามลำดับ ในขณะที่สีอะมิโดแบล็คความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0-10.0 มิลลิโมลาร์ ตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะไม่สามารถลดสีได้ โดยมีระดับความเข้มสีในระดับ 10 ตั้งแต่วันแรกของการทดลองจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

2. การย่อยสลายสีอะมิโดแบล็ค

ความสามารถในการย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คได้ทำการประเมินจากการวัดปริมาณก๊าซทั้งหมด ดังสรุปในตารางที่ 1 และ 2 จากผลการทดลองพบว่าในระยะเวลา 1 วัน ตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนสามารถย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้น 0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ ได้บางส่วน โดยพบก๊าซทั้งหมดเท่ากับ 0.2, 0.150, 0.1 และ 0.1 มิลลิลิตร ตามลำดับ ต่อจากนั้นพบว่าตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะสามารถย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ได้อย่างต่อเนื่องโดยพบก๊าซทั้งหมดในวันที่ 6 และ 7 ของการทดลอง ส่วนสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้นสูงกว่านี้ไม่พบก๊าซอีกเลย ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะมีความสามารถในการลดสีและการย่อยสลายได้เฉพาะสีอะมิโดแบล็คที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ เท่านั้น และตะกอนเร่งสภาวะที่มีออกซิเจนสามารถลดสีได้มากกว่าตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน

ตารางที่ 1 ความสามารถในการลดความเข้มของสีอะมิโดแบล็คและปริมาณก๊าซทั้งหมดจากการย่อยสลายของตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

วันที่ทำการทดลอง	ความเข้มข้นของสีอะมิโดแบล็ค								ปริมาณก๊าซในชุดควบคุม (mL)
	0.1 มิลลิโมลาร์		1.0 มิลลิโมลาร์		5.0 มิลลิโมลาร์		10.0 มิลลิโมลาร์		
	ความเข้มของสี	ปริมาณก๊าซทั้งหมด (mL)	ความเข้มของสี	ปริมาณก๊าซทั้งหมด (mL)	ความเข้มของสี	ปริมาณก๊าซทั้งหมด (mL)	ความเข้มของสี	ปริมาณก๊าซทั้งหมด (mL)	
0	10	0	10	0	10	0	10	0	0
1	10	0.20 ± 0.00	10	0.15 ± 0.07	10	0.10 ± 0.00	10	0.10 ± 0.00	0
2	10	0	10	0	10	0	10	0	0
3	10	0	10	0	10	0	10	0	0
4	10	0	10	0	10	0	10	0	0
5*	9	0	10	0	10	0	10	0	0
6	8	0.15 ± 0.07	10	0	10	0	10	0	0
7*	7	0.15 ± 0.07	10	0	10	0	10	0	0
8	6	0	10	0	10	0	10	0	0
9	3	0	10	0	10	0	10	0	0.50 ± 0.02
10	1	0	10	0	10	0	10	0	0.80 ± 0.01

* เติมเมทานอล 0.1 และ 0.2 มิลลิลิตร ในวันที่ 5 และ 7 ของการทดลอง ตามลำดับ เพื่อทำให้เกิดกระบวนการ Co-metabolism

ตารางที่ 2 ความสามารถในการลดความเข้มของสีอะมิโดแบล็คและปริมาณก๊าซทั้งหมดจากการย่อยสลายของตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน

วันที่ทำการทดลอง	ความเข้มข้นของสีอะมิโดแบล็ค								ปริมาณก๊าซในชุดควบคุม (mL)
	0.1 มิลลิโมลาร์		1.0 มิลลิโมลาร์		5.0 มิลลิโมลาร์		10.0 มิลลิโมลาร์		
	ความเข้มของสี	ปริมาณก๊าซทั้งหมด (mL)	ความเข้มของสี	ปริมาณก๊าซทั้งหมด (mL)	ความเข้มของสี	ปริมาณก๊าซทั้งหมด (mL)	ความเข้มของสี	ปริมาณก๊าซทั้งหมด (mL)	
0	10	0	10	0	10	0	10	0	0
1	10	0.10 ± 0.00	10	0.10 ± 0.00	10	0	10	0	0
2	10	0	10	0	10	0	10	0	0
3	10	0	10	0	10	0	10	0	0
4	10	0	10	0	10	0	10	0	0
5*	9	0	10	0	10	0	10	0	0
6	9	0.15 ± 0.07	10	0	10	0	10	0	0
7*	9	0.10 ± 0.00	10	0	10	0	10	0	0.60 ± 0.20
8	6	0	10	0	10	0	10	0	0.35 ± 0.10
9	4	0	10	0	10	0	10	0	0.50 ± 0.10
10	3	0	10	0	10	0	10	0	1.80 ± 0.20

* เติมเมทานอล 0.1 และ 0.2 มิลลิลิตร ในวันที่ 5 และ 7 ของการทดลอง ตามลำดับ เพื่อทำให้เกิดกระบวนการ Co-metabolism

สรุปและวิจารณ์ผล

สีอะมิโดแบล็คเป็นสีอะโซชนิดหนึ่งที่บำบัดด้วยกระบวนการทางชีวภาพได้ยาก จากอดีตจนถึงปัจจุบันมีการศึกษาการใช้วิธีทางกายภาพและวิธีทางเคมีในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมอย่างแพร่หลาย [17,18,19] ไม่ว่าจะเป็นการใช้เทคนิคการตกตะกอน (Coagulation) ร่วมกับการจับตัวเป็นก้อน (Flocculation) การใช้เทคนิคการดูดซับ (Adsorption) การใช้แผ่นเมมเบรน (Membrane technology) และการที่ใช้สารออกซิไดส์ที่รุนแรง (Strong oxidizing agents) เช่น H_2O_2, Fenton's reagent, TiO_2, ZnO_2 เป็นต้น อย่างไรก็ตามการใช้เทคโนโลยีเหล่านี้มักมีข้อจำกัดหรือข้อเสียเมื่อนำมาดำเนินการในระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรม [18,20]

ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการผลักดันให้มีการใช้เทคโนโลยีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเพื่อลดผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งลดการใช้น้ำในกระบวนการผลิตและลดการปล่อยน้ำเสีย [21] และลดการกระทำความผิดตามข้อบังคับของกฎหมายในเรื่องการปล่อยน้ำเสียของโรงงานออกสู่สิ่งแวดล้อม เนื่องจากตลอดระยะเวลา 10 ปีที่ผ่านมา รัฐบาลในหลายประเทศได้ออกข้อบังคับที่เข้มงวดเกี่ยวกับการปล่อยน้ำเสียออกสู่สิ่งแวดล้อมของโรงงานอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศที่พัฒนาแล้ว ซึ่งแรงกดดันทางกฎหมายนี้จะทำให้โรงงานอุตสาหกรรมใช้กระบวนการบำบัดน้ำเสียที่มีสีย้อมปนเปื้อนเพื่อทำให้น้ำเสียผ่านมาตรฐานก่อน

ปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม โดยเทคโนโลยีดังกล่าวคือการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมด้วยวิธีทางชีวภาพนั่นเอง โดยเทคนิคนี้เป็นวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและสามารถนำไปสู่การย่อยสลายสีย้อมได้อย่างสมบูรณ์และมีค่าใช้จ่ายน้อย จุลินทรีย์หลายชนิดไม่ว่าจะเป็นราแบคทีเรีย ยีสต์และสาหร่ายมีความสามารถในการย่อยสลายสีอะโซได้อย่างสมบูรณ์ [20,21] แต่อย่างไรก็ตาม การย่อยสลายด้วยแบคทีเรียเป็นวิธีที่ได้รับความสนใจในการศึกษาอย่างกว้างขวาง เนื่องจากแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ในปริมาณมากในระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานบำบัดน้ำเสีย อีกทั้งแบคทีเรียยังสามารถย่อยสลายสีอะโซได้อย่างรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้นและสมบูรณ์เมื่อเปรียบเทียบการใช้จุลินทรีย์ชนิดอื่น [22,23]

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนมีความสามารถในการกำจัดสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้นที่ต่ำสุดในการทดลองครั้งนี้ได้แก่ 0.1 มิลลิโมลาร์ แต่ความเข้มข้นที่สูงขึ้นคือ 1.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ ตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะไม่สามารถลดความเข้มของสี โดย Gingell & Walker [24] ได้เสนอกลไกการย่อยสลายสีอะโซว่าประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ 1) การทำลายพันธะอะโซภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจนหรือสภาวะที่มีออกซิเจนและเกิดสารอะโรมาติกเอมีนเป็นสารตัวกลาง และ 2) การย่อยสลายอะโรมาติกเอมีนภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ซึ่งสีอะโซจะมีสีที่จางลงหรือกลายเป็นสารไม่มีสีเมื่อมีการตัดพันธะอะโซ (-N = N-) รวมทั้งตัดส่วนของเฮเทอโรไซคลิกและวงแหวนอะโรมาติกของโมเลกุลสี ซึ่งจะทำให้การดูดกลืนแสงของสารเปลี่ยนไปจากช่วงที่มนุษย์มองเห็นได้ไปเป็นช่วงอัลตร้าไวโอเลตหรืออินฟราเรด [25]

การย่อยสลายสีอะโซของแบคทีเรียบางชนิดภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ Oxygen catalyzed azoreductase หรือ Aerobic azoreductase ซึ่งจะเกิดสารอะโรมาติกเอมีนเป็นสารตัวกลาง [26] เอนไซม์ชนิดนี้จัดเป็นเอนไซม์ที่หลั่งภายในเซลล์ (Intracellular enzyme) และมีความจำเพาะเจาะจงต่อโครงสร้างของสารตั้งต้นหรือโครงสร้างสีอะโซสูง เอนไซม์ Aerobic azoreductase เป็นเอนไซม์ที่พบครั้งแรกใน *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ K22 และสายพันธุ์ KF46 โดย Zimmermann, Kulla, & Leisinger [27] และ Zimmermann, Gasser, Kulla, & Leisinger [28] นอกจากนี้แบคทีเรียบางชนิดยังพบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ Lignin peroxidase ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายสีอะโซได้เช่นเดียวกัน เช่น *Bacillus* sp. และ *Acinetobacter calcoaceticus* NCIM 2890 [29]

ในขั้นตอนต่อมาสารอะโรมาติกเอมีนที่เกิดขึ้นจากการทำลายพันธะอะโซจะถูกย่อยสลายต่อเนื่องภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน เนื่องจากสารชนิดนี้เป็นสารที่คงทนต่อการย่อยสลายภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจน [30] การย่อยสลายสารอะโรมาติกเอมีนของแบคทีเรียภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนจะอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ Monooxygenase และ Dioxygenase ในการทำให้เกิดก๊าซออกซิเจน (O_2) ในวงแหวนอะโรมาติกก่อนที่จะเกิดการแตกของวงแหวนอะโรมาติกต่อไป ซึ่งหากเกิดการย่อยสลายต่อเนื่องอย่างสมบูรณ์จะทำให้เกิดก๊าซไนโตรเจน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย จากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่าในระยะเวลาในการศึกษา 1 วัน ตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนสามารถย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้น 0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ ได้บางส่วน โดยพบก๊าซทั้งหมดเท่ากับ 0.2, 0.15, 0.1 และ 0.1 มิลลิลิตร ตามลำดับ ต่อจากนั้นพบว่าตะกอนเร่งทั้ง 2 สภาวะสามารถย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ได้อย่างต่อเนื่องโดยพบก๊าซทั้งหมดในวันที่ 6 และ 7 ของการทดลอง ส่วนสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้นสูงกว่านี้ไม่พบก๊าซอีกเลย

ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าสีอะมิโดแบล็คที่ปนเปื้อนในน้ำเสียทีทารย่อยสลายด้วยระบบตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชันนั้นมีความสามารถในการลดความเข้มสีและย่อยสลายได้เฉพาะสีอะมิโดแบล็คที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ เท่านั้นและตะกอนเร่งสภาวะที่มีออกซิเจนสามารถลดสีได้มากกว่าตะกอนเร่งภายใต้สภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน ซึ่งจะทำให้การบำบัดด้วยระบบตะกอนเร่งมีข้อดีหลายประการ ไม่ว่าจะเป็นค่าใช้จ่ายในการเดินระบบไม่สูง สามารถย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ ไม่เกิดสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม

เป็นกระบวนการที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและผลิตกากตะกอนในปริมาณน้อย [20,22,31]

ระบบบำบัดน้ำเสียด้วยระบบตะกอนเร่งเกิดจากแบคทีเรียผสมในตะกอนเร่งที่มีการทำงานร่วมกันหรือเสริมฤทธิ์กันของกลุ่มแบคทีเรียผสม [31,32,33,34,35] จากการศึกษาพบว่าการใช้เชื้อผสมในการย่อยสลายสีอะโซ แบคทีเรียแต่ละชนิดสามารถเข้าทำลายโครงสร้างโมเลกุลของสีอะโซในตำแหน่งที่แตกต่างกัน ซึ่งการนำสารเมแทบอไลต์ที่เกิดขึ้นมาใช้ในกิจกรรมต่าง ๆ ของเซลล์ขึ้นอยู่กับความสามารถของแต่ละสายพันธุ์ [16,36] แต่อย่างไรก็ตามทีมงานวิจัยนี้จะดำเนินการศึกษาถึงกลไกและวิธีการบำบัดสีอะมิโดแบล็คและสีสังเคราะห์อื่นๆ ที่รวดเร็วขึ้นและมีประสิทธิภาพที่สุดต่อไป

จากการศึกษาการกำจัดสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้นทั้ง 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ ด้วยการย่อยสลายด้วยตะกอนเร่งภายใต้ 2 สภาวะคือ สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมตะกอนเร่งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะแอโรบิคดีไนทริฟิเคชันมีความสามารถในการลดความเข้มสีอะมิโดแบล็คความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ เท่านั้น โดยสามารถลดสีจากระดับ 10 ถึงระดับ 1 และ จากระดับ 10 ถึงระดับ 3 ตามลำดับ และผลิตก๊าซทั้งหมดในวันที่ 1 และวันที่ 6 และ 7 ของการศึกษา

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

[1] สุดสายชล หอมทอง, นเรศ เชื้อสุวรรณ และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. 2554.การกำจัดสีเมทิลเรดด้วยการดูดซับ/วิธีทา'ชีวภาพ. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา**. 16(2): 63-74.

[2] Ganesh, R., Boardman, G. D., and Michelson, D. 1994. Fate of azo dyes in sludges. **Water Research**. 28: 1367-1376.

[3] Talarposhti, A. M., Donnelly, T., and Anderson, G. K. 2001. Colour removal from a simulated dye wastewater using a two phase anaerobic packed bed reactor. **Water Research**. 35: 425-532.

[4] สุดสายชล หอมทอง และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. 2550. การพัฒนาระบบบำบัดสีกลุ่มอะโซด้วยวิธีผสมผสาน. **วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี**. 1(1): 101-112.

[5] Quezada, M., Linares, I., and Buitron, G. 2000. Use of sequencing batch biofilter for degradation of azo dyes (acids and bases). **Water Science and Technology**. 42: 329-336.

[6] Pandey, A., Singh, P., and Iyengar, L. 2007. Bacteria decolorization and degradation of azo dyes. **International Biodeterioration and Biodegradation**. 59: 73-84.

[7] Manu, B. and Chaudhari, S. 2002. Aerobic decolorization of simulated textile wastewater containing azo dyes. **Bioresource Technology**. 82: 225-231.

[8] Rajaguru, P., Kalaiselvi, K., Palanivel, M., and Subburam, V. 2000. Biodegradation of azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. **Applied and Environmental Microbiology**. 54: 268-273.

[9] Wamik, A., Rajesh, K. S., and Uttam, C. B. 1998. Biodegradation of triphenylmethane dyes. **Enzyme and Microbial Technology**. 22: 185-191.

[10] สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. 2548. **จุลชีววิทยาของน้ำเสีย**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[11] Nimrat, S., Sawangchit, P., Vuthiphandchai, V. 2004. Removal of malachite green employing physical and biological processes. **Science Asia**. 30: 351-357.

[12] Genwa, K. R. and Sagar, C. P. 2011. Tween 60-amido black 10B – ascorbic acid system: Studies of photogalvanic effect and solar energy conversion. **Journal of Chemical Engineering and Materials Science**. 2(9): 140-148.

[13] Asad, S., Amoozegar, M. A., Pourbabaee, A. A., Sarbolouki, M. N., and Dastgheib, S. M. M. 2006. Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. **Bioresource Technology**. 98: 2082-2088.

[14] Nimrat, S., Chuersuwan, N., and Vuthiphandchai, V. 2003. Toxicity and Biodegradation of amido black and malachite green by acclimated activated sludge under aerobic and aerobic denitrifying conditions. **Oral presentation in: Environmental Science Technology and Management Conference July 8-11 Bangkok Thailand**. (In English).

[15] Nimrat, S., Thongnoppakun, S., Chuersuwan, N., and Vuthiphandchai, V. 2003. Toxicity and biotransformation of amido black and malachite green by acclimated activated sludge under aerobic and aerobic denitrifying conditions. **In: ASIAN WATERQUAL 2003-IWA Asia-Pacific Regional Conference October 21 Bangkok Thailand**.

[16] Nimrat, S. 2000. **Biodegradation of methyl parathion, *p*-nitrophenol and *p*-aminophenol under anoxic condition**. Dissertation in Ph.D. in Environmental Sciences, Department of Environmental Science, Rutgers, The State University of New Jersey, New Burmwich, USA.

[17] Forgacs, E., Cserhati, T., and Oros, G. 2004. Removal of synthetic dyes from wastewaters: A review. **Environment International**. 30: 953- 971.

[18] Pearce, C. I., Lloyd, J. R., and Guthrie, J. T. 2003. The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: A review. **Dyes and Pigments**. 179-196.

[19] Vandevivere, P. C., Binachi, R., and Verstrate, W. 1998. Treatment of wastewater from textile wet processing industry: Review of emerging technologies. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. 72: 289-302.

[20] ไตรมาศ บุญไทย, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2556). การลดความเข้มสีและการย่อยสลายสีอะโซด้วยแบคทีเรีย. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม**. 32(2): 140- 149.

[21] Petek, J. and Glavic, P. 1996. An integral approach to waste minimization in process industries. **Resources, Conservation and Recycling**. 17: 169-188.

[22] Saratale, R. G., Saratale, G. D., Chang, J. S., and Govindwar, S. P. 2011. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**. 42: 138-157.

[23] Paszczynski, A., Pasti-Grigsby, M. B., Goszczyanski, S., Crawford, R. L., and Crawford, D. L. 1992. Mineralization of sulfonated azo dyes and sulfanilic acid by *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces chromofuscus*. **Applied and Environmental Microbiology**. 58: 3598-3604.

[24] Gingell, R. and Walker, R. 1971. Mechanisms of azo reduction by *Streptococcus faecalis* II the role of soluble flavins. **Xenobiotics**. 1: 231-239.

[25] Strickland, A. F. and Perkins, W. S. 1995. Decolouration of continuous dyeing wastewater by ozonation. **Textile Chemist & Colorist**. 27(5): 11-16.

[26] Lin, J., Zhang, X., Li, Z., and Lei, L. 2010. Biodegradation of Reactive Blue 13 in a two-stage anaerobic/aerobic fluidized beds system with a *Pseudomona*s sp. isolate. **Bioresource Technology**. 101: 34-40.

[27] Zimmermann, T., Kulla, H., and Leisinger, T. 1982. Properties of purified orange II-azoreductase, the enzyme initiating azo dye degradation by *Pseudomonas* KF46. **European Journal of Biochemistry**. 129: 197-203.

[28] Zimmermann, T., Gasser, F., Kulla, H., and Leisinger, T. 1984. Comparison of two bacterial azoreductases acquired during adaptation to growth on azo dyes. **Archives of Microbiology.** 138: 37-43.

[29] Dawkar, V. V., Jadhav, U. U., Ghodake, G. S., and Govindwar, S. P. 2009. Effect of inducers on the decolorization and biodegradation of textile azo dye Navy Blue 2GL by *Bacillus* sp.VUS. **Biodegradation**. 20: 777-787.

[30] Joshi, T., Iyengar, L., Singh, K., and Garg, S. 2008. Isolation, identification and application of novel bacterial consortium TJ-1 for the decolourization of structurally different azo dyes**. Bioresource Technology**. 99: 7115-7121.

[31] Stolz, A. 2001. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. **Applied and Environmental Microbiology**. 56: 69-80.

[32] สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, ปิยรัตน์ ไชยบุตร, วีรสิทธิ์ ขาวผ่อง และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2553. การบำบัดสีอะมิโดแบล็คด้วยการดูดซับที่ต่อเนื่องด้วยตะกอนเร่ง. **วารสารความปลอดภัยและสุขภาพ**. 3(11): 18-25.

[33] สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, รัตติชล ศิริโรจน์มหาวงษ์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2553. การพัฒนาวิธีการบำบัดสีอะมิโดแบล็คด้วยการดูดซับ/ตะกอนเร่ง. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา**. 15(1): 88-97.

[34] Khehra, M. S., Saini, H. S., Sharma, D. K., Chadha, B. S., and Chimni, S. S. 2005. Decolorization of various azo dyes by bacterial consortia. **Dyes and Pigments**. 67: 55-61.

[35] Khehra, M. S., Saini, H. S. Sharma, D. K., Chadha, B. S., and Chimni, S. S. 2005. Comparative studies on potential of consortium and constituent pure bacterial isolates to decolorize azo dyes. **Water Research**. 39: 5135-5141.

[36] Chang, J. S. Chen, B. Y., and Lin, Y. S. 2004. Stimulation of bacterial decolorization of an azo dye by extracellular metabolites from *Escherichia coli* strain NO3. **Bioresource Technology**. 91: 243-248.