



การคัดแยกยีสต์และประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ
Isolation of Yeast and Its Performance for Decolorization of Azo Dyes

นурดา สะบาหานาเลาะห์

Nurda Sabahanaloh

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีประยุกต์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

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

Prince of Songkla University

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การคัดแยกยีสต์และประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ
 ผู้เขียน นางสาวนุรดา สะบาหนาเล้าะ
 สาขาวิชา เคมีประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ

(ดร.ปรีชา กสิกรรมไพบูลย์)

(ดร.ไสว บัวแก้ว)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ

(ดร.อุไรวรรณ ขุนจันทร์)

(ดร.ปรีชา กสิกรรมไพบูลย์)

.....กรรมการ

(ดร.อุไรวรรณ ขุนจันทร์)

.....กรรมการ

(ดร.วันเพ็ญ นาเกลือ)

.....กรรมการ

(ดร.แววฤดี แววทองรักษ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
 ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีประยุกต์

.....
 (ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟ้ารุ่งแสง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(ดร.ปรีชา กสิกรรมไพบูลย์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....

(นางสาวนूरดา สะพานนาเอื้อ)

นักศึกษา

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้
ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวนุรดา สะบาหানাเลาะห์)

นักศึกษา

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ชื่อวิทยานิพนธ์	การคัดแยกยีสต์และประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ
ผู้เขียน	นางสาวนุรดา สะบาหนาเล้าะ
สาขาวิชา	เคมีประยุกต์
ปีการศึกษา	2560

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการคัดแยกยีสต์และประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ โดยยีสต์ที่คัดแยกได้จากดินบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้าบาติก จังหวัดปัตตานี ยีสต์ที่คัดแยกได้ที่สามารถบำบัดสีย้อมอะโซที่ใช้ศึกษาได้ดีที่สุดคือ ไอโซเลต co 6 เมื่อนำไประบุสายพันธุ์ของยีสต์ชนิดนี้ โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 26S rRNA เทียบกับฐานข้อมูล พบว่ายีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวคือ *Pichia kudriavzevii* และพบว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ได้ดีที่สุดในกลุ่มยีสต์ทั้งหมด 11 ชนิด โดยยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถบำบัดได้ 100% ภายในระยะเวลา 5 ชั่วโมง ด้วยกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพไม่ใช้การดูดซับบนผิวเซลล์ นอกจากนี้ได้มีการศึกษาผลของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* พบว่าที่ความเข้มข้นของสีเริ่มต้น 25-500 และ 800-1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ยีสต์สามารถบำบัดสีได้มากกว่า 99% ภายในเวลา 10 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นของกลูโคสและซูโครส 2 กรัมต่อลิตร ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถบำบัดสีได้ 100% ภายในเวลา 10 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ขณะที่แอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรีย ความเข้มข้น 0.5-6 กรัมต่อลิตร มีผลต่อการบำบัดสีไม่แตกต่างกัน คือบำบัดได้มากกว่า 97% ภายในเวลา 10 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าการไม่เติมแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน ยีสต์ก็ยังสามารถบำบัดสีได้สูงถึง 64 และ 87% ตามลำดับ ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถเจริญและทำงานได้ดีในสภาวะที่มีค่าพีเอช 4.0-9.0 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 160 รอบต่อนาที และทนต่อสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) สูงถึง 50 กรัมต่อลิตร โดยสามารถบำบัดสีได้ 96% ภายในเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยเทคนิค UV-Visible spectrophotometry, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) และ Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS) พบว่าโครงสร้างของสี Acid Red 73 หลังการบำบัดมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับสีย้อมก่อนบำบัด แสดงถึงการถูกย่อยสลายของสีเพื่อเปลี่ยนไปเป็นสารเมตาบอไลต์ชนิดอื่น ๆ ที่สามารถทำนายวิถีที่เป็นไปได้ในการย่อยสลายของสีย้อม Acid Red 73 และจากการศึกษาความเป็นพิษที่มีต่อต้นพืช 3 ชนิดคือ ถั่วเขียว (*Vigna radiata*) ผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*) และผักกาดกวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*) พบว่า

สารละลายสีย้อมหลังการบำบัดมีความเป็นพิษต่อพืชที่ใช้ในการทดลองลดลงเมื่อเทียบกับสีย้อมก่อนการบำบัด นอกจากนี้ได้มีการศึกษาการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ในระบบถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (Continuous system) พบว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้มากกว่า 95% ตลอดระยะเวลาการทดลองต่อเนื่อง 10 วัน ที่ความเข้มข้นของสีย้อม Acid Red 73 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และผลการศึกษาพบว่าสารละลายหลังจากการบำบัดมีค่าซีไอลดลงจาก 4,417 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือ 641 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายหลังบำบัด โดยคิดเป็นประสิทธิภาพการกำจัดซีไอได้เท่ากับ 85% ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจในการศึกษาต่อยอดงานวิจัยนี้เพื่อนำยีสต์ *P. kudriavzevii* ไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนด้วยสีย้อมต่อไป

Prince of Songkla University
Pattani Campus

Thesis Title	Isolation of Yeast and Its Performance for Decolorization of Azo Dyes
Author	Miss Nurda Sabahanaloh
Major Program	Applied Chemistry
Academic Year	2017

ABSTRACT

This work presents an isolation of yeast capable of azo dye decolorization from soil collected from wastewater discharging route of batik dyeing factory in Pattani Province. It was found that the isolated yeast strain co.6 could effectively decolorize azo dyes. By nucleotide sequential analysis based on 26S rRNA and compared to the database, the strain was identified as *Pichia kudriavzevii*. Among 11 types of azo dye used in this study, *P. kudriavzevii* exhibited the best performance for decolorizing Acid Red 73 with 100% efficiency within 5 hours. The decolorization took place via biodegradation mechanism without absorbing on the cell surface. Furthermore, various parameters affecting the performance of *P. kudriavzevii* on Acid Red 73 decolorization were investigated. At the initial dye concentrations of 25-500 mg/L and 800-1000 mg/L, *P. kudriavzevii* decolorized the dye more than 99% efficiency within 10 and 24 hours, respectively. At a concentration of 2 g/L of glucose and sucrose, *P. kudriavzevii* showed 100% of decolorization efficiency within 10 hours with insignificant difference ($p \geq 0.05$). ammonium sulfate ((NH₄)₂SO₄) and urea in the range of 0.5-6 g/L insignificantly resulted in a complete decolorization more than 97% within 10 hours. It was also found that, without adding carbon and nitrogen source, *P. kudriavzevii* still exhibited high decolorization efficiency of 64 and 87%, respectively. *P. kudriavzevii* grew and worked well at pH 4.0-9.0, 35 °C, 160 rpm, and could tolerate high sodium chloride (NaCl) concentrations up to 50 g/L with 96% decolorization efficiency within 24 hours. In addition, the structure of Acid Red 73 before and after degradation was studied using UV-Visible spectrophotometry, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS). It was found that the dye structure after treatment changed compared to that before treatment, indicating that the dye molecule was degraded

to form metabolites. These metabolites could be used for proposing the possible pathway for the degradation of Acid Red 73. The toxicity of the metabolites was also tested with 3 types of plants which were *Vigna radiata*, *Ipomoea aquatica* and *Brassica pekinensis*. The metabolites were found to be less toxic to plants than the dye before decolorization. Decolorization of Acid Red 73 in a continuous flow reactor was also performed in this study. It was found that, at the initial dye concentration of Acid Red 73 100 mg/L, *P. kudriavzevii* maintained decolorization efficiency higher than 95% throughout 10 days of the experiment. This continuous treatment system also effectively reduced COD of the dye solution, decreasing from 4,417 mg/L in the influent to 641 mg/L in the effluent with 85.4% COD removal. Therefore, the results indicate that the isolated yeast *P. kudriavzevii* has a potential for the application of treating azo dye contaminated wastewater.

Prince of Songkla University
Pattani Campus

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากได้รับการช่วยเหลือ คำปรึกษา คำแนะนำต่าง ๆ ผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.ปรีชา กสิกรรมไพบูลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักและ ดร.อุไรวรรณ ขุนจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำ กำลังใจ และแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนค่าธรรมเนียมการศึกษา จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ประจำปี 2559

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปี 2560 ที่ได้อุดหนุนในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แผนกวิชาเคมี แผนกวิชาชีววิทยาและศูนย์เครื่องมือกลางคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี รวมถึงบุคลากรทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ และอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยในครั้งนี้ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณคุณพ่อ คุณแม่ ครอบครัวและเพื่อน ๆ ที่คอยสนับสนุน คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำและเป็นกำลังใจเสมอมา

นุรดา สะบาหานาเลาะห์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
ABSTRACT	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
สารบัญตาราง	(15)
สารบัญรูป	(16)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 ปัญหาน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมจากอุตสาหกรรมสิ่งทอ	4
2.2 สีย้อมสังเคราะห์ (Synthetic dyestuffs)	4
2.3 สีย้อมอะโซ (Azo dye)	7
2.3.1 การแบ่งประเภทชนิดของสีย้อมอะโซ	7
2.3.2 กระบวนการในการสังเคราะห์สีย้อมอะโซ	9
2.4 มาตรฐานน้ำทิ้งสำหรับโรงงานย้อมผ้า	12
2.5 กระบวนการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมด้วยวิธีทางชีวภาพ	14
2.5.1 การย่อยสลายโดยเชื้อรา	15
2.5.2 การย่อยสลายด้วยแบคทีเรีย	15
2.5.3 การย่อยสลายด้วยยีสต์	17
2.6 ชนิดของเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ผลิตในกระบวนการบำบัดสีย้อมอะโซ	21
2.7 กระบวนการในการย่อยสลาย	22
2.7.2 การย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน	22
2.7.2 การย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน	24

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.8 การบำบัดสีย้อมอะโซด้วยถังปฏิกรณ์แบบใช้ออกซิเจน	27
2.8.1 ถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (Continuous stirred tank reactor:CSTR)	27
2.8.2 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นเยื่อกรอง (Membrane process)	28
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	30
3.1 เครื่องมือและสารเคมี	30
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย	32
3.2.1 การคัดแยกและระบุสายพันธุ์ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมอะโซ	32
3.2.1.1 การคัดแยกยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมอะโซ	33
3.2.1.2 การระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่คัดแยกได้	33
3.2.1.3 ชนิดของสีย้อมอะโซที่ยีสต์สายพันธุ์ที่คัดแยกได้สามารถกำจัดได้ดีที่สุด	33
3.2.2 ศึกษาผลของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ต่อประสิทธิภาพในการบำบัดสีย้อมอะโซของยีสต์ที่คัดแยกได้ในระบบแบบกะ (Batch system)	34
3.2.2.1 การเตรียมเชื้อ	34
3.2.2.2 ความเข้มข้นของสีย้อมเริ่มต้น	34
3.2.2.3 ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอน	34
3.2.2.4 ชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจน	35
3.2.2.5 ปริมาณของโซเดียมคลอไรด์	35
3.2.2.6 อุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อระหว่างการบำบัดสีย้อม	35
3.2.2.7 ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	35
3.2.2.8 ความเร็วรอบในการเขย่า	35
3.2.2.9 การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมอะโซ X ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้	36
3.2.2.10 การศึกษาผลของพารามิเตอร์ที่ดีที่สุดต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ X ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้	36
3.2.2.11 การศึกษาการกำจัดบำบัดสีย้อมอะโซ X ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ในสภาวะที่ไม่มีแหล่งอาหาร	36

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสีย้อมอะโซหลังการบำบัดด้วยยีสต์ที่แยกได้	37
3.2.3.1 การเตรียมตัวอย่าง	37
3.2.3.2 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer	37
3.2.3.3 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)	38
3.2.3.4 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS)	38
3.2.4 การศึกษาความเป็นพิษของสารเมตาบอลิต์ที่มีผลต่อพืช	38
3.2.5 ศึกษาการกำจัดสีย้อมอะโซด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ในถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (Continuous system)	39
3.2.5.1 การออกแบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (Continuous stirred tank reactor: CSTR)	39
3.2.5.2 การเดินระบบ	40
3.2.5.3 การหาค่าซีไอดี (Chemical Oxygen Demand: COD)	40
3.2.5.4 การหาปริมาณสารแขวนลอย (Suspended Solid)	41
3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ	42
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย	42
4.1 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของตัวอย่างดิน	43
4.2 การคัดแยกและระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมอะโซ	43
4.2.1 การคัดแยกยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ	43
4.2.2 การระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่คัดแยกได้	48
4.2.3 การคัดเลือกชนิดของสีย้อมอะโซที่ยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> สามารถกำจัดได้ดีที่สุด	49
4.3 การศึกษาผลของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ของยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	52

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.1 ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อม Acid Red 73	52
4.3.2 ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน	54
4.3.3 ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน	56
4.3.4 ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์	58
4.3.5 ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการกำจัดสีย้อม Acid Red 73	61
4.3.6 อุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อต่อการบำบัดสีย้อม Acid Red 73	62
4.3.7 ความเร็วรอบในการเขย่า	63
4.3.8 ประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม	64
4.3.9 ผลการกำจัดสีย้อมอะโซด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ในสภาวะที่ไม่มีอาหาร	65
4.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัด ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	66
4.4.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมของสีย้อม Acid Red 73 ด้วยเทคนิค UV Visible spectrophotometry	66
4.4.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมของสีย้อม Acid Red 73 ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)	67
4.4.3 ศึกษาชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นในการย่อยสลายสีย้อม Acid Red 73 ด้วยเครื่อง Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS) และการทำนายวิถีที่เป็นไปได้ในการย่อยสลายทางชีวภาพของสีย้อม Acid Red 73	68
4.5 การศึกษาความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	77
4.5.1 การศึกษาความเป็นพิษของสีย้อมก่อนและหลังการบำบัดที่มีผลต่อต้นผักบุ้ง (<i>Ipomoea aquatica</i>)	75
4.5.2 การศึกษาความเป็นพิษของสีย้อมก่อนและหลังการบำบัดที่มีผลต่อต้นถั่วเขียว (<i>Vigna radiata</i>)	80
4.5.3 การศึกษาความเป็นพิษของสีย้อมก่อนและหลังการบำบัดที่มีผลต่อต้นผักกาดกวางตุ้ง (<i>Brassica pekinensis</i>)	84

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.6 การศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P.kudriavzevii</i> ในถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง Continuous stirred tank reactor: CSTR)	88
4.6.1 การกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ในถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	88
4.6.2 ค่าซีโอดีของสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) ก่อนและหลังการบำบัด ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	89
4.6.3 ปริมาณของแข็งแขวนลอย ก่อนและหลังการบำบัดสีย้อม Acid Red 73 ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	90
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	93
บรรณานุกรม	95
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์	101
ภาคผนวก ข ผลการวิเคราะห์	105
ประวัติผู้เขียน	121

Prince of Songkla University
Pattani Campus

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	การเลือกใช้สีย้อมแต่ละชนิดในการย้อมเส้นใยหรือวัสดุในอุตสาหกรรม	6
ตารางที่ 2.2	ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม และน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า	13
ตารางที่ 2.3	การเปรียบเทียบพารามิเตอร์ก่อนและหลังการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพ	14
ตารางที่ 2.4	เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้จาก ตัวอย่างดินโคลนของงานวิจัยต่าง ๆ	21
ตารางที่ 2.5	ความเป็นพิษของสารเมตาบอลิท์ที่เกิดขึ้นหลังจากการย่อยสลายหมู่อะโซ ในโครงสร้างของสีย้อมอะโซแบบไม่ใช้ออกซิเจน	25
ตารางที่ 4.1	จำนวนโคโลนีของยีสต์ที่คัดแยกได้จากดินบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อม ผ้าบาติกด้วยอาหารแข็ง Martin ที่มีสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ	44
ตารางที่ 4.2	การจัดกลุ่มไอโซเลตของยีสต์ที่คัดแยกได้จากดินบริเวณทางน้ำทิ้งของ โรงงานย้อมผ้าบาติกด้วยอาหารแข็ง Martin ที่มีสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ	45
ตารางที่ 4.3	ประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ ของยีสต์ไอโซเลตที่คัดเลือก ได้จากดินบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้าบาติก	46
ตารางที่ 4.4	การกำจัดสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ ของยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	50
ตารางที่ 4.5	สารเมตาบอลิท์ที่พบเมื่อวิเคราะห์ด้วย Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS) หลังจากการย่อยสลายสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ภายใต้สภาวะที่ใช้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส	72

สารบัญญภาพ

		หน้า
รูปที่ 2.1	โครงสร้างของสี Acid Red 73	7
รูปที่ 2.2	กระบวนการโดยทั่วไปของการย้อมติดระหว่างเส้นใยและสีย้อมเอซิด	8
รูปที่ 2.3	โครงสร้างโดยทั่วไปของการแนบติดระหว่างเส้นใยกับสีย้อมรีเอกทีฟ	8
รูปที่ 2.4	กระบวนการสังเคราะห์ลิแกนด์อะโซ	9
รูปที่ 2.5	ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของกระบวนการในการสังเคราะห์สีย้อมอะโซ	10
รูปที่ 2.6	การสังเคราะห์อะโซลิแกนด์	11
รูปที่ 2.7	ปริมาณการใช้สีย้อมอะโซคือ Reactive dye, Acid dye, Direct dye, Disperse dye และอื่น ๆ ในอุตสาหกรรม	12
รูปที่ 2.8	กลไกการกำจัดและการย่อยสลายสีย้อมอะโซด้วยเอนไซม์อะโซรีดักเทส	22
รูปที่ 2.9	กลไกการย่อยสลายสีย้อมอะโซแบบไม่ใช้ออกซิเจนและใช้ออกซิเจนด้วยจุลินทรีย์	23
รูปที่ 2.10	การเปลี่ยน Catechol เป็น Acetyl CoA เข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle) ด้วยกลไกการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน	24
รูปที่ 3.1	องค์ประกอบของถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (Continuous stirred tank reactor: CSTR)	40
รูปที่ 4.1	ประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ ของยีสต์ไอโซเลตที่คัดเลือกได้จากดินบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้าบาติก	48
รูปที่ 4.2	ลักษณะโคโลนีของยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	47
รูปที่ 4.3	การกำจัดสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ โดยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> (A-K) ลักษณะของสีก่อนและหลังการบำบัดในอาหารเหลว Martin (A) Acid Orange II (AO II), (B) Reactive Violet 5 (RV 5), (C) Acid Red 57 (AR 57), (D) Acid Blue 113 (AB 113), (E) Reactive Red 120 (RR 120), (F) Reactive Yellow 84 (RY 84), (G) Acid Red 73 (AR 73), (H) Acid Blue 221 (AB 221), (I) Reactive Green 19 (RG 19), (J) Reactive Black 5 (RB 5) และ (K) Reactive Red M5B (RR M5B) โดย (1) ลักษณะสีย้อมอะโซก่อนการบำบัดสี (2) หลังจากบำบัดสี และ (3) ส่วนใสของสีย้อมอะโซหลังการบำบัดที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง (L) ลักษณะของสีหลังการบำบัดบนอาหารแข็ง Martin	52

สารบัญญภาพ (ต่อ)

	หน้า	
รูปที่ 4.4	ประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วย ยีสต์ <i>P.kudriavzevii</i>	53
รูปที่ 4.5	ผลของชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนต่อการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> โดย (A) ความเข้มข้นของกลูโคส และ (B) ความ เข้มข้นของซูโครส	56
รูปที่ 4.6	ผลของชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนต่อการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>Pichia kudriavzevii</i> โดย (A) ความเข้มข้นของแอมโมเนียม ซัลเฟต และ (B) ความเข้มข้นของยูเรีย	58
รูปที่ 4.7	ผลของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	60
รูปที่ 4.8	ผลของพีเอชต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	61
รูปที่ 4.9	ผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	62
รูปที่ 4.10	ผลของความเร็วยรอบในการเขย่าต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	57
รูปที่ 4.11	ประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> โดย (A) เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อม Acid Red 73 (B) การเจริญเติบโตของยีสต์ <i>P.</i> <i>kudriavzevii</i> ที่ความเข้มข้นของสีย้อม Acid Red 73 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และความเร็วยรอบในการเขย่า 160 รอบ ต่อนาที โดยที่ GA (0.5): Glucose 2 g/L, (NH ₄) ₂ SO ₄ 0.5 g/L, GA (1): Glucose 2 g/L, (NH ₄) ₂ SO ₄ 1 g/L, SA (0.5): Sucrose 2 g/L, (NH ₄) ₂ SO ₄ 0.5 g/L และ SA (1): Sucrose 2 g/L, (NH ₄) ₂ SO ₄ 1 g/L	64
รูปที่ 4.12	ผลการกำจัดสี Acid Red 73 ในสภาวะที่ไม่มีอาหาร ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	65
รูปที่ 4.13	รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมก่อนและหลังการบำบัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	66

สารบัญญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.14 IR spectra ของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัด โดยที่ (A) สีย้อม Acid Red 73 ก่อนการบำบัด (B) สีย้อม Acid Red 73 หลังการบำบัด ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	67
รูปที่ 4.15 ลักษณะของพีก (Peak) ที่วิเคราะห์ด้วย Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS) ของสีย้อม Acid Red 73 หลังการบำบัดด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	69
รูปที่ 4.16 สเปกตรัมที่แสดงน้ำหนักของสารและการแตกของโมเลกุลของสารเมตาบอลิต์ หลังจากกระบวนการย่อยสลายของสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> โดย (A) Aniline (B) 1,4-aminobenzene (C) Catechol และ (D) 3,7-dihydroxy-octahydro-naphthalene-2,6-dione ที่วิเคราะห์ด้วย Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS)	70
รูปที่ 4.17 วิธีที่เป็นไปได้ของการย่อยสลายของสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ที่วิเคราะห์ด้วย Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS)	73
รูปที่ 4.18 กลไกการเปลี่ยน Catechol เป็น Acetyl CoA จากการย่อยสลายของสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	75
รูปที่ 4.19 การเจริญเติบโตของต้นผักบุ้ง (<i>Ipomoea aquatica</i>) (A) การเจริญเติบโตบนจานอาหารเพาะเชื้อ (B) ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้ง โดย (A-B) i) น้ำกลั่น ii) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร iii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร iv) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 ก่อนการบำบัด) vi) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร vii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร viii) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 หลังการบำบัด) (C) ลักษณะของรากที่ถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบถ่ายภาพได้ (100X) โดยที่ i) น้ำกลั่น ii) Acid Red 73 ก่อนการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) iii) Acid Red 73 หลังการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	74

สารบัญญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.20 ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้ง (<i>Ipomoea aquatica</i>) โดยที่ (A) Root length (B) Shoot length และ (C) Seeding length	76
รูปที่ 4.21 ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้ง (<i>Ipomoea aquatica</i>) โดยที่ (D) Dry weight (E) Relative seed germination index: (RSGI) (F) %Root inhibition	77
รูปที่ 4.22 การเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว (<i>Vigna radiata</i>) (A) การเจริญเติบโตบนจานอาหารเพาะเชื้อ (B) ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว โดยที่ (A-B) i) น้ำกลั่น ii) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร iii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร iv) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 ก่อนการบำบัด) vi) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร vii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร viii) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 หลังการบำบัด) (C) ลักษณะของรากที่ถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบถ่ายภาพได้ (100X) โดยที่ i) น้ำกลั่น ii) Acid Red 73 ก่อนการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) iii) Acid Red 73 หลังการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	80
รูปที่ 4.23 ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัด ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว (<i>Vigna radiata</i>) โดยที่ (A) Root length (B) Shoot length และ (C) Seeding length	81
รูปที่ 4.24 ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว (<i>Vigna radiata</i>) โดยที่ (D) Dry weight (E) Relative seed germination index: (RSGI) (F) %Root inhibition	82

สารบัญญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.25	84
การเจริญเติบโตของต้นผักกาดกวางตุ้ง (<i>Brassica pekinensis</i>) โดย (A) การเจริญเติบโตบนจานอาหารเพาะเชื้อ (B) ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นผักกาดกวางตุ้ง (Acid Red 73 หลังการบำบัด โดยที่ (A-B) i) น้ำกลั่น ii) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร iii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร iv) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 ก่อนการบำบัด) vi) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร vii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร viii) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 หลังการบำบัด) (C) ลักษณะของรากที่ถ่ายภาพใต้อกล้องจุลทรรศน์แบบถ่ายภาพได้ (100X) โดยที่ i) น้ำกลั่น ii) Acid Red 73 ก่อนการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) iii) Acid Red 73 หลังการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i>	
รูปที่ 4.26	85
ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของผักกาดกวางตุ้ง (<i>Brassica pekinensis</i>) โดยที่ (A) Root length (B) Shoot length และ (C) Seeding length	
รูปที่ 4.27	86
ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นผักกาดกวางตุ้ง (<i>Brassica pekinensis</i>) โดยที่ (D) Dry weight (E) Relative seed germination index: (RSGI) (F) %Root inhibition	
รูปที่ 4.28	88
ถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) ระดับห้องปฏิบัติการที่ออกแบบสำหรับการบำบัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> โดยหมายเลข 1) Feed tank 2) Peristaltic pump 3) Air pump 4) CSTR 5) Effluent tank	
รูปที่ 4.29	89
ประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และการเจริญเติบโตของยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR)	
รูปที่ 4.30	90
ค่าซีโอดีและประสิทธิภาพของการกำจัดซีโอดีของสีย้อม Acid Red 73 ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ก่อนและหลังการบำบัดในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR)	

สารบัญญภาพ (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.31 ปริมาณของแข็งแขวนลอยแบบไม่ปั่นเหวี่ยงในสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง	91
รูปที่ 4.32 ปริมาณของแข็งแขวนลอยแบบปั่นเหวี่ยงในสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ <i>P. kudriavzevii</i> ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง	92

Prince of Songkla University
Pattani Campus

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันประเทศไทยมีโรงงานอุตสาหกรรมสิ่งทอจำนวนมากและมีการส่งออกสิ่งทอไปขายต่างประเทศในแต่ละปีเป็นมูลค่าหลายหมื่นล้านบาท ซึ่งนำรายได้มาสู่ประเทศไทยอย่างสูง โดยพบว่าอุตสาหกรรมสิ่งทอมีการใช้สีย้อมในปริมาณมาก นอกจากอุตสาหกรรมสิ่งทอแล้วอุตสาหกรรมอื่น ๆ ที่มีการใช้สีย้อมในกระบวนการผลิต ได้แก่ อุตสาหกรรมฟอกย้อมผ้า สิ่งพิมพ์ การถ่ายภาพ อุตสาหกรรมพลาสติกและอื่น ๆ (Anliker, 1977) ส่งผลทำให้มีการใช้สีย้อมปริมาณเพิ่มสูงขึ้น โดยสีย้อมส่วนใหญ่เป็นสีย้อมที่ได้จากการสังเคราะห์มากกว่าสีย้อมจากธรรมชาติ เนื่องจากสีย้อมสังเคราะห์มีคุณภาพที่แน่นอน ติดทนนาน ละลายน้ำได้ดีและดูดซับกับเส้นใยได้ง่ายกว่าสีธรรมชาติ รวมทั้งสีสังเคราะห์ยังหาได้ง่ายและมีราคาถูก ส่งผลให้สีสังเคราะห์ได้รับความนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มากกว่าสีย้อมจากธรรมชาติ ในปัจจุบันสีสังเคราะห์มีมากกว่า 100,000 ชนิด และมีการประมาณการว่าในแต่ละปีทั่วโลกมีการผลิตสีสังเคราะห์เกือบ 1 ล้านตัน เพื่อนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ทั่วโลก (ไตรมาศ และคณะ, 2554) สีย้อมที่ใช้ในอุตสาหกรรมมีหลายชนิด สีย้อมอะโซอิกถือว่าเป็นสีย้อมที่มีการสังเคราะห์มาใช้ในทางการค้ามากที่สุดเนื่องจากเป็นสีที่นิยมใช้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสีย้อมชนิดต่าง ๆ ถึง 60-70% ของสีย้อมทั้งหมด (Chen, 2002) โดยสีย้อมอะโซอิกซึ่งเป็นสีย้อมที่มีหมู่อะโซ (-N=N-) 1 หมู่หรือมากกว่า 1 หมู่ ต่อกับวงอะโรมาติกในโครงสร้างซึ่งเป็นหมู่โครโมฟอร์ที่ทำให้เกิดสีแตกต่างกันตามโครงสร้างที่แตกต่างกัน (Forgacs *et al.*, 2004) ในกระบวนการย้อมผ้าประมาณ 10-15% ของสีย้อมมีการระบายออกสู่น้ำทิ้ง เนื่องจากสีย้อมเหล่านั้นไม่สามารถยึดติดกับเส้นใยได้ (Singh *et al.*, 2015) สีสังเคราะห์เหล่านี้มักปนเปื้อนในน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมและก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อม เช่น การขัดขวางการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช เนื่องจากโมเลกุลของสีย้อมละลายในน้ำทำให้ลดปริมาณการส่องผ่านของแสงลงสู่แหล่งน้ำ เป็นสาเหตุให้ปริมาณออกซิเจนในแหล่งน้ำลดลงและส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ (สุตสายชล และสุบัญญัติ, 2550; ไตรมาศ และคณะ, 2554; Chander and Arora, 2007) จากการรายงานของ Umbuzeiro *et al.* (2005) สีย้อมสังเคราะห์ที่แพร่กระจายในสิ่งแวดล้อมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและเป็นสารมลพิษที่สะสมในแหล่งน้ำผิวดินและแหล่งน้ำใต้ดิน ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำ สิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำและสุขภาพของมนุษย์ นอกจากนี้สีย้อมและสารเมตาบอไลต์บางชนิดหลังจากเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือย่อยสลายแล้วเกิดเป็นอะโรมาติกเอมีน (Aromatic amine) ซึ่งจัดเป็นสารสารก่อมะเร็งและก่อการกลายพันธุ์ในมนุษย์และสัตว์ (Levine,

1991) จากคุณสมบัติของสีย้อมสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนทำให้สีเหล่านี้มีความคงตัวสูงทนต่อการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในธรรมชาติทำให้น้ำเสียที่เกิดจากโรงงานการผลิตสีย้อม อุตสาหกรรมสิ่งทอหรืออุตสาหกรรมอื่น ๆ ที่มีการใช้สีย้อมไม่สามารถที่จะกำจัดออกได้โดยวิธีการบำบัดน้ำเสียโดยกระบวนการทางธรรมชาติ ในปัจจุบันวิธีการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมมี 3 วิธีด้วยกันคือ

- 1) วิธีทางกายภาพ เช่น การใช้ถ่านกัมมันต์ แต่วิธีนี้ยังมีข้อจำกัดคือ เมื่อบนผิวของตัวดูดซับไม่มีคุณสมบัติในการดูดซับแล้ว จะทำให้เกิดการสะสมของเสียจากตัวถูกดูดซับ (Duygu and Van, 2010)
- 2) วิธีทางเคมี เช่น วิธีการปรับค่าพีเอชสารทำให้สารตกตะกอน (Coagulant) ซึ่งสารที่นิยมใช้เป็นสารเคมีสำหรับการตกตะกอนสาร ได้แก่ สารส้ม (Aluminium Sulfate; Alum) ปูนขาว (Calcium oxide) และเหล็กในรูปเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) หรือเฟอร์รัสคลอไรด์ ($FeCl_2$) แม้ว่าการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการทางเคมีจะเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็วกว่าวิธีอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตามการบำบัดน้ำทิ้งด้วยวิธีเคมีต้องใช้พลังงานและค่าใช้จ่ายสูงเพราะต้องซื้อสารเคมีในการบำบัดจำนวนมาก รวมทั้งต้องเสียค่าใช้จ่ายในการบำบัดกากตะกอนที่เกิดจากการบำบัดน้ำเสีย ดังนั้นวิธีบำบัดทางเคมีจึงเป็นวิธีที่ไม่คุ้มค่าต่อการบำบัดน้ำเสียดังกล่าวเพราะมีค่าใช้จ่ายที่สูงจนเกินไปทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นและอาจเกิดสารที่มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต ดังนั้นวิธีที่ 3) วิธีทางชีวภาพ เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันวิธีนี้เป็นกระบวนการที่เกิดจากการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา และยีสต์ กระบวนการทางชีวภาพเป็นกระบวนการที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ไม่เกิดเป็นสารพิษทุติยภูมิ โดยจุลินทรีย์ย่อยสลายสีย้อมด้วยวิถีอะโซรีดักชัน (Azo reduction) ดีอะมิเนชัน (Deamination) และดีซัลโฟเนชัน (Desulfonation) ความเป็นพิษของสีย้อมลดลงเมื่อเทียบกับสีย้อมเริ่มต้น (Tan *et al.*, 2016) จากกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพพบว่า สารตัวกลางที่ได้จากกระบวนการย่อยซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) หรือกรดอะลิฟาติก (Aliphatic acid) จะเกิดการเปลี่ยนเป็นแคทีคอล (Catechol) และถูกเปลี่ยนเป็นอะซิติลโคเอนไซม์ เอ (Acetyl CoA) ซึ่งเป็นสารสำคัญในการเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle) อีกทั้งจุลินทรีย์ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมในช่วงกว้าง เช่น พีเอชต่ำหรือสูง และความเข้มข้นของเกลือสูง ซึ่งเป็นสภาวะที่มักพบในน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการย้อมผ้า (Qu *et al.*, 2012) สำหรับในอุตสาหกรรมกระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีวภาพจะนิยมทำในถังปฏิกรณ์ จากระายงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า การบำบัดสีย้อมอะโซในถังปฏิกรณ์มีกระบวนการ 2 แบบคือ กระบวนการที่ไม่ใช้ออกซิเจนและใช้ออกซิเจน โดยกระบวนการแบบใช้ออกซิเจนมีประสิทธิภาพในการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมได้สมบูรณ์ เกิดสารทุติยภูมิที่ไม่เป็นพิษ และสามารถประยุกต์ใช้งานกับโรงงานอุตสาหกรรมที่ต้องการบำบัดน้ำเสีย โดยถังปฏิกรณ์ส่วนใหญ่ มี 2 รูปแบบ คือ 1) ถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (Continuous stirred tank reactor: CSTR) (Sponza and Isik, 2002; Isik and Sponza., 2004) และ 2) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพด้วยแผ่นเยื่อกรอง (Membrane process) (García-Martínez *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2015)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจการคัดแยกยีสต์จากดินที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมจากบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้าบาติก เพื่อนำยีสต์ที่คัดแยกได้ไปใช้ในการบำบัดสีย้อมอะโซ่ทั้งในระบบแบบกะ (Batch system) และในถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (Continuous system) รวมถึงศึกษาวิถี (Pathway) ที่เป็นไปได้ของกระบวนการย่อยสลายสีย้อมอะโซ่ด้วยยีสต์ และศึกษาความเป็นพิษของสีย้อมหลังจากการบำบัด ผลที่ได้จากการศึกษาจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำยีสต์สายพันธุ์ที่คัดแยกได้และกระบวนการที่ได้จากผลการศึกษาไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าหรืออุตสาหกรรมอื่น ๆ ที่มีการใช้สีในปริมาณมาก ซึ่งจะช่วยลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากโรงงานอุตสาหกรรมเหล่านี้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อคัดแยกยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมอะโซ่จากดินที่ปนเปื้อนน้ำเสียสีย้อม

1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ่ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ในระบบแบบกะ (Batch system) และในถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (Continuous system)

1.2.3 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสีย้อมอะโซ่หลังการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ และทำนายวิถีที่เป็นไปได้ในการย่อยสลายสีย้อมด้วยยีสต์

1.2.4 เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารที่เกิดขึ้นหลังการบำบัดสีย้อมอะโซ่ด้วยยีสต์ที่มีต่อพืช

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 สามารถคัดแยกยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมอะโซ่ จากดินบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้าบาติก จังหวัดปัตตานี

1.3.2 ทราบประสิทธิภาพในการบำบัดสีย้อมอะโซ่ ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ในระบบแบบกะ (Batch system) และในถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (Continuous system)

1.3.3 ทราบความแตกต่างของโครงสร้างทางเคมีของสีย้อมอะโซ่ ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้จากผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV-Visible spectrophotometry, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) และ Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)

1.3.4 ทราบความเป็นพิษของสีย้อมหลังการบำบัดที่มีต่อพืชที่ใช้ทดสอบ

1.3.5 ได้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับการบำบัดและการย่อยสลายสีย้อมด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ รวมถึงสถานะที่มีผลให้ยีสต์ดังกล่าวสามารถทำงานได้ดีที่สุด เพื่อนำไปปรับใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสีย้อม

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปัญหาน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมจากอุตสาหกรรมสิ่งทอ

ปัจจุบันปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะมลพิษทางน้ำที่เกิดจากการเจริญเติบโตทางอุตสาหกรรมนับทวีความรุนแรงมากขึ้น โดยเฉพาะอุตสาหกรรมสิ่งทอซึ่งเป็นอุตสาหกรรมที่มีการขยายตัวสูง ทำให้มีการพัฒนาทั้งทางด้านกระบวนการผลิตและการแข่งขันที่สูงขึ้นเพื่อเพิ่มปริมาณสินค้าหรือผลิตภัณฑ์ให้มากขึ้น ซึ่งอุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นอุตสาหกรรมที่ใช้สีในปริมาณมาก โดยสีย้อมสามารถปนเปื้อนลงสู่น้ำทิ้งของโรงงานได้ตั้งแต่ 2-50% จากปริมาณสีที่ใช้ทั้งหมดในกระบวนการผลิต ทำให้น้ำผิวดินและน้ำใต้ดินบริเวณโดยรอบโรงงานย้อมผ้ามีการปนเปื้อนของสีย้อม จากกระบวนการผลิตสีย้อมพบว่าสีย้อมประมาณ 2% (9,000 ตัน) ของปริมาณที่ผลิตขึ้นในกระบวนการผลิตสีย้อม (450,000 ตัน) ถูกปลดปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม (Brown, 1987; ไตรมาศและคณะ, 2554) และได้มีการประมาณการณ์ว่าในแต่ละปีทั่วโลกมีการปนเปื้อนของสีย้อมในน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมประมาณ 280,000 ตัน (Jin *et al.*, 2007; ไตรมาศและคณะ, 2554) โดยอุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมที่มีการปล่อยน้ำเสียลงสู่สิ่งแวดล้อมมากที่สุด เนื่องจากต้องใช้น้ำปริมาณมหาศาลตลอดกระบวนการผลิต น้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าเป็นน้ำเสียที่ประกอบด้วยสารเคมีต่าง ๆ หลากหลายชนิดที่ใช้ในกระบวนการผลิตสิ่งทอ เช่น สีย้อมชนิดต่าง ๆ สารช่วยในการกระจายสี (Dispersant agent) กรด ต่าง เกลือ สารซักฟอก สารออกซิไดส์และสารอื่น ๆ (Saratale *et al.*, 2011; ไตรมาศและคณะ, 2554) สีย้อมอะโซที่ปนเปื้อนในน้ำทิ้งเป็นสารประกอบทางเคมีที่ย่อยสลายได้ยาก เนื่องจากโครงสร้างที่ซับซ้อนและมีความคงทนในธรรมชาติ รวมทั้งสีเหล่านี้ผลิตมาจากสารเคมีที่เป็นอันตรายและมีผลให้เกิดมะเร็งได้ เช่น อะนิลีน (Aniline) เบนซิดีน (Benzidine) แนฟทาลีน (Naphthalene) และสารอะโรมาติกอื่น ๆ (Clarke and Anliker, 1980; Levine, 1991; ไตรมาศและคณะ, 2554) ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องกำจัดสีเหล่านี้ในน้ำทิ้งอุตสาหกรรมก่อนปล่อยออกสู่แหล่งน้ำ

2.2 สีย้อมสังเคราะห์ (Synthetic dyestuffs)

สีย้อมสังเคราะห์เป็นสีย้อมที่เกิดขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี จากบทความวิชาการ ซึ่งรายงานโดยชนิษฐา (2550) เกี่ยวกับการจำแนกชนิดของสีย้อมมีดังนี้ การจำแนกสีย้อมที่นิยมกันมากที่สุด คือ การจำแนกสีย้อมตามการนำไปใช้ โดยสีย้อมแต่ละประเภทจะมีสูตรโครงสร้างทางเคมี สมบัติของสีย้อม ตลอดจนวิธีใช้งานที่แตกต่างกันไป ดังนั้นการเลือกใช้สีย้อมจึงมีความสำคัญ

อย่างมากในการย้อมเพราะวัตถุดิบที่ต้องการย้อมอาจสามารถย้อมด้วยสีย้อมเพียงชนิดเดียวหรือย้อมด้วยสีย้อมหลายชนิดที่ต่างชนิดกันได้ ซึ่งในกลุ่มโรงงานอุตสาหกรรมสิ่งทอได้แบ่งสีย้อมตามวิธีใช้งานออกเป็น 2 วิธี ดังนี้ 1) จำแนกประเภทตามโครงสร้างทางเคมี และ 2) จำแนกตามกรรมวิธีในการย้อม ซึ่งในกลุ่มโรงงานอุตสาหกรรมได้จำแนกสีย้อมตามวิธีใช้ออกเป็น 11 ประเภท ดังนี้

1. สีเอซิด (Acid dye) สีชนิดนี้เกิดจากสารประกอบอินทรีย์มีประจุลบ ละลายน้ำได้ดี ส่วนใหญ่เป็นเกลือของกรดกำมะถัน กลไกในการติดสีเกิดเป็นพันธะไอออนิก ใช้ย้อมเส้นใยโปรตีนในน้ำย้อมที่มีสภาพเป็นกรดเจือจาง สีเอซิดบางตัวสามารถนำไปใช้ย้อมเส้นใยเซลลูโลสบริสุทธิ์ได้ เช่น ปอ ป่าน ไนลอน ไยขนแกะ ไหม และอะคริลิกได้ดี

2. สีไดเร็กต์ (Direct dye) หรืออาจเรียกว่าสีย้อมฝ้าย สีชนิดนี้ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอะโซที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มีหมู่กรดซัลโฟนิคที่ทำให้ตัวสีสามารถละลายน้ำได้ มีประจุลบ นิยมใช้ย้อมเส้นใยเซลลูโลส สีจะติดเส้นใยได้โดยโมเลกุลของสีจะจัดเรียงตัวแทรกอยู่ในระหว่างโมเลกุลเส้นใย และยึดจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน

3. สีเบสิก (Basic or Cationic dye) สีย้อมชนิดนี้เป็นเกลือของเบสอินทรีย์ (organic base) ให้ประจุบละลายน้ำได้ นิยมใช้ย้อมเส้นใยโปรตีน ไนลอนและใยอะคริลิกได้ดี ในขณะที่ย้อมโมเลกุลของสีส่วนที่มีประจุลบจะยึดจับกับโมเลกุลของเส้นใย เป็นสีที่ติดทน

4. สีดีสเพอร์ส (Disperse dye) เป็นสีที่ไม่ละลายน้ำแต่มีสมบัติกระจายตัวได้ดี สามารถย้อมเส้นใยอะซิเตทโพลีเอสเตอร์ ไนลอน และอะคริลิกได้ดี การย้อมจะใช้สารตัวพา (carrier) เพื่อช่วยเร่งอัตราการดูดซึมของสีเข้าไปในเส้นใยหรือย้อมโดยใช้อุณหภูมิ และความดันสูง

5. สีรีแอกทีฟ (Reactive dye) เป็นสีที่ละลายน้ำได้มีประจุลบ เมื่ออยู่ในน้ำจะมีสมบัติเป็นด่าง สีย้อมชนิดนี้เหมาะกับการย้อมเส้นใยเซลลูโลสมากที่สุด โมเลกุลของสีจะยึดจับกับหมู่ไฮดรอกไซด์ (OH) ของเซลลูโลสและเชื่อมโยงติดกันด้วยพันธะโควาเลนต์ในสภาวะที่เป็นด่าง กลายเป็นสารประกอบเคมีชนิดใหม่กับเซลลูโลสสีรีแอกทีฟมี 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ย้อมติดที่อุณหภูมิสูง 70-75 องศาเซลเซียส และกลุ่มที่ย้อมติดที่อุณหภูมิต่ำ สีรีแอกทีฟให้สีที่สดใส

6. สีอะโซอิก (Azoic dye) สีย้อมชนิดนี้ไม่สามารถละลายน้ำได้ การที่สีจะก่อรูปเป็นเส้นใยได้ต้องย้อมด้วยสารประกอบฟีนอลซึ่งละลายน้ำได้ก่อน ซึ่งเป็นกระบวนการทำให้รวมตัวเป็นสี (coupling) แล้วย้อมทับด้วยสารไดอะโซคอมโพเนนต์ (Diazo component) จึงจะเกิดเป็นสีได้ สีอะโซอิกใช้ย้อมเส้นใยได้ทั้งเซลลูโลส ไนลอน หรืออะซิเตท สีอะโซอิกเป็นสีที่ทนต่อการซักแต่ไม่ทนต่อการขัดถู

7. สีแว้ต (Vat dye) เป็นสีที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ เมื่อทำการย้อมต้องเตรียมน้ำย้อมให้สีแว้ตละลายน้ำโดยให้ทำปฏิกิริยากับสารรีดิวซ์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ สีแว้ตจะถูกรีดิวซ์ให้กลายเป็นเกลือแล้วซึมเข้าไปในเส้นใยได้ เมื่อนำผ้าไปผึ่งในอากาศ สีในเส้นใยจะถูกออกซิไดส์เป็นสี

แรวด์ สีย้อมชนิดนี้มีส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญอยู่ 2 ชนิด คือ สีอินดิโก (indigoid) และสีแอนทราควินอยด์ (antraquinoid)

8. สีมอร์แดนท์ หรือโครม (Mordant or Chrome dye) สีย้อมชนิดนี้ต้องใช้สารช่วยติดเข้าไปช่วยเพื่อให้เกิดการติดสีบนเส้นใย สารที่ช่วยติดที่ใช้คือ สารประกอบออกไซด์ของโลหะ เช่น โครเมียม ดีบุก เหล็ก อะลูมิเนียม เป็นต้น สีมอร์แดนท์เป็นสีที่มีโมเลกุลใหญ่ซึ่งเกิดจากสีมอร์แดนท์หลายโมเลกุลจับกับโลหะแล้วละลายน้ำได้จึงทำให้ย้อมได้ง่าย ซึ่งใช้ย้อมเส้นใยโปรตีนและเส้นใยพอลิเอไมต์ได้ดี

9. สีอินเกรน เป็นสีที่ไม่ละลายน้ำ โดยจะเกิดเป็นคอลลอยด์หลังจากเกิดปฏิกิริยากับน้ำ สีย้อมชนิดนี้ใช้สำหรับย้อมผ้าฝ้าย

10. สีออกซิเดชัน (Oxidation dye) เป็นสีที่ละลายน้ำโดยจะเกิดเป็นคอลลอยด์หลังจากเกิดปฏิกิริยาในน้ำโดยสีจะติดแน่น อาศัยปฏิกิริยาการตกตะกอนผลึกภายในเส้นใย ใช้สำหรับย้อมผ้าฝ้ายและขนสัตว์

11. สีซัลเฟอร์ (Sulfer dye) เป็นสีที่ไม่ละลายน้ำ เมื่อทำการย้อมต้องรีดิวซ์สีเพื่อให้โมเลกุลอยู่ในสภาพที่ละลายน้ำได้ แต่สีซัลเฟอร์บางชนิดที่ผลิออกมาจำหน่ายในรูปที่ถูกรีดิวซ์จะละลายน้ำได้ นิยมนำสีซัลเฟอร์มาย้อมผ้าฝ้าย (ชนิษฐา, 2550)

ซึ่งการเลือกใช้สีย้อมแต่ละชนิดในการย้อมเส้นใยหรือวัสดุต่าง ๆ ในอุตสาหกรรมดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 การเลือกใช้สีย้อมแต่ละชนิดในการย้อมเส้นใยหรือวัสดุในอุตสาหกรรม

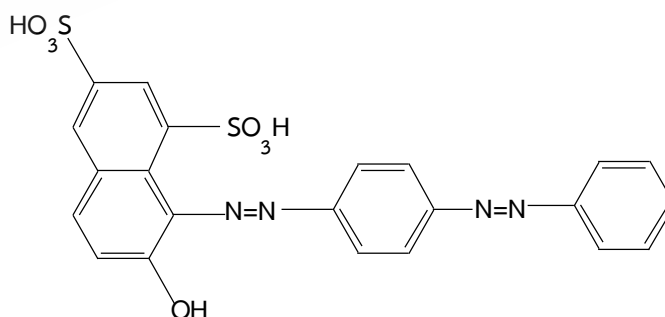
Group	Application
Direct	Cotton, Cellulosic and Blends
Vat dyes	Cotton, Cellulosic and Blends
Sulphur	Cotton, Cellulosic fibers
Reactive	cellulosic fibers and fabric
Dispersed dyes	Synthetic fibers
Acid Dyes	Wool, Silk, Synthetic fibers, leather
Azoic	Printing inks and pigments
Basic	silk, wool,cotton
Oxidation dyes	Hair
Mordant dyes	Cellulosic fibers and Fabric, Silk, Wool

(TextInfo, 2011)

2.3 สีย้อมอะโซ (Azo dye)

สีย้อมอะโซ (Azo dyes) เป็นสีย้อมที่สามารถละลายน้ำได้ โดยในโครงสร้างจะประกอบด้วยหมู่อะโซ (-N=N-) และมีวงอะโรมาติก 1 วง หรือมากกว่าในโครงสร้าง สีย้อมกลุ่มนี้มีการสังเคราะห์ใช้มากที่สุดในการค้า จากการรายงานพบว่า สีย้อมอะโซเป็นสีย้อมที่ใช้กันมากที่สุด 60-70% ของสีย้อมทั้งหมด (Chen, 2002) และอีกกลุ่มคือ สีย้อมแอมมิโนแอนทราควิโนน (Amino anthraquinone) ซึ่งทั้ง 2 กลุ่ม ประกอบด้วยอนุพันธ์ของเอทานอลามีน (Ethanolamine; $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) หรืออนุพันธ์ที่คล้ายคลึงกัน

สีย้อมอะโซ เป็นสีย้อมสังเคราะห์ที่มีหมู่อะโซ (Azo group) (-N=N-) หนึ่งหมู่หรือมากกว่า ต่ออยู่กับวงอะโรมาติกในโครงสร้างของสี ดังแสดงในรูปที่ 2.1 ซึ่งองค์ประกอบดังกล่าวในโครงสร้างทำหน้าที่เป็นโครโมฟอร์ และมีออกโซโครมได้หลายกลุ่ม สีย้อมอะโซเป็นกลุ่มสีที่มีการนำมาใช้มากที่สุดในอุตสาหกรรมสิ่งทอโดยเฉพาะในการฟอกย้อม สีย้อมอะโซมีให้เลือกในทุกระดับสีเนื่องจากหมู่อะโซ (-N=N-) จะต่ออยู่กับโครงสร้างของเบนซีนเนพทาลิน โครงสร้าง Aromatic heterocyclic หรือโครงสร้าง Aliphatic และยังประกอบด้วยหมู่ที่ต่อกับโครงสร้างเหล่านี้ เช่น หมู่ของเมทอกซี (Methoxy) ไฮดรอกซี (Hydroxy) คาร์บอกซิล (Carboxyl) ไนโตร (Nitro) คลอโร (Chloro) และซัลโฟเนต (Sulphonate) ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้เป็นตัวกำหนดให้เกิดโครงสร้างสีแบบต่าง ๆ (Razo-Flores *et al.*, 1997) แต่จะนิยมใช้ในช่วงสีเหลือง แสด แดง น้ำตาลและดำ อีกทั้งสีย้อมอะโซเป็นสีที่สังเคราะห์ได้ง่าย ละลายน้ำได้ดี มีความสว่างสดใสและความคงทนต่อแสงอยู่ในเกณฑ์ปานกลางถึงดี ที่สำคัญคือ ราคาไม่แพง (กาวิ, 2545)



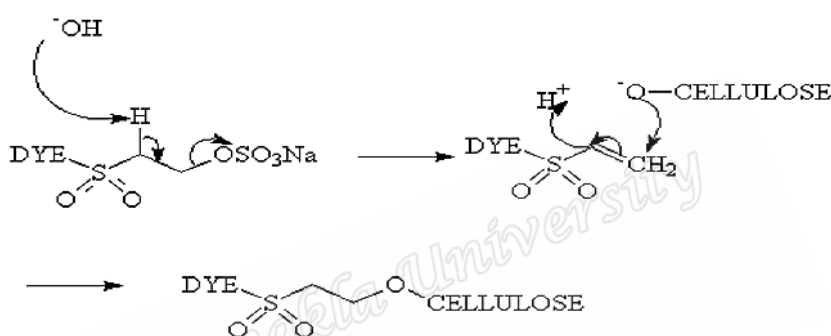
รูปที่ 2.1 โครงสร้างของสี Acid Red 73 (Tan *et al.*, 2013)

2.3.1 การแบ่งประเภทชนิดของสีย้อมอะโซ

Bardi and Marzona. (2010) ได้แบ่งประเภทของสีย้อมอะโซออกเป็น 4 ชนิดตามกระบวนการย้อมและการประยุกต์การใช้งาน

1) สีเอซิด (Acid Dyes)

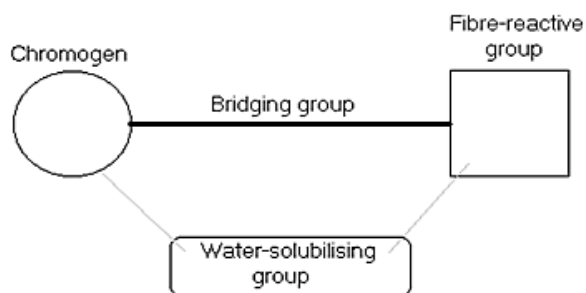
สีย้อมกลุ่มนี้ละลายน้ำได้ดี น้ำหนักโมเลกุลน้อย มีหมู่ซัลโฟเนต (Sulfonate) และโมโนอะโรมาติก (Aromatic mono compound) ที่เป็นองค์ประกอบ รวมถึงไดอะโซ (Diazo, -N=N-) ไนโตร (Nitro) อะมิโนแอนทราควิโนน (Amino anthraquinone) ไตรฟีนิลเมทไทน์ (Triphenylmethine) และกลุ่มอื่น ๆ โดยสีกลุ่มเอซิด (Acid dyes) ใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับการย้อมกระดาษ และหนัง หรือใช้เป็นเม็ดสี (Pigments) การประยุกต์ใช้งานของสีย้อมเอซิด (Acid dyes) คือสีย้อมที่นิยมย้อมร่วมกับโปรตีนของเส้นใยสัตว์ (ขนสัตว์และผ้าไหม) โดยกระบวนการย้อมเส้นใยอยู่ในช่วงของสารละลายกรดอ่อน (พีเอช 2-6)



รูปที่ 2.2 กระบวนการโดยทั่วไปของการยึดติดระหว่างเส้นใยและสีย้อมเอซิด (TextInfo, 2011)

2) สีรีแอกทีฟ (Reactive dyes)

สีย้อมที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของไฮดรอกไซด์ (-OH group) กับเซลลูโลส เช่น ผ้าฝ้าย และเกิดจากการทำปฏิกิริยาของ NH_2 และ SH ร่วมกันกับเส้นใยโปรตีน เช่น ขนสัตว์ เกิดการสร้างพันธะโคเวเลนต์ทำให้เกิดการย้อมอย่างถาวร



รูปที่ 2.3 โครงสร้างโดยทั่วไปของการแนบติดระหว่างเส้นใยกับสีย้อมรีแอกทีฟ (TextInfo, 2011)

3) สีไดเรกต์ (Direct dyes)

สีย้อมที่สังเคราะห์ขึ้นจากการเกาะติดของเส้นใย (Substantivity) โดยอาศัยแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุล ส่วนใหญ่จะใช้ย้อม ผ้าฝ้าย เครื่องหนัง กระดาษ ผ้าไหม และไนลอน (Nylon) คุณสมบัติละลายน้ำได้ดี ในกระบวนการย้อมจะใช้สารละลายต่างหรือต่างน้อยมาก

4) สีดีสเพอร์ส (Disperse dyes)

เป็นสีย้อมที่กระจายตัวได้ดีในน้ำ ไม่จัดอยู่ในประเภทสีย้อมที่มีความเป็นกรดและเบส โดยทั่วไปสีกลุ่มนี้จะใช้ย้อมพวกเซลลูโลสอะซิเตต (Cellulose acetate) ไนลอน (Nylon) ไตรอะซิเตต (Triacetate) และเส้นใยพอลิเอสเตอร์ (Polyester fibers) ในกระบวนการย้อมสีกลุ่ม Disperse dyes สามารถย้อมที่อุณหภูมิและความดันสูงได้

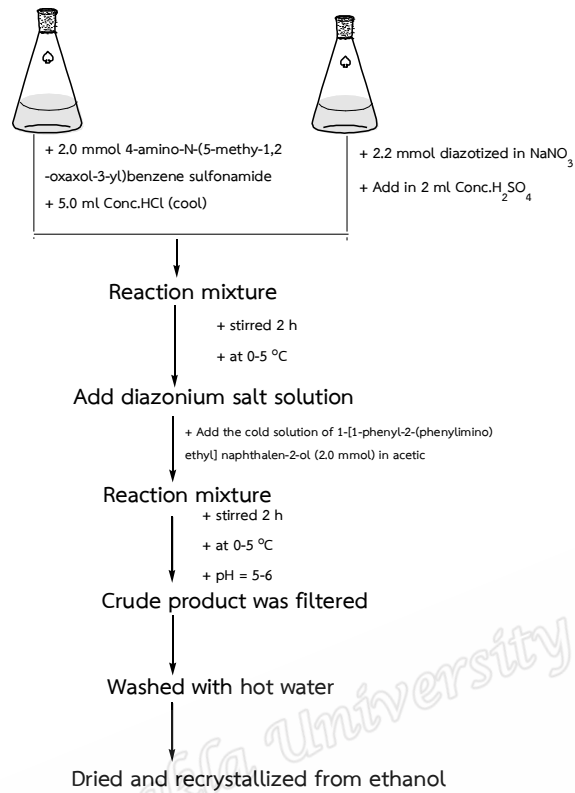
2.3.2 กระบวนการในการสังเคราะห์สีย้อมอะโซ

กระบวนการในการสังเคราะห์สีย้อมอะโซมี 2 กระบวนการ คือ 1) กระบวนการสังเคราะห์ลิแกนอะโซและ 2) การสังเคราะห์อะโซลิแกนร่วมกับโลหะทรานซิชัน (Mallikarjuna *et al.*, 2018)

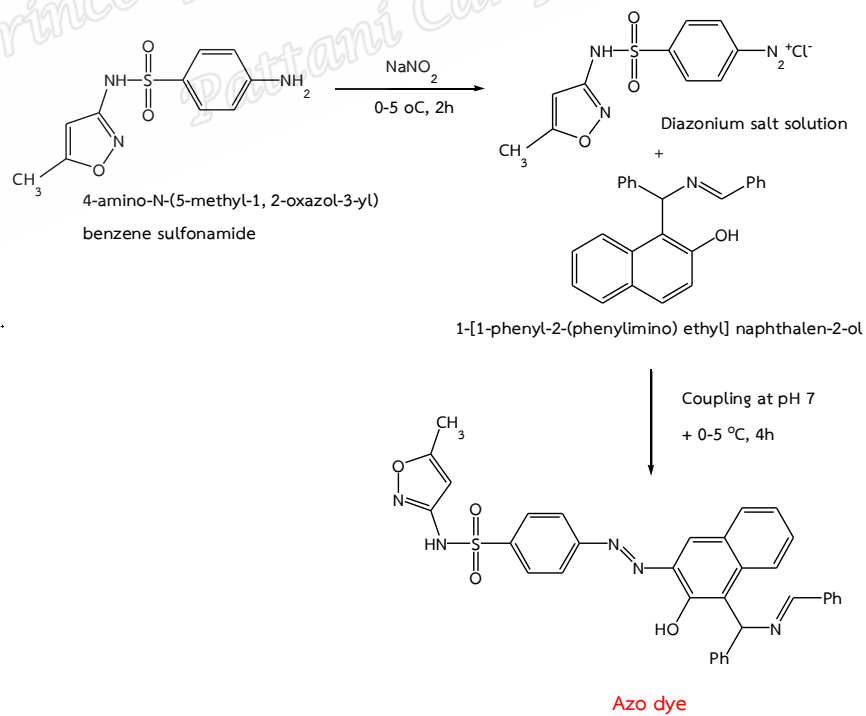
1. กระบวนการการสังเคราะห์ลิแกนอะโซ

เริ่มต้นการสังเคราะห์เพื่อได้สารละลายเกลือไดอะโซเนียม (Diazonium salt solution) จากนั้นสารละลายเกลือไดอะโซเนียมจะทำปฏิกิริยากับ 1-[1-phenyl-2-(phenylimino) ethyl] naphthalen-2-ol โดยสภาวะที่ใช้ในการสังเคราะห์สีย้อมอะโซจะใช้อุณหภูมิที่ต่ำ ๆ (0-5 องศาเซลเซียส) พีเอชที่เป็นกลาง (ดังแสดงในรูปที่ 2.4) หลังจากที่ได้สังเคราะห์โดยสมบูรณ์แล้วค่าพีเอชจะขึ้นอยู่กับชนิดของสีย้อม โดยโครงสร้างของสีย้อมอะโซหลังจากสังเคราะห์ โมเลกุลของสีย้อมอะโซจะมีโครโมฟอร์หมู่อะโซ (-N=N-) ที่เป็นโมนออะโซ (Monoazo, -N=N-) ไดอะโซ (Diazo, ที่มี -N=N- 2 โครโมฟอร์ในโครงสร้าง) และไตรอะโซ (Triazo, ที่มี -N=N- 3 โครโมฟอร์ในโครงสร้าง) การเกิดเฉดสีต่าง ๆ ของสีย้อมนั้นขึ้นอยู่กับโครงสร้างที่มาต่อกับหมู่อะโซ (-N=N-) ทำให้สามารถสังเคราะห์สีย้อมที่มีเฉดสีได้มากมายตามความต้องการของผู้ใช้งาน

โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจาก 4-amino-N-(5-methyl-1, 2-oxazol-3-yl) benzene sulfonamide ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไนเตรต (NaNO_2) เกิดเป็นเกลือไดอะโซเนียม (Diazonium salt) ที่อยู่ในรูปของสารละลาย จากนั้นเกลือไดอะโซเนียม (Diazonium salt) จะทำปฏิกิริยาต่อกับ 1-[1-phenyl-2-(phenylimino) ethyl] naphthalen-2-ol หลังจาก 4 ชั่วโมง จะได้สีย้อมอะโซ โดยสภาวะการสังเคราะห์ ดังแสดงในรูปที่ 2.5



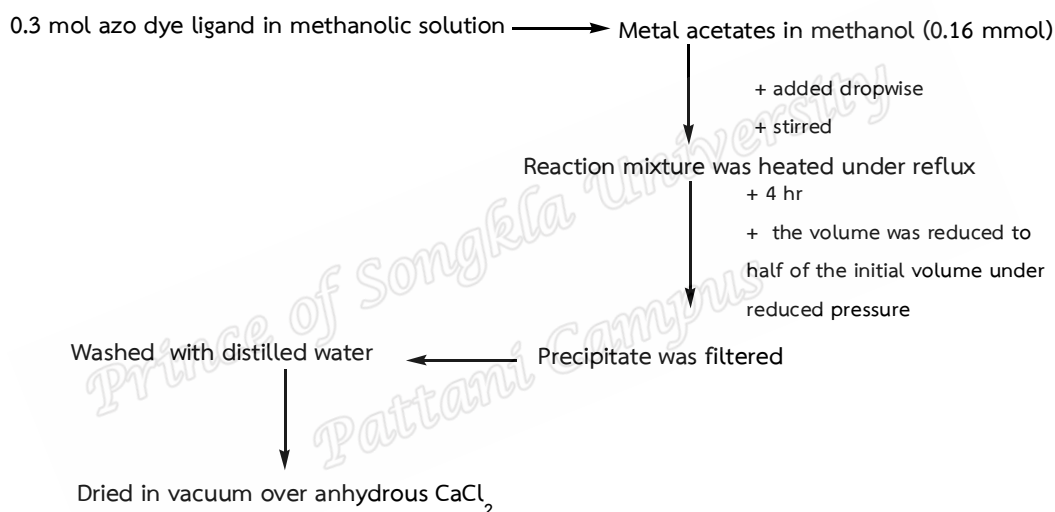
รูปที่ 2.4 กระบวนการสังเคราะห์ทีลิแกนอะโซ (ดัดแปลงจาก Mallikarjuna *et al*, 2018)



รูปที่ 2.5 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นของกระบวนการในการสังเคราะห์สีย้อมอะโซ (Mallikarjuna *et al*, 2018)

2. การสังเคราะห์อะโซลิแกน (ผลิตภัณฑ์จากขั้นที่ 1) ร่วมกับโลหะทรานซิชัน

ปัจจุบันนี้การสังเคราะห์สีย้อมอะโซมีการใช้โลหะที่เป็นโลหะทรานซิชัน (Transition metal) ที่มีโครงสร้างประกอบไปด้วยไนโตรเจน (Nitrogen) และซัลเฟอร์ (Sulfur) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งทำให้มีความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อได้รับสาร (Cytotoxicity) ยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายจุลินทรีย์ (Antimicrobial) ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการปรับเปลี่ยนวิธีการสังเคราะห์ เพื่อให้สีย้อมที่ผลิตได้เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด บริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น และลดการปนเปื้อนของโลหะที่ความเข้มข้นต่ำ หลังกระบวนการสังเคราะห์ เพื่อลดความเป็นพิษของสีย้อมต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยกระบวนการสังเคราะห์อะโซลิแกน (ผลิตภัณฑ์จากขั้นที่ 1) ร่วมกับโลหะทรานซิชัน ดังแสดงในรูปที่ 2.6

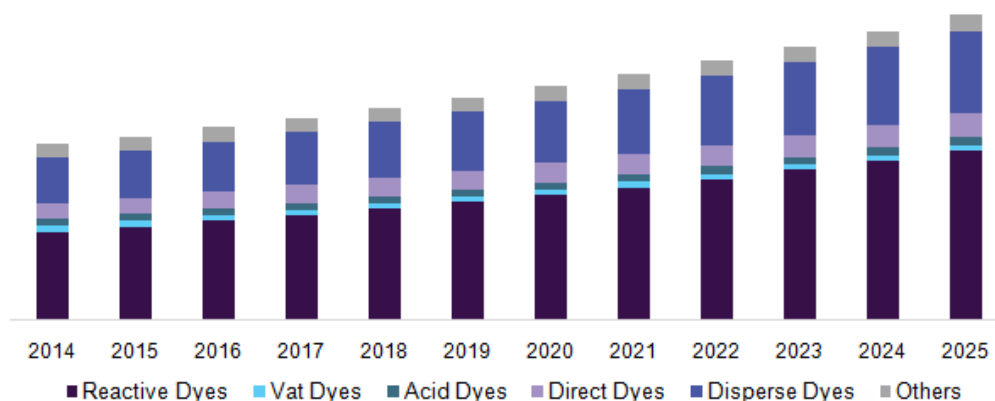


รูปที่ 2.6 การสังเคราะห์อะโซลิแกน

จากรูปที่ 2.7 จะเห็นได้ว่าความต้องการในการใช้สีย้อมนั้นเพิ่มสูงขึ้นจากปีที่ผ่านมา โดยจะเห็นได้ว่าสีย้อมอะโซชนิด Reactive dye, Acid dye, Direct dye และ Disperse dye มีความต้องการทางด้านเชิงพาณิชย์มากกว่าสีย้อมอื่น ๆ ดังนั้นผู้ผลิตสีจึงเกิดแรงผลักดันในการผลิตสีที่ใช้เทคโนโลยีขั้นสูงในการจัดการกับมลพิษและสารอันตรายที่เกิดขึ้นในกระบวนการสังเคราะห์และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

อุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นอุตสาหกรรมที่มีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากปัจจัยหลายประการเช่นการเติบโตของประชากร การเพิ่มรายได้และการเปลี่ยนแปลงหรือแนวโน้มของผู้บริโภคที่เพิ่มสูงขึ้น อุตสาหกรรมสิ่งทอจึงเป็นหนึ่งในโปรแกรมประยุกต์ที่สำคัญสำหรับการฟอกย้อม โดยในกระบวนการย้อมนั้นมีการใช้น้ำในปริมาณที่สูงมาก เพื่อการใช้ล้างผลิตภัณฑ์ส่งผลทำให้

เกิดมลพิษที่เป็นโลหะหนักและโมเลกุลของสีหลุดออกไปด้วย ดังนั้นมีการรายงานถึงการปนเปื้อนของสารเหล่านั้นในแหล่งน้ำและสิ่งแวดล้อม



รูปที่ 2.7 ปริมาณการใช้สีย้อมอะโซคือ Reactive dye, Acid dye, Direct dye, Disperse dye และอื่น ๆ ในอุตสาหกรรม (Grand View Research, 2017)

2.4 มาตรฐานน้ำทิ้งสำหรับโรงงานย้อมผ้า

สีย้อมแต่ละประเภทจะมีสูตรโครงสร้างทางเคมีและสมบัติของสีย้อมต่างกัน จากกระบวนการผลิตพบว่า สีย้อมประมาณ 10-15% ที่ใช้ในระหว่างกระบวนการผลิตมีการปลดปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อม เนื่องจากสีย้อมเหล่านั้นไม่สามารถซึมเข้าสู่เส้นใยหรือติดกับวัสดุได้ (Singh *et al.*, 2015) ซึ่งสีย้อมที่จะเกิดการแตกของโมเลกุลโดยแสงหรือจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้โมเลกุลของสีย้อมเกิดการเปลี่ยนเป็นอะโรมาติกเอมีน (Aromatic amine) ซึ่งสารนี้มีผลต่อการทำลายพันธุ์และสารก่อมะเร็ง และปริมาณความเข้มข้นของสีย้อมยังมีผลต่อการส่องแสงทำให้การสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชลดลง ด้วยคุณสมบัติของสีย้อมที่มีความคงตัวสูงและทนต่อการย่อยสลาย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีวิธีในการบำบัด ซึ่งในการบำบัดนั้นมีหลายวิธี เช่น วิธีทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ นอกจากนี้ในปัจจุบันได้มีการกำหนดข้อบังคับเกี่ยวกับการปล่อยน้ำเสียซึ่งเป็นที่ยอมรับในหลาย ๆ ประเทศ เช่น การดูจากปริมาณที่สิ่งมีชีวิตรับได้ สมบัติทางเคมีของน้ำทิ้ง ระดับของสีในน้ำทิ้ง โดยสีสังเคราะห์หลายชนิดสามารถเห็นการปนเปื้อนในแหล่งน้ำแม้จะมีความเข้มข้นต่ำ (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมจะมีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 10-50 มิลลิกรัมต่อลิตร (Isik and Sponza, 2004) ทำให้น้ำเสียมีปริมาณสีย้อมค่อนข้างเข้มข้น โดยมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม โดยกำหนดว่าค่ามาตรฐานของสีในน้ำทิ้งไม่เกิน 300 เอดีเอ็มไอ (ADMI) (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2560) หรือไม่เป็นที่พึงรังเกียจ (กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2539)

จากตารางที่ 2.2 จะเห็นได้ว่า ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ของน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมจากโรงงานย้อมผ้าไม่สามารถปลดปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อมได้ เนื่องจากค่าพารามิเตอร์ที่แสดงในตารางที่ 2.2 ยังเกินค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการบำบัดเพื่อลดความเข้มข้นของสีให้อยู่ในระดับที่ไม่พึงรังเกียจ ไม่เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและลดค่าพารามิเตอร์อื่น ๆ เพื่อให้อยู่ในมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม เช่น ค่าซีไอดี ปริมาณของแข็งทั้งหมดและโลหะที่ปนเปื้อน เป็นต้น

ตารางที่ 2.2 ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรมและน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า

พารามิเตอร์	มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจาก	
	โรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม	น้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า
พีเอช	5.5-9.0	9.3
COD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไม่เกิน 120	1,104±3.4
BOD ₅ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไม่เกิน 20	70±2.2
Biodegradability index	-	0.06
โซเดียมคลอไรด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไม่เกิน 1	1,500±145
ของแข็ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	3,000	9,730±265
Pb	0.2	-
Hg	0.005	-
As	0.25	-
Cd	0.03	-
Ni	1.0	-
Zn	5.0	-

(กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2560; Aravind *et al.*, 2016)

จากตารางที่ 2.3 จะเห็นว่าสีย้อมโซเริ่มต้นและน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมจากโรงงานย้อมผ้า มีค่าซีโอดี สูงถึง 270 ± 1.2 และ 1104 ± 3.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่สูงมากไม่สามารถปลดปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อมได้ และหลังการบำบัดวิธีทางชีวภาพค่าซีโอดีลดลงเท่ากับ 25 ± 1.6 และ 50 ± 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับสีย้อมผสมและน้ำเสียจากการย้อมผ้าตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการย่อยสลายโดยวิธีทางชีวภาพนั้นน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดอยู่ในเกณฑ์ที่สามารถปลดปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อม เมื่อเทียบกับมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงาน อุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม ซึ่งกำหนดไว้ไม่เกิน 120 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.3 การเปรียบเทียบพารามิเตอร์ก่อนและหลังการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพ

Parameters	Before treatment		After biodegradation	
	Reactive dye mix	Real textile effluent	Reactive dye mix	Real textile effluent
COD (mg/L)	270 ± 1.2	1104 ± 3.4	25 ± 1.6	50 ± 0.2
BOD ₅ (mg/L)	210 ± 1.4	70 ± 2.2	NA	NA
Biodegradability index	0.7	0.06	NA	NA

NA: not available

(Aravind *et al.* 2016)

2.5 กระบวนการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมด้วยวิธีทางชีวภาพ

วิธีการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมมี 3 วิธีด้วยกัน คือ 1) วิธีทางกายภาพ 2) วิธีทางเคมี และ 3) วิธีทางชีวภาพ ซึ่งวิธีทางกายภาพและเคมีเป็นการใช้สารเคมีในการกำจัดสี ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายและเกิดตะกอนจากกระบวนการบำบัด และเป็นการเพิ่มสารเคมีเข้าสู่สิ่งแวดล้อมรวมทั้งการทำปฏิกิริยาต่าง ๆ อาจก่อให้เกิดสารตั้งต้นของสารก่อมะเร็ง ซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำได้ (Wanida, 2012) ดังนั้นเทคโนโลยีทางชีวภาพจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ (โสภภาพรรณ, 2547) จึงมีการศึกษาการย่อยสลายโครงสร้างของสีย้อมอะโซ (ประกอบด้วยหมู่ (-N=N-) เกาะกับวงแอมโรมาติก) และแอนทราควิโนน (ประกอบด้วยหมู่ Conjugated aromatics) ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นโดยกลไกการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย ที่สามารถย่อยสลายหมู่โครโมฟอร์ (-N=N-) และลดความเป็นพิษของสีย้อมจากอะโรมาติกเอมีน (Aromatic amine) เป็นสารอื่น ๆ ที่สามารถเป็นแหล่งคาร์บอน และเป็นพลังงานให้แก่เซลล์ (วีรานุช และคณะ, 2551)

2.5.1 การย่อยสลายโดยเชื้อรา

กระบวนการกำจัดสีในน้ำทิ้งโดยเชื้อราเป็นการสร้างเอนไซม์นอกเซลล์กลุ่ม ลิกนินโนไลติก (Ligninolytic enzyme) (Iimura *et al.*, 1996; Leontievsky *et al.*, 2001) เพื่อย่อยสลายเนื้อไม้โดยเฉพาะเห็ดราในกลุ่มเชื้อราไวท์ร็อตหรือบราวร็อต (White or brown rot fungi) ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ดีบนขอนไม้โดยในเนื้อไม้มีองค์ประกอบที่สำคัญคือลิกโนเซลลูโลสทำให้สามารถกำจัดสีในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมเยื่อกระดาษได้ จากการศึกษาของ Kalpana *et al.* (2012) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดและการย่อยสลายทางชีวภาพของสี Levafix Blue E-RA โดยเชื้อรา *Irpex lacteus* โดยทำการคัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการกำจัดสีดังกล่าวจากเชื้อราสายพันธุ์ได้แก่ *Irpex lacteus*, *Trametes hirsuta*, *Trametes sp.* และ *Lentinula edodes* พบว่า *I. lacteus* ให้ผลในการกำจัดสีได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงนำเชื้อราสายพันธุ์ *I. lacteus* มาใช้ในการศึกษาต่อไป จากการศึกษาพารามิเตอร์ต่าง ๆ คือ ความเข้มข้นของสี พีเอช อุณหภูมิ และกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase, Laccase, Manganese peroxidase และ Lignin peroxidase โดยที่ความเข้มข้นของสีย้อม 250 มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 5.0-9.0 และอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เชื้อราดังกล่าวสามารถกำจัดสีได้ 100% ภายใน 96 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อราที่มีความสามารถในการกำจัดสีได้ดีกว่าแบคทีเรียภายใต้สภาวะทั้ง 3 พารามิเตอร์ที่ได้ทำการศึกษา และเชื้อราสามารถทนต่อความเข้มข้นของสีที่สูง เนื่องจากเชื้อราสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่เลวร้ายได้ในช่วงกว้าง แต่อย่างไรก็ตามการใช้เชื้อราในการกำจัดสีย้อมผ้าไม่ค่อยเป็นที่นิยมเนื่องจากมีข้อด้อยในด้านความสะดวกในการใช้งาน การเก็บรักษา รวมถึงการขนส่ง จึงทำให้การใช้เชื้อราในการบำบัดสีย้อมจึงได้รับความนิยมน้อยกว่ายีสต์และแบคทีเรีย

2.5.2 การย่อยสลายด้วยแบคทีเรีย

การย่อยสลายโดยแบคทีเรีย เป็นกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน โดยสารที่ได้หลังจากย่อยสลายโดยไม่ใช้ออกซิเจน จากการทำงานของเอนไซม์อะโซรีดักเทส (Azoreductase) ย่อยสลายหมู่อะโซ (-N=N-) ในโครงสร้างของสีเกิดเป็นอะโรมาติกเอมีน จากการศึกษาของ Saratale *et al.* (2013) ได้ศึกษาการกำจัดและการลดความเป็นพิษของหมู่ซัลฟอนेटของสีย้อม C.I. Remazol และน้ำเสียจากโรงงานสิ่งทอ โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lysinibacillus sp.* RGS พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์นี้สามารถกำจัดสีดังกล่าวได้ 87% และสามารถลดค่าซีโอดี (COD removal) ได้ 92% ภายในเวลา 6 ชั่วโมง การศึกษาความเป็นพิษของสีย้อมก่อนและหลังการบำบัดที่มีต่อพืช ได้แก่ ถั่วดำ (*Phaseolus mungo*) ข้าวฟ่าง (*Sorghum vulgare*) พบว่าหลังจากการกำจัดและย่อยสลายสีย้อม C.I. Remazol มีผลทำให้พืชที่ใช้ในการศึกษาสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้อาจเกิดจากสารที่ได้หลังการบำบัดไม่มีความเป็นพิษและสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารให้พืชได้อีกด้วย และจากการศึกษาวิถีที่เป็นไปได้สำหรับกลไกการย่อยสลายที่เกิดขึ้น เพื่อที่สามารถ

ยืนยันได้ว่าสารที่เกิดขึ้นหลังจากผ่านการบำบัดไม่มีความเป็นพิษ และระบุโครงสร้างที่เกิดขึ้นได้ด้วยผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค High-Performance liquid Chromatography-Mass Spectrometry (HPLC-MS) ซึ่งจากผลการวิเคราะห์สามารถสรุปได้ว่า สารที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายจากโครงสร้างของสีดังกล่าวเกิดเป็นสารอะโรมาติกเอมีน (Aromatic amine) ด้วยเอนไซม์อะโซรีดักเทส (Azoreductase) หลังจากนั้นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องข้องในการเปลี่ยนสารอะโรมาติกเอมีน เป็นสารอื่น ๆ ที่ไม่มีความเป็นพิษด้วยเอนไซม์แลคเคส (Laccase) และในการศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาในการกำจัดสีย้อมที่เกิดจากการผสมกันหลาย ๆ สีและน้ำเสียจากโรงงาน พบว่า *Lysinibacillus* sp. RGS สามารถกำจัดสีได้ 87 และ 72% ตามลำดับ และสามารถลดค่าซีไอดี (COD reduction) ได้ 69 และ 62% ภายในเวลา 48 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ ถือว่าการกำจัดและการย่อยสลายสีย้อมอะโซด้วยโดยแบคทีเรียให้ผลที่ดีและสามารถกำจัดสีได้ในเวลาสั้น ๆ แต่จากการรายงานที่ผ่านมาส่วนใหญ่พบว่าการใช้แบคทีเรียในการกำจัดสี กลไกในการย่อยสลายเกิดเป็นสารอะโรมาติกเอมีนเพียงเท่านั้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้จุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนร่วมอีกด้วย เพื่อเปลี่ยนสารอะโรมาติกเอมีนเป็นสารอื่น ๆ ที่ไม่มีความเป็นพิษ

จากการศึกษาของ Sudha *et al.* (2018) ได้ศึกษาการกำจัดและย่อยสลายของสีย้อมอะโซ Direct Blue 71 และ Direct Green 28 ด้วยแบคทีเรีย *Enterobacter aerogenes* PP002 โดยเชื้อที่ได้ที่มีความสามารถในการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมทั้ง 2 ชนิด คัดแยกได้จากดินบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้า เมื่อนำเชื้อที่คัดแยกได้ไปเพาะสายพันธุ์ คือ *Enterobacter aerogenes* ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ 100% ความเข้มข้นของสี Direct Blue 71 และ Direct Green 28 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 37 องศาเซลเซียสและพีเอช 7 แบคทีเรีย *E. aerogenes* PP002 สามารถกำจัดสีได้ 99% ภายใน 168 ชั่วโมง จากนั้นผู้วิจัยได้ทำการศึกษาพารามิเตอร์ทางกายภาพของน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า เพื่อทดสอบว่าน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดค่าพารามิเตอร์ทางกายภาพต่าง ๆ จะลดลงเมื่อเทียบกับก่อนการบำบัด จากการศึกษพบว่าค่า BOD (Biochemical Oxygen Demand), COD (Chemical Oxygen Demand), TS (Total Solid) และ TSS (Total Suspended Solid) ถูกกำจัดหลังจากกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ และปริมาณลดน้อยลงเมื่อเทียบกับก่อนบำบัด แสดงว่าแบคทีเรีย *E. aerogenes* PP002 มีกลไกที่ย่อยสลายสารโมเลกุลของสีย้อมที่มีความเป็นพิษ ดังนั้นจึงศึกษาสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นหลังจากการบำบัด โดยวิเคราะห์ด้วย UV-visible spectrophotometer, HPLC และ FTIR และจากการทดสอบความเป็นพิษที่มีต่อพืช จะเห็นได้ต้นพืชที่ใช้ทดสอบที่ได้รับน้ำที่มีสารเมตาบอไลต์ที่ได้จากการย่อยสลายไม่มีความเป็นพิษต่อพืชที่ทดสอบ โดยในการศึกษาความเป็นพิษที่มีต่อพืช สามารถยืนยันว่าน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนสีย้อมที่ผ่านการบำบัดนั้นไม่มีความเป็นพิษ อีกทั้งยังเป็นสารอาหารให้แก่พืชในการเจริญเติบโตอีกด้วย

2.5.3 การย่อยสลายด้วยยีสต์

การบำบัดสีด้วยยีสต์มีความน่าสนใจ เนื่องจากยีสต์มีความสามารถในการทนต่อความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของสีในช่วงกว้าง และสามารถลดค่าซีโอดี (COD removal) อีกทั้งยังเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต โดยจากการศึกษาของ Tan *et al.* (2013); Tan *et al.* (2016) และ Song *et al.* (2017) ได้ศึกษาวิถีที่เป็นไปได้ในการย่อยสลายสีย้อมอะโซ โดยสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นคือ อะโรมาติกเอมีน (Aromatic amine) จากนั้นสารนี้ถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นอะซิติลโคเอนไซม์ เอ (Acetyl CoA) และเข้าสู่วัฏจักรเครปส์ (Krebs cycle) เพื่อให้ถูกออกซิไดซ์ และสามารถสร้างพลังงานให้แก่เซลล์ได้

จากการศึกษาของ Qu *et al.* (2012) เรื่องการกำจัดและการย่อยสลายสีย้อม Acid Red B ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนโดยเชื้อยีสต์ *Pichia sp.* TCL ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่คัดแยกจากโคลนทะเลบริเวณชายหาดของประเทศจีน โดยสีย้อมอะโซที่ทำการศึกษามีทั้งหมด 9 ชนิด คือ (1) Reactive Red (2) Cation Red (3) Acid Red B (4) Acid Orange G (5) Direct Fast Blue B 2R L (6) Reactive Brilliant Blue K-GR (7) Reactive Black KN-B (8) Reactive Red X-3B และ (9) Great Red GR โดยเชื้อ *Pichia sp.* TCL สามารถกำจัดสี Acid Red B ได้ 95% ภายใน 12 ชั่วโมง โดยเปลี่ยนจากสีแดงกลายเป็นไม่มีสี ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาบนอาหารแข็งที่มีการผสมเชื้อกับสี แล้วหยดลงบนอาหารแข็ง พบว่า Acid Red B และ Cation Red เปลี่ยนจากสีแดงกลายเป็นไม่มีสี แสดงว่าเชื้อ *Pichia sp.* TCL สามารถกำจัดสี Acid Red B ดังกล่าวด้วยกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพมากกว่าชุดชับบนผิวเซลล์ และจากการศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ชนิด (1) Czapek's medium (2) Mineral salt medium (3) Martin Broth (4) Sabourand medium และ (5) M9 medium พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ *Pichia sp.* TCL สามารถกำจัดสีได้ดีที่สุดถึง 96% ภายใน 10 ชั่วโมง และอาหารเลี้ยงเชื้อ M9 สามารถกำจัดสีได้น้อยที่สุด 8% ภายใน 10 ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญเติบโตและความสามารถในการกำจัดสีของยีสต์ นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาผลของพารามิเตอร์ทางเคมีต่อการกำจัดสีโดยยีสต์ *Pichia sp.* TCL ซึ่งได้ศึกษา 4 พารามิเตอร์ คือความเข้มข้นของกลูโคส ความเข้มข้นของแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH₄Cl) ความเข้มข้นของสี Acid Red B และความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) พบว่าเชื่อดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีได้ 90% ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร ได้ 95% ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แอมโมเนียมคลอไรด์ 0.5 กรัมต่อลิตร ได้ 90% ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสี Acid Red B 20-80 มิลลิกรัมต่อลิตร และได้ 90% ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโซเดียมคลอไรด์ 2-4 กรัมต่อลิตร ภายในเวลา 12 ชั่วโมง

จากการศึกษาของ Tan *et al.* (2013) ได้ศึกษาการกำจัดและการย่อยสลายสี ย้อมอะโซโดยยีสต์สายพันธุ์ *Candida tropicalis* TL-F1 ที่คัดแยกได้จากโคลนทะเล บริเวณชายหาด ในประเทศจีน จากผลการคัดแยกยีสต์จากโคลนทะเลผู้วิจัยพบว่ายีสต์ที่ได้มีรูปร่างกลม โคโลนีมีสี เหลือง ขอบของโคโลนีเรียบ และจากการระบุสายพันธุ์โดยวิเคราะห์ด้วย Phylogenetic tree พบว่า ยีสต์ที่คัดแยกได้คือ *Candida tropicalis* TL-F11 จากนั้นจึงศึกษาการกำจัดสี ย้อมอะโซ 8 ชนิด ด้วยกัน คือ (1) Acid Red B (2) Acid Orange G (3) Acid Orange II (4) Acid Brilliant Scarlet GR (5) Reactive Green KE-4BD (6) Reactive Yellow 3RS (7) Reactive Brilliant Red X-3B และ (8) Reactive Brilliant Red K-2G ด้วยเชื่อดังกล่าวจากการศึกษาพบว่าเชื้อ *C. tropicalis* TL-F1 สามารถกำจัดสี Acid Brilliant Scarlet GR ได้ดีที่สุดถึง 97.2% ภายใน 10 ชั่วโมง ดังนั้นผู้วิจัยจึงนำ สี Acid Brilliant Scarlet GR ไปใช้ในการศึกษาต่อไป และจากการศึกษาทั่วโลกและวิธีที่เป็นไปได้โดย วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer และ HPLC-MS จากผลการศึกษาด้วย UV-Visible spectrophotometer และ HPLC-MS สามารถแสดงให้เห็นการกำจัดสีและกระบวนการ ย่อยสลายทางชีวภาพที่เกิดขึ้นของสี Acid Brilliant Scarlet GR ด้วยเชื้อ *C. tropicalis* TL-F1 ซึ่ง ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC-MS และงานวิจัยที่ผ่านมาทำให้สามารถทำนายวิธีที่เป็นไปได้ของ กระบวนการย่อย Acid Brilliant Scarlet GR ได้

Tan *et al.* (2014) ได้ศึกษาการคัดแยกยีสต์จากโคลนทะเล โดยคัดแยกยีสต์ใน อาหารเลี้ยงเชื้อ (A) ที่มีสูตรอาหารดังนี้ K_2HPO_4 1.0 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 กรัมต่อลิตร, แอมโมเนียมซัลเฟต 1.0 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 4.0 กรัมต่อลิตร เมื่อคัดแยกได้ยีสต์ที่ดีที่สุดที่ สามารถกำจัดสีได้ นำไประบุสายพันธุ์ด้วย 26S rDNA และนำไปวิเคราะห์โดยใช้ BLAST program นำลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีสต์ที่คัดแยกได้เทียบกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในฐานข้อมูลของ GenBank จาก การระบุสายพันธุ์ในข้างต้น ปรากฏว่ายีสต์ที่คัดแยกได้คือ ยีสต์ *Magnusiomyces ingens* LH-F1 โดยเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ 100% ยีสต์ *Magnusiomyces ingens* จาก การศึกษาพบว่า ยีสต์ *M. ingens* LH-F1 สามารถกำจัดสี Acid Red B ได้ดีที่สุด โดยสามารถกำจัดสี ได้ 98% ภายในเวลา 10 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของสี Acid Red B 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้น ทำการศึกษาผลของพารามิเตอร์ต่าง ๆ พบว่ายีสต์ *M. ingens* LH-F1 สามารถกำจัดสี Acid Red B ได้ 96% ภายใน 20-44 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของสี 100-250 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ความเข้มข้น ของสี 300 และ 800 มิลลิกรัมต่อลิตร ยีสต์ *M. ingens* LH-F1 สามารถกำจัดสีได้ 92 และ 50% ภายในเวลา 56 และ 108 ชั่วโมง ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของสีที่ความเข้มข้นเพิ่ม สูงขึ้น ระยะเวลาในการบำบัดก็จะใช้เวลายาวนานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญเติบโตของเชื้อ โดย พบว่าที่ความเข้มข้นของสี Acid Red B ที่ความเข้มข้นน้อย ยีสต์สามารถกำจัดสีและเจริญเติบโตไป ด้วย แต่เมื่อความเข้มข้นของสีสูงถึง 800 มิลลิกรัมต่อลิตร การเจริญเติบโตของเชื่อน้อยลงทำให้เปอร์-

เช่นต์การกำจัดสีน้อยลงไปด้วย จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของกลูโคสและแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ความเข้มข้นของกลูโคส 4-8 กรัมต่อลิตร ยีสต์ *M. ingens* LH-F1สามารถกำจัดสีได้ 95% ภายในเวลา 12 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 1.0-3.0 กรัมต่อลิตร ยีสต์ *M. ingens* LH-F1 กำจัดสีได้ 95% ภายในเวลา 12 ชั่วโมง และเมื่อนำยีสต์ *M. ingens* LH-F1 นำไปตรึงรูป พบว่า ยีสต์ *M. ingens* LH-F1 สามารถกำจัดสีและย่อยสลายทางชีวภาพได้ดีขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของ Acid Red B 1200 มิลลิกรัมต่อลิตร ยีสต์ *M. ingens* LH-F1 สามารถกำจัดสีได้ 60% ภายในระยะเวลา 60 ชั่วโมง จะเห็นระยะเวลาในการบำบัดด้วยยีสต์ที่ตรึงรูปจะใช้เวลาน้อยกว่า และทนต่อความเข้มข้นของสี Acid Red B ที่ความเข้มข้นที่สูงเมื่อเทียบการใช้ยีสต์แบบที่ไม่ตรึงรูป จะเห็นการตรึงเซลล์จะสามารถเพิ่มความเสถียรและความทนต่อสภาวะสิ่งแวดล้อมในช่วงกว้างได้

จากการศึกษาของ Tan *et al.* (2016) ได้ศึกษาการย่อยสลาย การกำจัดสี และการลดความเป็นพิษของสีย้อมอะโซ โดยยีสต์ *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1 ซึ่งยีสต์ที่คัดแยกได้เป็นสายพันธุ์ที่ทนความเค็มซึ่งสามารถย่อยสลายและลดความเป็นพิษของสีย้อมอะโซ ภายใต้สภาวะที่มีความเค็มได้ดี จากการศึกษาการกำจัดสีย้อมทั้งหมด 6 ชนิดคือ (1) Acid Scarlet 3R (2) Acid Red B (3) Acid Orange II (4) Acid Scarlet GR (5) Reactive Brilliant Red K-2G และ (6) Reactive Green KE-4BD พบว่า ยีสต์ *S. spartinae* TLHS-SF1 สามารถกำจัดสี Acid Scarlet 3R ได้ดีที่สุดสูงถึง 98.14% ภายใน 12 ชั่วโมง ดังนั้นผู้วิจัยจึงนำสี Acid Scarlet 3R ใช้ในการศึกษาต่อไป นอกจากนี้พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดสีย้อมและการเจริญเติบโตของยีสต์ *S. spartinae* TLHS-SF1 คือ ซูโครส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.6 กรัมต่อลิตร yeast extract 0.08 กรัมต่อลิตร โซเดียมคลอไรด์ ≤ 30 กรัมต่อลิตร ความเร็วรอบในการเขย่า 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ พีเอช 3.0-7.0 ซึ่งยีสต์สามารถกำจัดสีได้มากกว่า 90% ที่ความเข้มข้นของสี Acid Scarlet 3R 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใน 16 ชั่วโมง การศึกษาวิธีที่เป็นไปได้ของการย่อยสลายสีย้อม Acid Scarlet 3R จากผลการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ด้วย HPLC-MS และทำนายวิธีที่เป็นไปได้ในการย่อยสลาย นอกจากนี้ได้มีการทดสอบความเป็นพิษของสีย้อมก่อนและหลังการบำบัดด้วยวิธี Microtox test ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าสี Acid Scarlet 3R หลังการบำบัดไม่มีความเป็นพิษต่อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ จากผลการศึกษาสรุปได้ว่ายีสต์ *S. spartinae* TLHS SF1 สามารถย่อยสลายสีย้อมด้วยวิธี Azo reduction, Deamination และ Desulfonation และสามารถลดความเป็นพิษของสีย้อมลงเมื่อเทียบกับสีย้อมเริ่มต้น

Song *et al.* (2017) ได้ศึกษาการคัดแยกยีสต์ที่มีความทนต่อเกลือ ซึ่งสามารถย่อยสลายและกำจัดสีย้อมอะโซ (Acid Red B) จากการคัดแยกและระบุสายพันธุ์ของยีสต์ คือ *Pichia occidentalis* G1 โดยได้ศึกษาผลของพารามิเตอร์ที่มีต่อการเจริญเติบโตและกระบวนการย่อยสลายสีย้อม Acid Red B จากผลการทดลอง พบว่าความเข้มข้นของแต่ละพารามิเตอร์ที่ดีที่สุดที่เชื้อ *P. occidentalis* G1 สามารถกำจัดสีย้อมได้ที่ดีที่สุดคือ กลูโคส 2.0 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.6 กรัมต่อลิตร yeast extract 0.08 กรัมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 30 กรัมต่อลิตร และที่ความเร็วรอบในการเขย่า 160 รอบต่อนาที และ พีเอช 5 โดย *P. occidentalis* G1 สามารถกำจัดสีย้อมอะโซดังกล่าวที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ 98% ภายในเวลา 16 ชั่วโมง และจากการศึกษากลไกการย่อยสลายและความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red B ด้วย HPLC-MS เพื่ออธิบายวิถีที่เป็นไปได้ (Pathway) พบว่าสารตัวกลางที่เกิดขึ้นซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก จะเกิดการเปลี่ยนเป็น Catechol และถูกเปลี่ยนเป็น Acetyl CoA ซึ่งเป็นสารตัวสำคัญในการเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle) การย่อยสลายสีย้อมเกิดขึ้นด้วยวิถี Azo reduction, Deamination และ Desulfonation และสามารถลดความเป็นพิษของสีย้อมลงเมื่อเทียบกับสีย้อมเริ่มต้น หลังจากนั้นจึงทำการศึกษาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการกำจัดและย่อยสลายสีย้อม Acid Red B โดยเอนไซม์ที่ศึกษาอยู่ในกลุ่มเอนไซม์ Oxidoreductases เช่น Azoreductase และ Laccase โดยการหาปริมาณของเอนไซม์ที่เชื่อมีการผลิตขึ้น ซึ่งพบว่าช่วงแรกเชื้อ *P. occidentalis* G1 จะผลิตเอนไซม์ Azoreductase โดยการย่อยสลายโครโมฟอร์ (-N=N-) ในโครงสร้างของสีย้อมอะโซเกิดเป็นอะโรมาติกเอมีน จากนั้นจะมีการการผลิตเอนไซม์ Laccase ในการย่อยเพื่อให้ได้สารที่เป็นแหล่งคาร์บอนที่เชื้อสามารถสร้างเป็นพลังงานได้ จากรายงานวิจัยข้างต้นที่กล่าวไปแล้ว สามารถสรุปประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมแต่ละชนิดของยีสต์ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างต่างกัน ดังตารางที่ 2.4

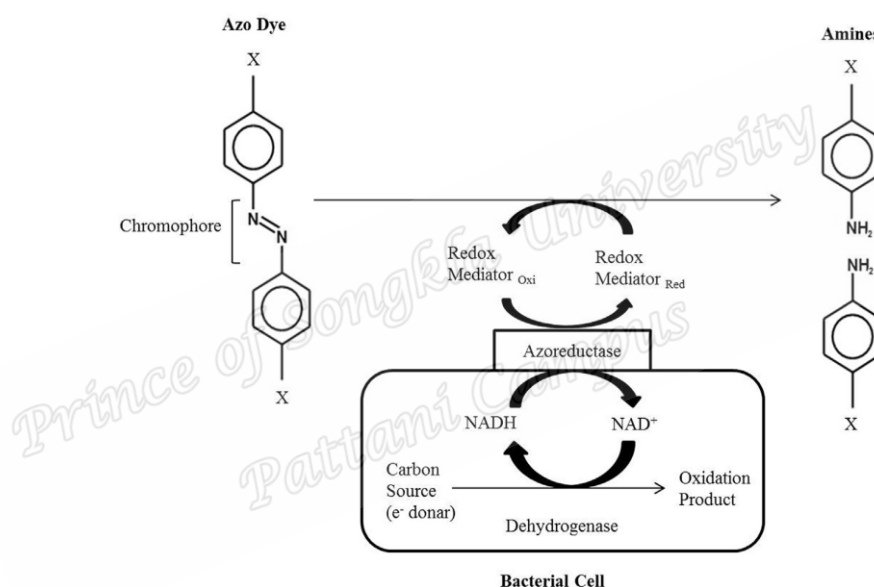
ตารางที่ 2.4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินโคลนของงานวิจัยต่าง ๆ

Site of isolation	Azo dye	Decolorization (%)	Time (hr)	Isolation yeast strain (Reference)
The sea mud collected in Heishijiao Beach Park in Dalian, China	Acid Red B	95	12	<i>Pichia</i> sp. TCL (Qu <i>et al.</i> , 2012)
	Reactive Black 5	93	18	
	Reactive Brilliant Blue K-GR	94	18	
The sea mud collected in a harbor industrial zone in Dalian, China	Acid Brilliant Scarlet GR	97.2	10	<i>C. tropicalis</i>
	Acid Orange G	91.1	12	TL-F1
	Acid Red B	90.7	16	(Tan <i>et al.</i> , 2013)
The sea mud of a harbor industrial zone in Dalian, China	Acid Red B	97.3	8	<i>Magnusiomyces</i>
	Acid Red 3R	90	8	<i>ingens</i> LH-F1 (Tan <i>et al.</i> , 2014)
The sea mud of a coastal blowdown region in Dalian, China	Acid Scarlet 3R	98	12	<i>S. spartinae</i>
	Reactive Brilliant	96.1	12	TLHS-SF1
	Red K2-G			(Tan <i>et al.</i> , 2016)
The sea mud of a harbor industrial zone located in Dalian, China	Acid Red B			<i>Pichia</i>
	Acid Red 3R	91	6-22	<i>occidentalis</i> G1
	Acid Orange II			(Song <i>et al.</i> , 2017)

2.6 ชนิดของเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ผลิตในกระบวนการบำบัดสีย้อมอะโซ

การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมด้วยจุลินทรีย์นั้นเกิดจากการที่จุลินทรีย์นั้นผลิตเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องขึ้นมาเพื่อใช้ในกระบวนการย่อยสลายสีย้อม ซึ่งเอนไซม์ที่เชื้อจุลินทรีย์ผลิตขึ้นมีหลายชนิดด้วยกัน ได้แก่ Azoreductase, Laccase และ Manganese peroxidase เป็นต้น โดยเอนไซม์ Azoreductase ถือเป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่สุดในกระบวนการย่อยสลายสีย้อมในที่นี้จึงขอกกล่าวเฉพาะเอนไซม์ดังกล่าวดังนี้ Azoreductase เป็นเอนไซม์ที่มีการผลิตในเซลล์แล้วจะถูกปล่อยไปยังบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยกลไกในการย่อยสลายสีย้อมอะโซด้วยเอนไซม์ดังกล่าวเกิดขึ้นดังนี้ เกิดจากการให้และรับไฮโดรเจนไอออน (H^+) และอิเล็กตรอนส่งผลทำให้หมู่อะโซในโมเลกุลของสีย้อมนั้น

เกิดการสลายออกจากกัน (Cleavage) เป็นอะโรมาติกเอมีน โดยกลไกที่เกิดขึ้นเริ่มจากจากแหล่งคาร์บอนจะเป็นตัวที่สามารถให้อิเล็กตรอน (Electron donor) แก่ NAD^+ เมื่อ NAD^+ รับอิเล็กตรอนเกิดเป็น NADH และ NADH จะให้ H^+ ไปยังรีดอกซ์เมดิเอเตอร์ (Redox Mediator) ซึ่งรีดอกซ์เมดิเอเตอร์จะเป็นสารตัวกลางให้และรับอิเล็กตรอน โดยจะรับ H^+ จาก NADH และให้ H^+ ไปตัดพันธะที่หมู่อะโซ (-N=N-) ในการตัดพันธะ -N=N- จำเป็นจะต้องใช้ H^+ 2 อะตอมและอิเล็กตรอนอีก 2 ตัว เมื่อเกิดการตัดพันธะโมเลกุลของสีจะสลายออกจากกัน เป็นอะโรมาติกเอมีน 2 โมเลกุลดังแสดงในรูปที่ 2.7 ซึ่งอะโรมาติกเอมีนก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโดยอาศัยเอนไซม์ชนิดอื่นในการย่อยหรือเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation reduction reaction) ด้วยกระบวนการย่อยสลายแบบใช้ออกาศต่อไป (Singh *et al.*, 2015)



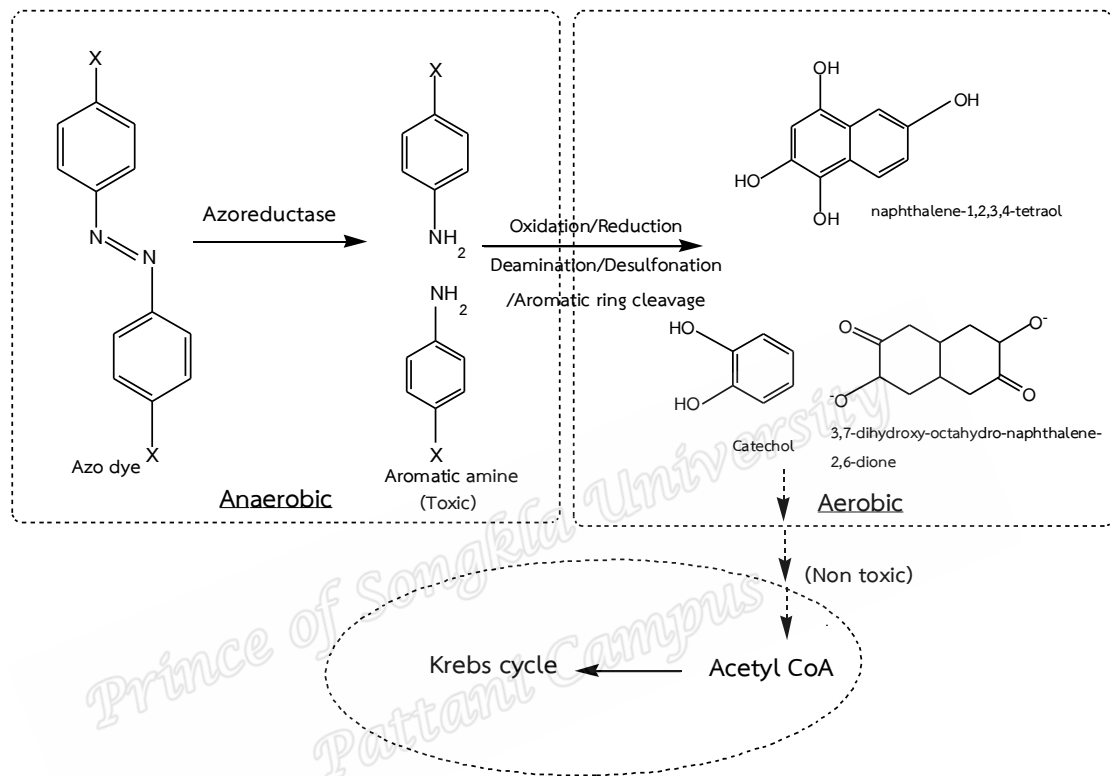
รูปที่ 2.8 กลไกการกำจัดและการย่อยสลายสีข้อมะโซด้วยเอนไซม์อะโซรีดักเตส (Keck *et al.*, 1997; Singh *et al.*, 2015)

2.7 กระบวนการในการย่อยสลาย

2.7.1 การย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน

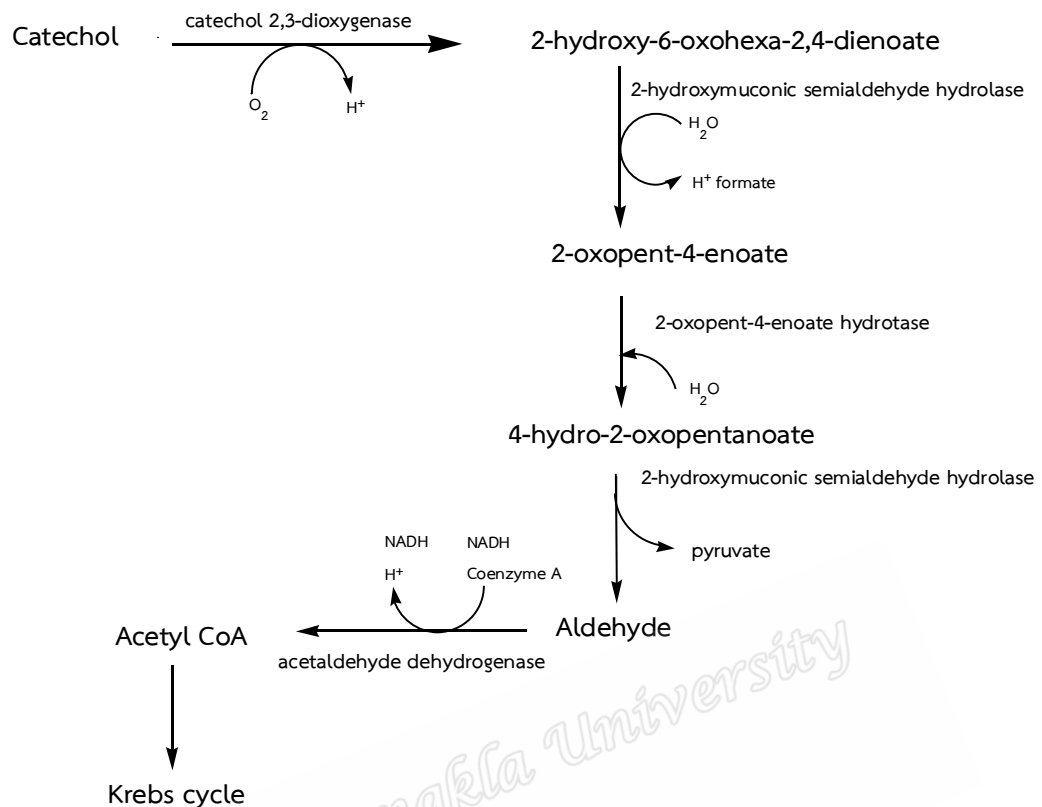
เป็นกระบวนการที่มีออกซิเจนเข้ามาเกี่ยวข้อง โดยในกรณีที่ใช้กระบวนการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนนั้น ในขั้นตอนแรกจะใช้เวลามากกว่ากระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน เพราะกลไกในการย่อยสลายนั้นเกิดขึ้นที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์โดย NADH ที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึมที่สังเคราะห์ภายในเซลล์จะไปช่วยให้เอนไซม์ Azoreductase เกิดการส่งผ่านอิเล็กตรอนที่บริเวณ $\text{N}=\text{N}$ ทำให้พันธะขาดออกจากกันเกิดเป็นอะโรมาติกเอมีน ดังนั้นการใช้กระบวนการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน ออกซิเจนจะมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Azoreductase เนื่องจากออกซิเจนจะไปรับอิเล็กตรอนที่ปลดปล่อยภายในเซลล์ ทำให้อิเล็กตรอนที่

ต้องใช้ในการตัดพันธะ N=N เกิดการยับยั้ง ทำให้การกำจัดเกิดขึ้นได้ช้าในระยะเวลาหนึ่ง (ที่ 0-4 ชั่วโมง) แต่การย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนอะโรมาติกเอมีนจะถูกเปลี่ยนเป็นสารอื่น ๆ ดังแสดงในรูปที่ 2.8 ที่จะเป็นประโยชน์และพลังงานให้แก่จุลินทรีย์ ดังนั้นการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จะไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม



รูปที่ 2.9 กลไกการย่อยสลายสีย้อมอะโซแบบไม่ใช้ออกซิเจนและใช้ออกซิเจนด้วยจุลินทรีย์ (ดัดแปลงจาก Keck *et al.*, 1997; Singh *et al.*, 2015)

กลไกในการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนเพื่อเปลี่ยนสารอะโรมาติกเอมีนให้เป็นสารฟีนอลิก (Phenolic compound) และกรดอะลิฟาติก (Aliphatic acid) ซึ่งเปลี่ยนเป็นอะซิติลโคเอนไซม์ เอ (Acetyl CoA) อะซิติลโคเอนไซม์ เอ เป็นสารเริ่มต้นที่จะเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle) ที่เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งอาหารให้แก่เซลล์ โดยการเปลี่ยนสารฟีนอลิกและกรดอะลิฟาติกเป็นอะซิติลโคเอนไซม์ เอ นั้นจะมีเอนไซม์ต่าง ๆ เข้ามาเกี่ยวข้อง ดังแสดงในรูปที่ 2.9

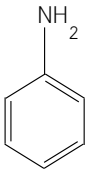
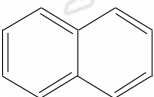


รูปที่ 2.10 การเปลี่ยน Catechol เป็น Acetyl CoA เข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle) ด้วยกลไกการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจน (Metacyc, 2006)

2.7.2 การย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน

การตัดพันธะ $N=N$ นั้นจำเป็นจะต้องใช้ H^+ 2 ตัว ที่ได้จากการให้ของ NADH เมื่อ NADH ให้ H^+ จึงกลายเป็น NAD^+ และ NAD^+ จะเกิดการรับและให้ H^+ แก่สารอื่น ๆ อย่างต่อเนื่อง นอกจากการตัดพันธะ $-N=N-$ ต้องใช้ H^+ ยังจำเป็นต้องใช้อิเล็กตรอนอีก 2 ตัว โดยอิเล็กตรอนที่ได้รับนั้นเป็นอิเล็กตรอนอิสระที่ได้จากการปลดปล่อยจากเซลล์ ซึ่งสารที่ได้จากการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนคือ อะโรมาติกเอมีน สารอะโรมาติกเอมีน และสารประกอบอนุพันธ์อื่น ๆ นั้นถือว่าเป็นสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็ง และมีผลกระทบต่อสุขภาพร่างกาย โดยคุณสมบัติความเป็นพิษของสารดังกล่าวแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 ความเป็นพิษของสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นหลังจากการย่อยสลายหมู่อะโซในโครงสร้างของสีย้อมอะโซแบบไม่ใช่ออกซิเจน

สารประกอบ	โครงสร้างทางเคมี	คุณสมบัติทางเคมี และทางกายภาพ	ความเป็นพิษ	อ้างอิง
Aniline		<p>ของเหลวเหมือนน้ำมัน ไม่มีสี หรือสีเหลืองอ่อน อาจกลายเป็นสีเข้มขึ้นจนเป็นสีน้ำตาลเมื่อสัมผัสอากาศ มีกลิ่นเหม็นเฉพาะตัว (aromatic หรือ fishy odor) ติดไฟได้</p>	<ul style="list-style-type: none"> - ก่อให้เกิดมะเร็ง - การเปลี่ยนแปลงในร่างกายให้เป็น p-aminophenol และ p-acetamido phenol - ความเป็นพิษที่เกิดจากการสูดดมหรือดูดซึมทางผิวหนัง และทำลายดวงตาอย่างรุนแรง - ในภาวะรุนแรงตับและไตจะถูกทำลาย - พิษเฉียบพลันและเรื้อรัง (LD₅₀ 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) 	Rawat <i>et al.</i> , 2018 และ ศูนย์ข้อมูลพิษวิทยา, 2553
Naphthalene		<ul style="list-style-type: none"> - เบนของแข็งหรือผลึกสีขาว มีกลิ่นแรง - ไม่ละลายน้ำ - สามารถดูดซับผ่านผิวหนัง 	<ul style="list-style-type: none"> - ระคายเคืองตา จมูก คอ และผิวหนัง - หากได้รับแนวพาทาลีนในปริมาณมากเม็ดเลือดแดง จะถูกทำลายทำให้เกิดภาวะโลหิตจาง - พิษเฉียบพลันและเรื้อรัง (LD₅₀ 490 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) - เบนสารที่เป็นไปได้ที่จะก่อให้เกิดมะเร็งในคน 	Rawat <i>et al.</i> , 2018 และสำนักงานกรรมการอาหารและยา, 2549

ตารางที่ 2.5 (ต่อ)

สารประกอบ	โครงสร้างทางเคมี	คุณสมบัติทางเคมี และทางกายภาพ	ความเป็นพิษ	อ้างอิง
1-aminonaphthylene-2-hydroxy-3,6-disulfonic acid		- ละลายน้ำได้	- ระคายเคืองต่อผิวหนัง (LD ₅₀ 12.3 กรัมต่อกิโลกรัม)	Rawat <i>et al.</i> , 2018
1,4-iaminobenzene		- ละลายน้ำได้	- เป็นพิษต่อ หัวใจ ไต และระบบกล้ามเนื้อ - พิษเฉียบพลันและเรื้อรัง (LD ₅₀ 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	Rawat <i>et al.</i> , 2018
1-amion-2-naphthol		- ละลายน้ำได้น้อย	- ก่อให้เกิดมะเร็ง - พิษเฉียบพลันและเรื้อรัง	Rawat <i>et al.</i> , 2018

2.8 การบำบัดสีย้อมอะโซด้วยถังปฏิกรณ์แบบใช้ออกซิเจน

การบำบัดสีย้อมอะโซด้วยถังปฏิกรณ์แบบใช้ออกซิเจน สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ 1) ถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (Continuous stirred tank reactor: CSTR) และ 2) ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นเยื่อกรอง (Membrane process)

2.8.1 ถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (Continuous stirred tank reactor: CSTR)

การบำบัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) สารทั้งหมดจะถูกป้อนเข้าที่ตำแหน่งทางเข้าของถังปฏิกรณ์อย่างต่อเนื่อง โดยมีใบกวนช่วยกวนสาร นอกจากนี้ใบกวนมีหน้าที่ทำให้สารทำปฏิกิริยาเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว ยังช่วยเพิ่มการถ่ายเทมวลและความร้อนในถังปฏิกรณ์ต่อเนื่อง โดยถังปฏิกรณ์แบบ CSTR มักใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย ถึงแม้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียอาจไม่ถึง 100% แต่ถือได้ว่าเป็นกระบวนการที่ใช้การลงทุนน้อยในการสร้างระบบและการดูแลรักษาง่าย ดังนั้นจึงเหมาะกับการประยุกต์ใช้งานในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม

Sponza and Isik (2002) ได้ศึกษาการกำจัดและการย่อยสลายสีย้อมอะโซในถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่องที่มีการเติมอากาศ (Aerobic CSTR) โดยน้ำเสียจะผ่านการบำบัดในถังเติมอากาศ (Aeration tank) และหลังจากนั้นจะถูกส่งไปยังถังตกตะกอน (Sedimentation tank) โดยน้ำเสียจะถูกเติมอากาศในถังที่มีสลัดจ์อยู่ เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดี โดยจุลินทรีย์จะทำการบำบัดและย่อยสลายน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมอะโซ น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วจะไหลผ่านไปยังถังตกตะกอนเพื่อทำการแยกสลัดจ์ออกจากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัด เพื่อนำสลัดจ์กลับมาใช้ใหม่ ส่วนสลัดจ์ที่เป็นส่วนเกินหรือมีมากเกินไปก็จะถูกกำจัดออกไป ผลจากการศึกษาการย่อยสลายสีย้อมอะโซในถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่องที่มีการเติมอากาศ (Aerobic CSTR) พบว่าที่อัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ (Organic loading rate) 0.5, 1 และ 3 กิโลกรัม COD ต่อลูกบาศก์เมตรต่อวัน สามารถกำจัดค่าซีโอดี (COD removal) ได้ 92, 70 และ 50% ตามลำดับ ในระยะเวลาการบำบัด 2, 8 และ 28 วัน ตามลำดับ โดยประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบำบัดยาวนานขึ้น คือ สามารถกำจัดซีโอดีได้ 28, 42 และ 90% ตามลำดับ เมื่อเพิ่มอัตราภาระบรรทุกสารอินทรีย์ และเวลาเก็บกักตะกอน (Sludge retention time; SRT) 1-8 วัน จะทำให้ค่า MLSS (Mixed Liquor Suspended Solids) และ SVI (Sludge Volume Index) ลดลง เนื่องจากเป็นสภาวะที่จุลินทรีย์อยู่ในระยะการปรับตัว (MLSS เท่ากับ 2000–2300 มิลลิกรัมต่อลิตร และ SVI เท่ากับ 100–120 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อระยะเวลาในการบำบัดยาวนานขึ้น 11-25 วัน จะทำให้ค่า MLSS และ SVI เพิ่มมากขึ้น (MLSS เท่ากับ 2900–4000 มิลลิกรัมต่อลิตร และ SVI เท่ากับ 200–220 มิลลิกรัมต่อลิตร)

Isik and Sponza (2004) ได้ศึกษาความเป็นพิษของสารตัวกลาง (Intermediate product) จากการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมอะโซ C.I. Direct Black 38 ที่ผ่านการบำบัดด้วยถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (Aerobic CSTR) โดยได้ทดสอบความเป็นพิษของสารที่เกิดขึ้นหลังจากการบำบัดต่อสัตว์ที่ทำการทดสอบ คือ *Daphnia magna* ต่อ โดยการวัดการเปล่งแสงของ *D. magna* ด้วยเครื่อง Berthold LB960 เมื่อ *D. magna* ได้รับความพิษจากสีย้อมจะไม่เกิดการเปล่งแสงเนื่องจากความเป็นพิษของสีย้อมทำให้ตัวมันตาย ไม่สามารถเปล่งแสงได้อีกต่อไป จากผลการศึกษาพบว่าน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีสี C.I. Direct Black 38 หลังจากการบำบัดไม่มีความเป็นพิษจากการทดสอบข้างต้น นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาวិถี (Pathway) ที่เป็นไปได้ในการกำจัดสีย้อมอะโซ ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วย GC-MS พบว่าสารตัวกลางที่เกิดขึ้นจากการกำจัดสีและย่อยสลายสีย้อมอะโซไม่มีความเป็นพิษ เนื่องจากโครงสร้างโมเลกุลของสีย้อมจะถูกเปลี่ยนให้เป็นสารตัวกลางที่เป็นสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) หรือกรดอะลิฟาติก (Aliphatic acid) ที่สามารถเปลี่ยนโครงสร้างเป็นสารที่สามารถเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle) ที่สามารถเป็นแหล่งอาหารและพลังงานให้แก่จุลินทรีย์ได้

2.8.2 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นเยื่อกรอง (Membrane process)

ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นเยื่อกรองนั้น แผ่นเยื่อกรองมีหน้าที่หลักคือ แยกของเสียหรือสิ่งเจือปนออกจากน้ำโดยกระบวนการแยกด้วยการกรองแบบ Micro filtration, Ultrafiltration หรือ Reverse Osmosis ในการใช้แผ่นเยื่อกรองนั้น เมื่อดำเนินระบบไปได้สักระยะหนึ่งแผ่นของแข็งหรือวุ้นที่เป็นส่วนประกอบในการทำแผ่นเยื่อกรองนั้นเกิดการพองตัวได้ หรือเกิดการอุดตันและอาจเกิดการย่อยสลายได้ หากน้ำเสียมีสารปนเปื้อนที่มีพิษที่รุนแรงหรือมีความกัดกร่อนจะไปทำลายเยื่อกรองได้ง่าย ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการพัฒนาแผ่นเยื่อกรองที่ทนทาน อีกทั้งยังต้องพัฒนาระบบการล้างแผ่นเยื่อกรองอย่างมีประสิทธิภาพ ข้อดีจากการใช้ถังปฏิกรณ์แผ่นเยื่อกรองร่วมกับการให้ออกซิเจนในระบบ Aerobic membrane bioreactor (Aerobic-MBR) ทำให้คุณภาพในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมดีขึ้น น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดเป็นไปตามมาตรฐานน้ำทิ้ง สามารถตกตะกอนของชีวมวลและกำจัดสลัดจ์ได้ดีอีกด้วย

García-Martínez *et al.* (2015) ได้ศึกษาการย่อยสลายและการกำจัดสี Acid Orange 7 ในถังปฏิกรณ์แผ่นเยื่อกรองร่วมกับการให้ออกซิเจนในระบบ (Aerobic-MBR) โดยใช้เทคโนโลยีในการบำบัด Aerobic-MBR กับ Activated sludge bioreactor และ Microfiltration membrane การออกแบบถังปฏิกรณ์แบบ Aerobic bioreactor และมีการเติม Aerobic sludge โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของถัง 77 มิลลิเมตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส มีการเติมอากาศเข้าสู่ภายในถังปฏิกรณ์ และ HRT (hydraulic retention time) 8-49 ชั่วโมง ส่วน Microfiltration membrane มีประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรีย ปรสิตรและของแข็งที่มีอยู่ใน

สลัดจ์ น้ำเสียที่ผ่านบำบัดจาก Activated sludge bioreactor เมื่อเข้าสู่ Microfiltration membrane ค่าพีเอช ของน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเท่ากับ 6.7-7.4 จากมาตรฐานน้ำทิ้งถือว่าสามารถปล่อยน้ำที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบดังกล่าวลงสู่สิ่งแวดล้อมได้ แต่จะต้องประเมินค่าอื่น ๆ เพื่อให้เป็นไปตามมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้ง จากผลการทดลองพบว่า ในกระบวนการของการย่อยโดยใช้ออกซิเจนสามารถกำจัด COD ได้ 66% ที่เวลา 48 ชั่วโมง สำหรับกระบวนการย่อยสลายอะโรมาติกเอมีนในถังปฏิกรณ์แบบใช้ออกซิเจน โดยมีค่า TAA (Total aromatic Amine) เท่ากับ 8.97 มิลลิกรัมต่อลิตร ประสิทธิภาพในการกำจัด TAA (Total aromatic Amine) เท่ากับ 80% เมื่อเทียบกับ TAA (Total aromatic Amine) เริ่มต้น และประสิทธิภาพการกำจัดสีเท่ากับ 80% ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าระบบแบบใช้ออกซิเจน aerobic MBR ในถังปฏิกรณ์มีแนวโน้มในการกำจัดสีและการย่อยสลายสีย้อมอะโซได้อย่างสมบูรณ์

Li *et al.* (2015) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของถังปฏิกรณ์แบบแผ่นเยื่อกรอง (MBR) ในการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนและลดความเป็นพิษของสี Acid Red B ด้วยการเติมกากตะกอนชีวภาพร่วมกับการใช้ยีสต์ *Candida tropicalis* TL-F1 โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาระยะเวลาต่อเนื่อง และมีการแบ่งช่วงเวลาออกเป็น 3 ช่วง ช่วงแรกตั้งแต่ 0-30 วัน โดยใช้ความเข้มข้น 10-50 มิลลิกรัมต่อลิตร ช่วงที่สองวันที่ 31-108 วัน ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และช่วงสุดท้ายวันที่ 109-164 ใช้ความเข้มข้นของสีเพิ่มสูงขึ้นเป็น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พารามิเตอร์ที่ศึกษาประกอบด้วย การหาของแข็งทั้งหมด (Suspended solid: SS) สารประกอบอินทรีย์ทั้งหมด (total organic carbon: TOC) และการกำจัดสี (Color removal) ผลการศึกษพบว่าระบบการบำบัดสีด้วยถังปฏิกรณ์ดังกล่าว สามารถกำจัดสี และสารประกอบอินทรีย์ได้ 90 และ 80% ตามลำดับ โดยเปอร์เซ็นต์การกำจัดสี และการกำจัดสารประกอบอินทรีย์ หลังจากการเติมกากตะกอนชีวภาพมีค่าเท่ากับ 96 และ 97% ตามลำดับ นอกจากนี้ระบบการเติมกากตะกอนชีวภาพยังสามารถทนต่อการเพิ่มความเข้มข้นของสีย้อม Acid Red B ที่ความเข้มข้นสูง ๆ และชีวมวลที่มีอยู่ใน MBR (Membrane bioreactor) ผลกระทบต่อระบบนิเวศของน้ำทิ้งที่มีการเติมกากตะกอนชีวภาพต่ำกว่าน้ำเสียและน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดที่ไม่มีการเติมกากตะกอนชีวภาพ

จากผลการศึกษาที่ผ่านมา ถึงแม้ว่าถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นเยื่อกรอง (Membrane process) จะมีประสิทธิภาพค่อนข้างสูงในการบำบัดน้ำเสีย แต่การสร้างและการดำเนินระบบต้องใช้ค่าใช้จ่ายที่สูง จึงเป็นไปได้ยากหากนำไปใช้กับโรงงานย้อมผ้า เนื่องจากโรงงานย้อมผ้ามีการปล่อยน้ำเสียที่มีสีย้อมปนเปื้อนอยู่มาก ดังนั้นการสร้างระบบจึงต้องสร้างระบบที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งจะส่งผลต่อค่าใช้จ่ายในการสร้างระบบ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกกระบวนการบำบัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (Continuous stirred tank reactor: CSTR) ซึ่งมีค่าใช้จ่ายในการสร้างและดำเนินระบบที่ถูกลงกว่า

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและสารเคมี

ตารางที่ 3.1 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

เครื่องมือ	ยี่ห้อ/รุ่น	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
1) Visible spectrophotometer	UV Biochrom /Libra S22	Biochrom Co., Ltd	England
2) UV-Visible Spectrophotometer	UV Biochrom /Libra S22	Biochrom Co., Ltd	England
3) FTIR	Bruker/VERTEX70	Bruker Optics Inc.	U.S.A
4) GC-MS	7890 B GC-5977A MSD	Agilent	U.S.A
5) SEM	JEOL / JSM-5800LV	JEOL Co., Ltd.	Iran
6) shaker	SI/600R	JEOL Co., Ltd.	Iran
7) Incubator	BINDER/BF series	Scientific Promotion Co., Ltd.	Germany
8) Centrifuge	ALLRGRA/64R	Beckman Coulter, Inc.	Ireland
9) Rotary evaporator	Buchi /210/R-215	BUCHI (THAILAND) Ltd.	Switzerland
10) Autoclave	MaXterile /60R	DAIHAN Scientific	Korea
11) Air pump	HAILEA/ACO 208	HK Technology Co., Ltd	China
12) Hot Air Oven	Smart Temp/LLD-of-50	Lab Leader Co., Ltd	Thailand
13) Vortex Mixer	FINEPCR	Lab Leader Co., Ltd	Thailand
14) Vacuum pump	GM 0.5/SXLL6008124	Lab Leader Co., Ltd	Thailand
15) Peristaltic pump	LEADBFLUID/BT100F	Lab Leader Co., Ltd	Thailand

ตารางที่ 3.2 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

ชื่อสารเคมี	เกรด	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
1) Azo dyes			
1.1) Reactive Red 120	Commercial grade	KBC Textile Co., Ltd	Thailand
1.2) Acid Orange II	Commercial grade	KBC Textile Co., Ltd	Thailand
1.3) Acid Red 73	Commercial grade	KBC Textile Co., Ltd	Thailand
1.4) Reactive Red M5B	Commercial grade	KBC Textile Co., Ltd	Thailand
1.5) Reactive Black 5	Commercial grade	KBC Textile Co., Ltd	Thailand
1.6) Reactive Green 19	Commercial grade	KBC Textile Co., Ltd	Thailand
1.7) Acid Blue 221	Commercial grade	Phisit Group Co., Ltd	Thailand
1.8) Reactive Violet 5	Commercial grade	Phisit Group Co., Lt.	Thailand
1.9) Reactive Yellow 84	Commercial grade	Phisit Group Co., Ltd	Thailand
1.10) Acid Blue 113	Commercial grade	Phisit Group Co., Ltd	Thailand
1.11) Acid Red 57	Commercial grade	Phisit Group Co., Ltd	Thailand
2) Ethyl alcohol 95%	Commercial grade	Liquor Distillery Organization	Thailand
3) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia
4) KH_2PO_4	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia
5) $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia
6) glucose	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia
7) Agar	Analytical grade	Himedia	India
8) Sucrose	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia
9) NaCl	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia
10) HCl	Analytical grade	Baker Analyzed	U.S.A
11) NaOH	Analytical grade	Baker Analyzed	U.S.A
12) Ethyl acetate	Analytical grade	Fisher Scientific	UK
13) Anhydrous Na_2SO_4	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia
14) Urea	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia

ตารางที่ 3.2 (ต่อ)

ชื่อสารเคมีสารเคมี	เกรด	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
15) $K_2Cr_2O_7$	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia
16) H_2SO_4	Analytical grade	Merch	Germany
17) $AgSO_4$	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia
18) $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia
19) 1,10-phenanthroline monohydrate	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia
20) $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	Analytical grade	Ajax Finechem Ptl. Ltd	Australia

2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 การคัดแยกและระบุสายพันธุ์ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมอะโซ

3.2.1.1 การคัดแยกยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมอะโซ

ดัดแปลงจากวิธีของ Qu *et al.* (2012) และ Tan *et al.* (2013) โดยเก็บตัวอย่างดินจากบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้าบาติก จังหวัดปัตตานี สุ่มทั้ง 3 จุด จุดที่ 1 บริเวณน้ำทิ้งที่ออกจากท่อน้ำทิ้ง จุดที่ 2 ห่างจากจุดแรก 100 เมตร จุดที่ 3 ห่างจากจุดสอง 100 เมตร นำไปหาค่าพีเอช จากนั้นนำดิน 3 กรัม มาเติมลงไปในการเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีการเติมสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ ได้แก่ (1) Acid Red 57 (AR 57) (2) Acid Orange II (AO II) (3) Acid Red 73 (AR 73) (4) Acid Blue 113 (AB 113) (5) Acid Blue 221 (AB 221) (6) Reactive Black 5 (RB 5) (7) Reactive Green 19 (RG 19) (8) Reactive Violet 5 (RV 5) (9) Reactive Yellow 84 (RY 84) (10) Reactive Red M5B (RR M5B) และ (11) Reactive Red 120 (RR 120) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในแต่ขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin (ประกอบด้วย $(NH_4)_2SO_4$ 1.0 กรัมต่อลิตร, KH_2PO_4 1.0 กรัมต่อลิตร, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.58 กรัมต่อลิตร และ Glucose 10.0 กรัมต่อลิตร) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างอาหารดังกล่าวมาเกลี่ย (Spread plate) บนจานอาหารแข็ง Martin ที่มีการเติมวุ้น (Agar) 15 กรัมต่อลิตร และสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ ทั้ง 11 ชนิด ข้างต้น ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ดูลักษณะการเกิดวงใส (Clear zone) และการเจริญของโคโลนี โดยวัดอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณวงใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (พิมพ์ชานา และคณะ, 2016) ซึ่งวงใสที่เกิดขึ้นจะแสดงถึง

แนวโน้มในการผลิตเอนไซม์ย่อยบริเวณโครโมฟอร์ของสีย้อมอะโซ (-N=N-) จากนั้นคัดเลือกโคโลนีเดี่ยว ๆ ของยีสต์ที่มีการเกิดวงใส ล้อมรอบไปเลี้ยงต่อบนจานอาหารแข็ง Martin ที่มีการเติมสีย้อมอะโซชนิดเดียวกับอาหารที่ยีสต์โคโลนีนั้นเจริญ จากนั้นคัดเลือกโคโลนีของยีสต์ที่มีการเกิดวงใสที่ชัดเจน แล้วนำโคโลนีของยีสต์ดังกล่าวไป streak (Streak plate) บนอาหารแข็ง Martin หลาย ๆ ครั้งจนได้ยีสต์โคโลนีเดี่ยว ๆ เพียงชนิดเดียวบนจานอาหารนั้นและตรวจสอบความบริสุทธิ์ของยีสต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง นำยีสต์ที่คัดแยกได้ไปศึกษาการคัดเลือกโคโลนีที่สามารถกำจัดสีย้อมอะโซทั้ง 11 ชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin เพื่อคัดเลือกยีสต์เพียงไอโซเลตเดียวที่สามารถกำจัดและย่อยสลายสีย้อมอะโซที่ใช้ศึกษาได้ดีที่สุด โดยเริ่มต้นจากการเตรียมเชื้อตั้งต้นของยีสต์ โดยการเลี้ยงยีสต์แต่ละไอโซเลตที่คัดแยกได้ทั้งหมดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin จากนั้นนำไปเลี้ยงโดยการเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเชื้อตั้งต้นมาวัดความขุ่นของเซลล์ด้วยเครื่อง Visible spectrophotometer ที่ค่าความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร จากนั้นเติมเชื้อแต่ละไอโซเลตลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีการเติมสีย้อมอะโซทั้ง 11 ชนิด ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ได้ปริมาณของเชื้อสุดท้ายที่ OD₆₀₀ (Optical density ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร) เท่ากับ 0.15 จากนั้นนำหลอดทดสอบไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การกำจัดสี (%Decolorization) ตามวิธีในข้อที่ 3.2.2.9 จากนั้นนำยีสต์ไอโซเลตดังกล่าวที่คัดแยกได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยดูลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Martin agar) รูปถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (SEM: Scanning electron microscope) และการระบุสายพันธุ์โดยอาศัยข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 26S rRNA

3.2.1.2 การระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่คัดแยกได้

การระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่คัดแยกโดยอาศัยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ D1/D2 domain ของ large subunit (LSU) 26S rRNA gene ของยีสต์ ซึ่งส่งตัวอย่างยีสต์เพื่อสกัด ดีเอ็นเอและวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ณ ศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบความเหมือน (Similarity) กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 26S rRNA gene ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ในฐานข้อมูลของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) ด้วยโปรแกรม Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)

3.2.1.3 ชนิดของสีย้อมอะโซที่ยีสต์สายพันธุ์ที่คัดแยกได้สามารถกำจัดได้ดีที่สุด

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีสีย้อมอะโซแต่ละชนิดทั้งหมด 11 ชนิด ได้แก่ (1) Acid Red 57 (AR 57) (2) Acid Orange II (AO II) (3) Acid Red 73 (AR 73) (4) Acid Blue

113 (AB 113) (5) Acid Blue 221 (AB 221) (6) Reactive Black 5 (RB 5) (7) Reactive Green 19 (RG 19) (8) Reactive Violet 5 (RV 5) (9) Reactive Yellow 84 (RY 84) (10) Reactive Red M5B (RR M5B) และ (11) Reactive Red 120 (RR 120) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในแต่ ละขวดรูปชมพู่ เติมยีสต์สายพันธุ์ที่คัดแยกได้ลงไปให้ได้ปริมาณของเชื้อสุดท้ายที่ OD_{600} เท่ากับ 0.15 นำไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แล้วเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีตามวิธีในข้อที่ 3.2.2.9 จากนั้น คัดเลือกสายย้อมอะโซชนิดที่ยีสต์สายพันธุ์นี้สามารถกำจัดได้ดีที่สุด (สายย้อมอะโซ X) ไปใช้ในขั้นตอน ถัดไป

3.2.2 ศึกษาผลของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ต่อประสิทธิภาพในการบำบัดสีย้อมอะโซของ ยีสต์ที่คัดแยกได้ในระบบแบบกะ (Batch system)

การศึกษามผลของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ต่อประสิทธิภาพในการบำบัดสีย้อมอะโซ X ของยีสต์ที่ คัดแยกได้ในระบบแบบกะ (Batch system) โดยการเติมเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin 50 มิลลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิตร และเติมยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าว ซึ่งราย ละเอียดของการศึกษาในแต่ละพารามิเตอร์มีดังนี้

3.2.2.1 การเตรียมเชื้อ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ทำการถ่ายเชื้อไอโซเลต co.6 (ที่สตรีคบนอาหาร แข็ง Martin) ลงในขวดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin นำไปเขย่าเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการวัด ค่าความหนาแน่นของเชื้อ (Optical density: OD_{600}) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ซึ่งจะใช้ปริมาณของเชื้อสุดท้ายที่ OD_{600} เท่ากับ 0.15 สำหรับการศึกษพารามิเตอร์ ต่าง ๆ

3.2.2.2 ความเข้มข้นของสีเริ่มต้น

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อมอะโซ X เท่ากับ 0, 50, 100, 200, 300, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในแต่ละขวดจากนั้นเติมเชื้อตามวิธีที่ แสดงในข้อที่ 3.2.2.1 แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แล้ว เก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง), 2, 4, 6, 8, 10 และ 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ การกำจัดสีตามวิธีในข้อที่ 3.2.2.9

3.2.2.3 ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ กลูโคสและซูโครส โดยเตรียมอาหารเลี้ยง เชื้อ Martin ที่มีความเข้มข้นของสีย้อมอะโซ X ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้น ของกลูโคสและซูโครสเท่ากับ 0, 2, 5, 10, 15 และ 20 กรัมต่อลิตร ลงในแต่ละขวด จากนั้นเติมเชื้อ

ตามวิธีที่แสดงในข้อที่ 3.2.2.1 แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แล้วเก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง), 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีตามวิธีในข้อที่ 3.2.2.9

3.2.2.4 ชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจน

แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรีย โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีความเข้มข้นของสีย้อมอะโซ X ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรและความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรียเท่ากับ 0, 0.5, 1, 2, 4 และ 6 กรัมต่อลิตร ลงในแต่ละขวด จากนั้นเติมเชื้อตามวิธีที่แสดงในข้อที่ 3.2.2.1 แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง), 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีตามวิธีในข้อ 3.2.2.9

3.2.2.5 ปริมาณของโซเดียมคลอไรด์

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีสีย้อมอะโซ X ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เท่ากับ 0, 5, 10, 20, 30, 50, 100 และ 200 กรัมต่อลิตร ลงในแต่ละขวด จากนั้นเติมเชื้อตามวิธีที่แสดงในข้อที่ 3.2.2.1 แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แล้วเก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง), 2, 4, 6, 8, 10 และ 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีตามวิธีในข้อที่ 3.2.2.9

3.2.2.6 อุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อระหว่างการบำบัดสีย้อม

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีสีย้อมอะโซ X ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเติมเชื้อตามวิธีที่แสดงในข้อที่ 3.2.2.1 แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ได้แก่ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส แล้วเก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง), 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีตามวิธีในข้อที่ 3.2.2.9

3.2.2.7 ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีสีย้อมอะโซ X ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และปรับให้มีค่าพีเอชในแต่ละขวดเท่ากับ 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 และ 9.0 จากนั้นเติมเชื้อตามวิธีที่แสดงในข้อที่ 3.2.2.1 นำไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง), 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีตามวิธีในข้อที่ 3.2.2.9

3.2.2.8 ความเร็วรอบในการเขย่า

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีสีย้อมอะโซ X ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเติมเชื้อตามวิธีที่แสดงในข้อที่ 3.2.2.1 แล้วนำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสด้วย

ความเร็วต่าง ๆ ได้แก่ 100, 150 และ 200 รอบต่อนาที จากนั้นเก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง), 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีตามวิธีในข้อที่ 3.2.2.9

3.2.2.9 การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อมอะโซ X ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้

นำตัวอย่างสีย้อมอะโซ X ก่อนและหลังการบำบัดที่เวลาต่าง ๆ มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ยี่ห้อ ALLRGRA, รุ่น 64R ปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Visible spectrophotometer แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีดังสมการที่ (1)

$$\%Decolorization = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

โดย A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสีเริ่มต้น

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสีหลังการบำบัด

3.2.2.10 การศึกษาผลของพารามิเตอร์ที่ดีที่สุดต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ X ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้

การศึกษาในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ X ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากผลศึกษาในข้อที่ 3.2.2.2-3.2.2.8 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีความเข้มข้นของกลูโคสหรือซูโครส 2 กรัมต่อลิตร และ แอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.5 และ 1 กรัมต่อลิตร สีย้อมอะโซ X ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จาก นั้นเติมเชื้อตามวิธีที่แสดงในข้อที่ 3.2.2.1 แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แล้วเก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง), 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์การเจริญเติบโตของเชื้อด้วยเครื่อง Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีตามวิธีในข้อที่ 3.2.2.9

3.2.2.11 การศึกษาการกำจัดบำบัดสีย้อมอะโซ X ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ในสภาวะที่ไม่มีแหล่งอาหาร

โดยการเตรียมสีย้อมอะโซ X ที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเชื้อตามวิธีที่แสดงในข้อที่ 3.2.2.1 แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อ นาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แล้วเก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง), 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์การเจริญเติบโตของเชื้อด้วยเครื่อง Visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีตามวิธีในข้อที่ 3.2.2.9

3.2.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสีย้อมอะโซหลังการบำบัดด้วยยีสต์ที่แยกได้

การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างทางเคมีของสีย้อมอะโซ X หลังการบำบัดด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้เปรียบเทียบกับสีย้อมก่อนการบำบัด โดยใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ 3 เครื่องมือด้วยกันคือ UV-Visible spectrophotometer, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) และ Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS) โดยมีรายละเอียดดังนี้

3.2.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีความเข้มข้นของสีย้อมอะโซ X ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเชื้อยีสต์ลงไปโดยกำหนดให้ปริมาณของเชื้อเริ่มต้นมีค่า OD₆₀₀ เท่ากับ 0.15 ตามวิธีที่แสดงในข้อที่ 3.2.2.1 เก็บตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง) แล้วส่วนที่เหลือนำไปเขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยเก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 ชั่วโมง เพื่อนำไปวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของ Spectrum ของสีย้อมหลังการบำบัดที่เวลาต่าง ๆ ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer นอกจากนี้ยังเก็บตัวอย่างที่เวลา 10 ชั่วโมง เพื่อนำไปสกัดและวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญ (Functional group) และโครงสร้างทางเคมีของสีย้อมหลังจากการบำบัดด้วยเครื่อง FTIR และ GC-MS จากนั้นนำตัวอย่างที่เก็บได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำส่วนสารละลายส่วนใสที่แยกได้ จากการปั่นเหวี่ยงไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer, FTIR และ GC-MS สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR และ GC-MS ต้องสกัดสีย้อมเริ่มต้นและสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นก่อนไปวิเคราะห์ โดยวิธีการสกัดดัดแปลงมาจากวิธีของ Kalpana *et al.* (2012) โดยนำส่วนใส มาสกัดด้วย Ethyl acetate ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นนำส่วนสารสกัดมาเติม Anhydrous Na₂SO₄ แล้วนำไปกรองแยกส่วนสารละลายใสไปทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator จากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือทั้งสองตามวิธีข้อที่ 3.2.3.3 และ 3.2.3.4 ต่อไป

3.2.3.2 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer

นำตัวอย่างสีก่อนบำบัดและส่วนใสที่เวลาต่าง ๆ หลังการบำบัดมาวัดการดูดกลืนแสงทุก 1 นาโนเมตร ในช่วงความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer แล้วนำค่าที่ได้มาพล็อตกราฟระหว่างค่าความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสง เพื่อวิเคราะห์รูปแบบการดูดกลืนแสงของสีย้อมอะโซ X ตามโครงสร้างของสีที่เปลี่ยนแปลงไป

3.2.3.3 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

สำหรับสภาวะในการการวิเคราะห์สีย้อมอะโซ X เริ่มต้น และสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นหลังจากการบำบัดสีย้อมอะโซ X ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ด้วยเครื่อง FTIR โดยนำผงของสีย้อมอะโซ X และสารเมตาบอไลต์มาละลายด้วยคลอโรฟอร์ม (Chloroform) แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR โดยสแกนในช่วงความยาวคลื่น 400-4000 ต่อเซนติเมตร ด้วยอัตราเร็วในการสแกน 16 ต่อเซนติเมตรต่อวินาที

3.2.3.4 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS)

สำหรับสภาวะในการการวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ด้วยเครื่อง GC-MS, 7890 B GC-5977A MSD, Agilent, USA มีดังนี้ นำผงของสารสกัดมาละลายด้วยเมทานอล ทำการกรองด้วย Nylon filter ขนาด 0.45 ไมครอน เก็บตัวอย่างไว้ใน Vial จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS ตามสภาวะของเครื่องดังต่อไปนี้ ใช้แก๊ส Helium เป็น Carrier gas ด้วย Flow rate 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรตัวอย่างที่ฉีด 2 ไมโครลิตร โดยใช้คอลัมน์ VF-WAXMS ที่มีความยาว 30 มิลลิเมตร ความหนาของตัวเคลือบ (Film thickness) 0.25 ไมโครเมตร และเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร ตั้งค่าอุณหภูมิสำหรับการฉีดตัวอย่าง (Temperature of injector) ที่ 300 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของ Oven (Temperature program) ที่สภาวะ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเพิ่มทีละ 10 องศาเซลเซียส จนถึงอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส และเพิ่มอุณหภูมิถึง 280 องศาเซลเซียส โดยการเพิ่มทีละ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ (Analysis time) เท่ากับ 20 นาที ชนิดของตัวตรวจวัดคือ Mass spectrometer (MS) โดยอุณหภูมิของตัวตรวจวัด เท่ากับ 280 องศาเซลเซียส (Mane *et al.*, 2008) จากนั้นวิเคราะห์หาสารในตัวอย่างที่ได้โดยเทียบกับ Mass spectra ใน National Institute of Standards Technology (NIST) library

3.2.4 การศึกษาความเป็นพิษของสารเมตาบอไลต์ที่มีผลต่อพืช

การศึกษาความเป็นพิษของสีย้อมอะโซ X ก่อนและหลังจากการการกำจัดและย่อยสลายทางชีวภาพดัดแปลงวิธีการของ Mane *et al.* (2008) และ Aravind *et al.* (2016) โดยศึกษาการเจริญเติบโตของต้นพืช 3 ชนิด ได้แก่ ผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica* ถั่วเขียว (*Vigna radiata*) และ ผักกาดขวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*) โดยการแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด ๆ ละ 15 ต้น คือ (1) น้ำกลั่น (ชุดควบคุม) (2) สีย้อมอะโซ X ก่อนการบำบัดที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และ (3) สีย้อมอะโซ X หลังจากการบำบัดที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเริ่มการทดสอบโดยนำเมล็ดพืชทั้ง 3 ชนิดแช่ในสารละลายทั้ง 3 ชุดการทดลองเป็นเวลา 10 ชั่วโมง แล้วนำเมล็ดดังกล่าวมาเรียงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) ที่มีกระดาษกรองที่ผ่านการฆ่า

เชื้อแล้วที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที จำนวน 15 เมล็ดต่อจาน รดด้วยสารละลายทั้ง 3 ชุด ปริมาตร 15 มิลลิลิตร จำนวน 1 ครั้งในวันแรกของการทดสอบ เมื่อครบ 7 วัน จึงวิเคราะห์การเจริญเติบโตของพืช โดยทำการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของพืชที่ใช้ทดสอบดังนี้

- 1) ดัชนีการงอกของเมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ (Relative seed germination index: (RSGI), (%)) ตามวิธีของ Sudha *et al.* (2018) โดยสังเกตจากการเจริญของต้นด้วยการนับจำนวนต้นที่งอกเทียบกับจำนวนต้นทั้งหมด นำไปคำนวณค่า %RSGI ตามสมการที่ (2)
- 2) น้ำหนักแห้ง (กรัม)
- 3) ความยาวยอด (เซนติเมตร) และ
- 4) ความยาวราก (เซนติเมตร) จากนั้นนำข้อมูลมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของราก (Root inhibition) ตามสมการที่ (3)

$$\text{RSGI (\%)} = \text{SG}_S / \text{SG}_C \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

โดยที่ SG_S คือ จำนวนเมล็ดพืชที่งอกในสารละลายตัวอย่าง (สารละลายก่อนหรือหลังการบำบัด)

SG_C คือ จำนวนเมล็ดพืชที่งอกในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม)

$$\text{Root inhibition (\%)} = [(A-B)/A] \times 100 \quad \dots\dots\dots(3)$$

โดยที่ A คือ ความยาวรากของต้นพืชในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม)

B คือ ความยาวรากของต้นพืชในสารละลายตัวอย่าง (ก่อนหรือหลังการบำบัด)

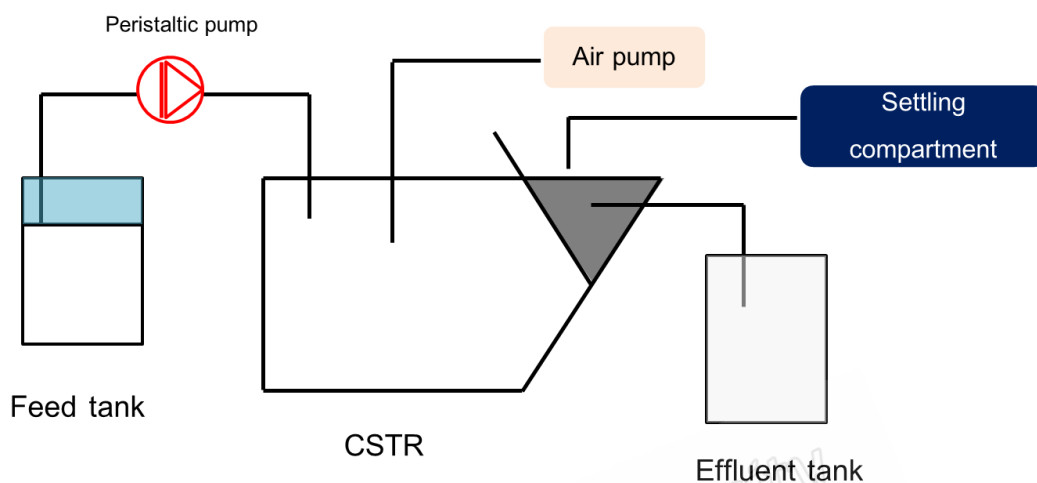
3.2.5 ศึกษาการกำจัดสีย้อมอะโซด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ในถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง

(Continuous system)

3.2.5.1 การออกแบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (Continuous stirred tank reactor: CSTR)

ในการทำวิจัยในครั้งนี้จะออกแบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่องที่ใช้ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยองค์ประกอบของถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่องจะประกอบไปด้วยดังนี้ (1) ถังเตรียมเชื้อและน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีสีย้อมอะโซ (Feed tank) (2) ถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (Continuous stirred-tank reactor; CSTR) และ (3) ถังเก็บน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้ว (Effluent tank) โดยขนาดของถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) มีความกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 20X30X20 เซนติเมตร ซึ่งประกอบไปด้วยความยาวถังปฏิกรณ์ยาว 20 เซนติเมตร และช่องตกตะกอน (Settling compartment) มีความยาว 10 เซนติเมตร และความสูง 10 เซนติเมตร ดังแสดงในรูปที่ 3.1 ในการสูบน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีสีย้อมอะโซ X จะใช้ปั๊มชนิด Peristaltic pump สูบไปยังถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) จากนั้นจะทำการให้อากาศผ่านทางปั๊มให้อากาศ (Air pump) ทางด้านบนของถังปฏิกรณ์ น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดจะไหลไปยังถังเก็บน้ำเสียที่ผ่านการบำบัด ส่วน

ตะกอนจุลินทรีย์ก็จะตกลงไปในช่องตกตะกอน (Settling compartment) และไหลกลับไปยังถัง CSTR เพื่อรักษาปริมาณของจุลินทรีย์ให้คงที่



รูปที่ 3.1 องค์ประกอบของถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (Continuous stirred tank reactor: CSTR)

3.2.5.2 การเดินระบบ

สำหรับการเดินระบบของถังปฏิกรณ์ CSTR มีขั้นตอนดังต่อไปนี้
เลี้ยงยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำกล้าเชื้อมาเติมลงในถัง CSTR แล้วเติมอากาศอย่างต่อเนื่องโดยใช้ Air pump และ 2) เตรียมน้ำเสียสีย้อมสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin และสีย้อมอะโซ X ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ป้อนน้ำเสียสังเคราะห์เข้าสู่ถัง CSTR ด้วย Peristaltic pump โดยปรับอัตราการไหลให้ได้ค่าระยะเวลากักเก็บน้ำ (Hydraulic Retention Time; HRT) เท่ากับ 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดจาก Effluent tank ทุก ๆ 1 วัน เป็นเวลา 10 วัน โดยนำไปวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ คือ การเจริญเติบโตของเชื้อโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Visible spectrophotometer และคำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดซีโอดีตามวิธีในข้อที่ 3.2.2.9 ค่าซีโอดี (COD) เปอร์เซ็นต์การกำจัดซีโอดี (%COD removal) และปริมาณของสารแขวนลอย (Suspended solids)

3.2.5.3 การหาค่าซีโอดี (Chemical Oxygen Demand: COD)

ในการวิเคราะห์การหาค่าซีโอดีตามวิธีมาตรฐานของ APHA (1999a) สำหรับวิเคราะห์น้ำเสียโดยปิเปต 0.1 N $K_2Cr_2O_7$ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างน้ำที่ผ่านการเจือจางให้อยู่ในช่วงของโอดีที่ยอมรับได้ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และเติมกรดซัลฟิวริก 3.5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้สารเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นทำการย่อยโดยอบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2

ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นถ่ายสารละลายจากหลอดทดลองลงในขวดรูปชมพู่ ทำการไทเทรตด้วย $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ โดยใช้ Ferroin เป็น อินดิเคเตอร์ โดยที่จุดยุติจะได้สารละลายน้ำตาลแดง (การทำ blank จะใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายก่อนและหลังการบำบัด และทำเหมือนตัวอย่างทุกขั้นตอน) จากนั้นนำไปคำนวณหาค่าซีไอดีตามสมการที่ (4) และคำนวณเปอร์เซ็นต์การกำจัดซีไอดีตามสมการที่ (5)

$$\text{Chemical Oxygen Demand (COD) (mg/L)} = [(A-B) \times N \times 8,000] / V \dots\dots\dots(4)$$

โดยที่ A คือ ปริมาตรของ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ที่ใช้ไทเทรตสารละลาย blank (มิลลิลิตร)
 B คือ ปริมาตรของ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ที่ใช้ไทเทรตสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
 N คือ ความเข้มข้นของ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ที่ใช้ (Normality)
 8,000 คือ น้ำหนักของออกซิเจนที่เป็น 10 เท่า \times 1,000 มิลลิลิตรต่อลิตร
 V คือ ปริมาตรตัวอย่างน้ำที่ใช้ (มิลลิลิตร)

$$\% \text{COD removal} = [(C_{in} - C_{eff}) / C_{in}] \times 100 \dots\dots\dots(5)$$

โดยที่ C_{in} คือ ค่าซีไอดีของสี Acid Red 73 100 ก่อนการบำบัด
 C_{eff} คือ ค่าซีไอดีของสี Acid Red 73 หลังการบำบัดที่เวลาต่าง ๆ

3.2.5.4 การหาปริมาณสารแขวนลอย (Suspended Solid)

ในการวิเคราะห์หาสารแขวนลอยทั้งหมดด้วยวิธีมาตรฐานของ APHA (1999b) สำหรับวิเคราะห์น้ำเสียตามวิธีของ Xu *et al.* (2015)

เริ่มต้นการทดลองโดยการชั่งกระดาษกรองใยแก้วที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรองใยแก้วจนหมด และนำไปอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง วางให้เย็นในเดซิเคเตอร์ (Desiccator) แล้วชั่งน้ำหนักของกระดาษกรองใยแก้วอีกครั้ง จนน้ำหนักคงที่ นำไปคำนวณตามสมการที่ 6

$$\text{Suspended solids (mg/L)} = [(A-B) \times 10^6] / V \dots\dots\dots(6)$$

โดยที่ A คือ น้ำหนักกระดาษกรอง+ปริมาณสารที่เหลืออยู่บนกระดาษกรอง (กรัม)
 B คือ น้ำหนักกระดาษกรอง (กรัม)
 V คือ ปริมาตรตัวอย่างน้ำที่ใช้ (มิลลิลิตร)

3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ

3.2.6.1 สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ร้อยละ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.2.6.2 วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 โปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 17.0 แบบ One Way Anova ด้วยวิธี %

Prince of Songkla University
Pattani Campus

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของตัวอย่างดิน

ลักษณะทางกายภาพและเคมีของตัวอย่างดินจากบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้าบาติก จังหวัดปัตตานี สุ่มทั้ง 3 จุด จุดที่ 1 บริเวณน้ำทิ้งที่ออกจากท่อน้ำทิ้ง จุดที่ 2 ห่างจากจุดแรก 100 เมตร จุดที่ 3 ห่างจากจุดสอง 100 เมตร ดินทั้ง 3 จุด มีลักษณะเป็นดินร่วนปนทรายและมีค่าพีเอชเท่ากับ 9.51

4.2 การคัดแยกและระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดและย่อยสลายสีย้อมอะโซ

4.2.1 การคัดแยกยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ

ยีสต์ที่คัดเลือกได้จากตัวอย่างดินที่เก็บมาจากบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้าบาติก ด้วยอาหารแข็ง Martin ที่มีสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ ทั้ง 11 ชนิด ได้แก่ Acid Red 57 (AR 57), Reactive Black 5 (RB 5), Acid Blue 113 (AB 113), Reactive Violet 5 (RV 5), Acid Orange II (AO II), Reactive Yellow 84 (RY 84), Reactive Green 19 (RG 19) Acid Red 73 (AR 73), Acid Blue 221 (AB 221), Reactive Red 120 (RR 120) และ Reactive Red M5B (RR M5B) ได้ทั้งหมด 32 ไอโซเลตโดยคัดเลือกโคโลนีที่มีวงใสรอบโคโลนีดังแสดงในตารางที่ 4.1 จากนั้นจึงนำแต่ละไอโซเลตมาคัดเลือกอีกครั้งโดย Streak เชื้อแต่ละไอโซเลตบนอาหารแข็ง Martin ที่มีสีย้อมอะโซแต่ละชนิดที่ตรงกับยีสต์ที่คัดแยกยีสต์แต่ละไอโซเลตนั้น ๆ อีกครั้ง แล้วคัดเลือกไอโซเลตที่เกิดวงรอบโคโลนีที่ใหญ่และชัดเจน โดยวัดอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณวงใสต่อเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี (พิมพ์ชานา และคณะ, 2016) ซึ่งคัดเลือกยีสต์จากขั้นตอนนี้เหลือ 19 ไอโซเลต ซึ่งเมื่อพิจารณาจากลักษณะและรูปร่างของโคโลนีบนอาหารแข็ง Martin และส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงแล้วสามารถจัดกลุ่มของยีสต์ที่คัดแยกได้ทั้ง 19 ไอโซเลตได้ 7 กลุ่ม (A-G) ตามรูปร่างของโคโลนีที่มีลักษณะเหมือนกัน ซึ่งไม่ได้คัดเลือกตามชนิดของสีแต่คัดเลือกจากลักษณะโคโลนีที่มีรูปร่างเหมือนกันให้อยู่ในกลุ่มด้วยกันดังแสดงในตารางที่ 4.2 จากนั้นนำเชื้อยีสต์กลุ่มละ 1 ไอโซเลตมาศึกษาการบำบัดสีย้อมอะโซทั้ง 11 ชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีสีย้อมชนิดต่าง ๆ 6 ชนิด ได้แก่ Reactive Black 5 (RB 5), Acid Blue 113 (AB113), Acid Blue 221 (AB221), Acid Red 57 (AR 57), Acid Red 73 (AR 73) และ Reactive Violet 5 (RV 5) แล้ววิเคราะห์ผลการหายไปของสีย้อมทั้ง 6 ชนิด ซึ่งได้ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 จำนวนโคโลนีของยีสต์ที่คัดแยกได้จากดินบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้าบาติกด้วยอาหารแข็ง Martin ที่มีสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ

No.	Azo dyes	Selected I	Selected II
1	AR 57	co 15, 33, 70, 37	co 37
2	RB 5	co 6, 34, 38, 42, 44, 49, 52, 71, 76, 77, 75	co 34, 71
3	AB 113	co 9, 11, 12, 21, 22, 23, 24, 26, 33 , 43, 49, 65, 66, 69, 70, 71, 72, 74, 75, 76, 81	co 9, 11, 12, 22, 23, 26
4	RV 5	co 15, 22, 23, 20, 27, 29, 26, 19, 18, 10	co 29, 26.1, 26.2, 10, 18
5	AO II	co 4, 7, 6, 10	co 4.1, 4.2, 6
6	RY 84	co 5, 6, 14, 18	co 14.2, 6
7	RG 19	co 15, 26, 12, 16, 13	co 16.1 ,16.2, 12, 13
8	AR 73	co 9, 5, 30, 28, 25, 14	co 30, 14, 5
9	AB 221	co 26, 29, 9, 25, 19, 6	co 25, 19
10	RR 120	co 2, 1, 6, 25, 27, 10	co 1, 10, 6
11	RR M5B	co 26, 24, 22, 4,1, 21	co 21

ตารางที่ 4.2 การจัดกลุ่มไอโซเลตของยีสต์ที่คัดแยกได้จากดินบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้าบาติกด้วยอาหารแข็ง Martin ที่มีสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ

Group	Isolate	Group	Isolate
A	co 37 AR 57 co 9 AB 113 co 1 AB 113*	D	co 8 AR 73 co 6 RR M5B co 10 RR 120*
B	co 25 AR 73 * co 21 RR M5B	E	co 34 RB 5* co 7 AO II
C	co 10 RV 5 co 29 RV 6 co 71 RB 5* co 19 RB 221* co 8.1 RG 19 co 14.2 RY 84	F	co 4.2 AO II co 6 RR 120*
		G	co 14.1 RY 84*

* หมายถึง ตัวแทนของแต่ละกลุ่มที่ถูกคัดเลือกไปใช้ศึกษาในขั้นตอนต่อไป

จากผลการศึกษาในตารางที่ 4.3 พบว่า ยีสต์ co 6 RR 120 หรือยีสต์ไอโซเลต co. 6 ที่คัดแยกมาได้จากอาหารแข็ง Martin ที่มีสีย้อม Reactive Red 120 ผสมอยู่สามารถกำจัดสีย้อมอะโซทั้งหมดชนิดที่ใช้ทดสอบได้ดีที่สุดโดยสามารถกำจัดได้มากที่สุดในระยะเวลาที่สั้นกว่าเมื่อเทียบกับไอโซเลตอื่น ๆ ดังนี้ ยีสต์ไอโซเลต co 6 กำจัดสีย้อม RB 5 และ RV 5 ได้ 100% (5 ชั่วโมง) สีย้อม AB 221 และ RV 5 กำจัดได้ 100% AR 57 กำจัดได้ 90% และ AB 113 กำจัดได้ 50% (20 ชั่วโมง) ขณะที่โคโลนีอื่น ๆ ได้แก่ ยีสต์ไอโซเลต co 10 RR 120 กำจัดสีย้อม RB 5 ได้ 100% (10 ชั่วโมง) และสีย้อม RB 221, AR 57, AR 73 และ RV 5 ได้ 50, 100, 80, 100 และ 70% (20 ชั่วโมง) ตามลำดับ ยีสต์ไอโซเลต co 14.1 RY 84 กำจัดสีย้อม RB 5, RB 221, AR 57, AR 73 และ RV 5 ได้ 0, 40, 80, 70, 50 และ 10% (20 ชั่วโมง) ตามลำดับ ยีสต์ไอโซเลต co10 RV 5 กำจัดสีย้อม RB 113 และ RV 5 ได้ 100% (5 ชั่วโมง) ส่วนสีย้อม RB 5, AB 113, AR 57 และ AR 73 ได้ 10, 50, 90 และ 80% (20 ชั่วโมง) ยีสต์ไอโซเลต co 34 RB 5 กำจัดสีย้อม RB221 และ RV 5 ได้ 100% (10 ชั่วโมง) และสีย้อม RB 5, AR 57 และ AR73 ได้ 10, 20, 100 และ 90% (20 ชั่วโมง) ตามลำดับ ยีสต์ไอโซเลต co 1 AB 113 กำจัดสีย้อม RV 5 และ RB 113 ได้ 100% (5 และ 10 ชั่วโมง) และสีย้อม RB 5, AB 221, AR57 และ AR 73 ได้ 0, 20, 100 และ 90% (20 ชั่วโมง) ตามลำดับ ยีสต์ไอโซเลต co 19 RB 221 กำจัดสีย้อม AR 57 กำจัดได้ 100% (10 ชั่วโมง) และกำจัดสีย้อม RB 5, RV 5

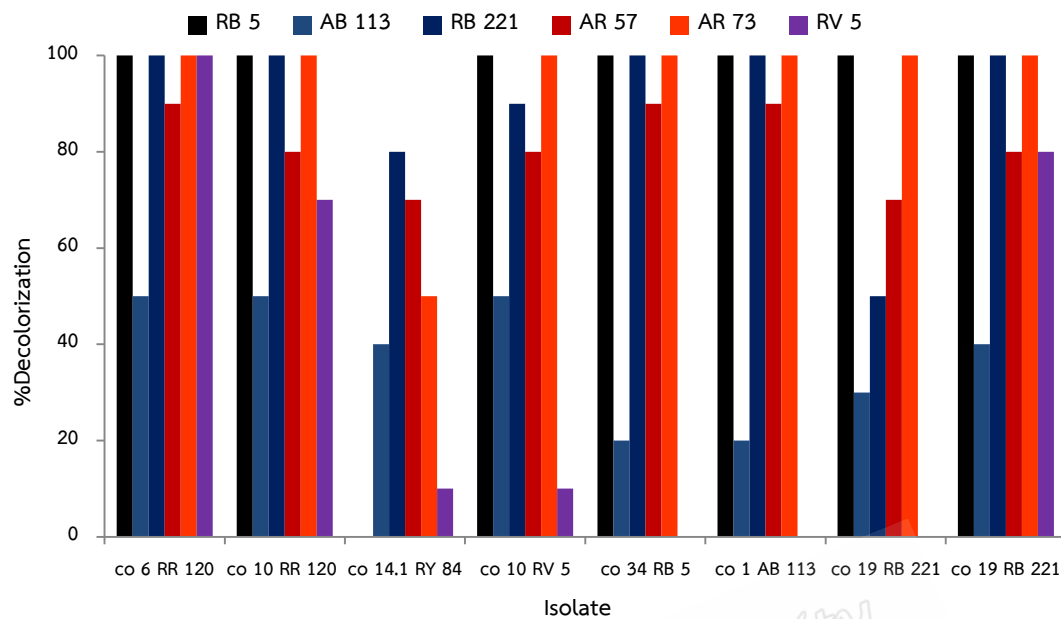
AB 221, RV 5 และ AB 113 ได้ 100, 30, 50, 70 และ 0% (20 ชั่วโมง) ตามลำดับ และยีสต์ไอโซเลต co 19 RB 221 กำจัดสีย้อม RB5 และ AR57 ได้ 100% (10 ชั่วโมง) ส่วนสีย้อม RV5, AB 221, RV 5 และ AB 113 กำจัดได้ 40, 100, 80 และ 20% (20 ชั่วโมง) ตามลำดับ และเมื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาสร้างเป็นแผนภูมิแท่งดังรูปที่ 4.1 เพื่อให้การพิจารณาผลง่ายขึ้น จากผลดังกล่าวจึงสรุปได้ว่ายีสต์ไอโซเลต co. 6 สามารถกำจัดสีย้อมอะโซทั้ง 6 ชนิดได้ดีที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายีสต์ไอโซเลตนี้มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีได้หลายชนิดซึ่งเป็นประโยชน์ในการนำยีสต์ไอโซเลตนี้ไปประยุกต์ใช้ในการกำจัดสีย้อมในน้ำเสีย ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกยีสต์ไอโซเลต co. 6 ไปใช้ในการศึกษาในขั้นตอนถัดไป

ตารางที่ 4.3 ประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ ของยีสต์ไอโซเลตที่คัดเลือกได้จากดินบริเวณทางน้ำทิ้งของโรงงานย้อมผ้าบาติก

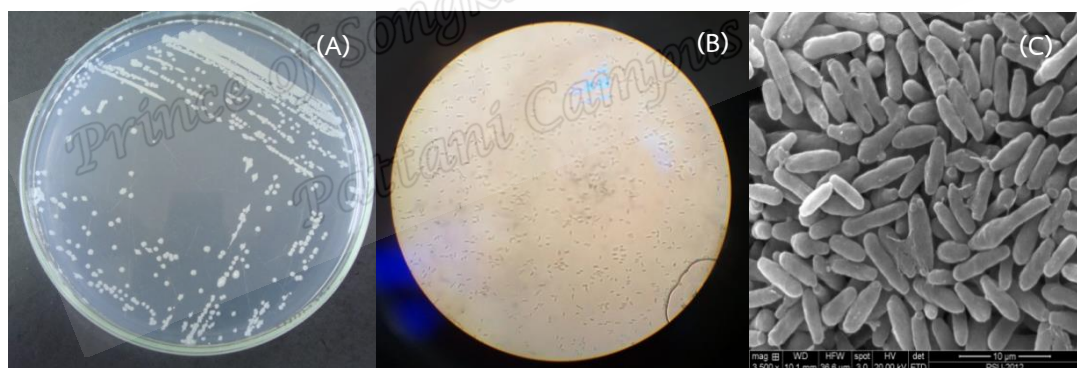
Group	Isolate	Azo dyes	%Decolorization	Time (hr)
A	co 1 AB 113	RB 5	0	20
		AB 113	100	10
		RB 221	20	20
		AR 57	100	20
		AR 73	90	20
		RV 5	100	5
B	co 25 AR 73	RB 5	100	10
		AB 113	40	20
		RB 221	100	20
		AR 57	80	20
		AR 73	100	10
		RV 5	80	20
C	co 10 RV 5	RB 5	10	20
		AB 113	100	5
		RB 221	50	20
		AR 57	90	20
		AR 73	80	20
		RV 5	100	5
C	co 19 RB 221	RB 5	100	20
		AB 113	30	20

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

Group	Isolate	Azo dyes	%Decolorization	Time (hr)
		RB 221	50	20
		AR 57	70	20
		AR 73	100	5
		RV 5	70	20
D	co 10 RR 120	RB 5	100	10
		AB 113	50	20
		RB 221	100	20
		AR 57	80	20
		AR 73	100	10
		RV 5	80	20
E	co 34 RB 5	RB 5	10	20
		AB 113	100	10
		RB 221	20	20
		AR 57	100	20
		AR 73	90	20
		RV 5	100	10
F	co 6 RR 120	RB 5	100	5
		AB 113	50	20
		RB 221	100	20
		AR 57	90	20
		AR 73	100	5
		RV 5	100	20
G	co 14.1 RY 84	RB 5	0	20
		AB 113	40	20
		RB 221	80	20
		AR 57	70	20
		AR 73	50	20
		RV 5	10	20



รูปที่ 4.1 ประสิทธิภาพในการกำจัดสีของยีสต์ชนิดต่าง ๆ ของยีสต์ที่แยกได้จากดินบริเวณโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ปัตตานี



รูปที่ 4.2 ลักษณะโคโลนีของยีสต์ *P. kudriavzevii* (A) บนอาหารแข็ง Martin (B) ถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (100X) และ (C) ถ่ายด้วยกล้อง Scanning electron microscope (SEM) (3,500X)

4.2.2 การระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่คัดแยกได้

จากผลการระบุสายพันธุ์ของยีสต์โดยอาศัยข้อมูลของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน D1/D2 domain ของ large subunit (LSU) 26S rRNA gene ของยีสต์ที่คัดแยกได้เปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ในฐานข้อมูลของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) ด้วยโปรแกรม Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีสต์ไอโซเลต co 6 ขนาด 580 bp ที่มีความเหมือน (similarity) กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ

ยีสต์สายพันธุ์ *Pichia kudriavzevii* 100% จึงสามารถระบุได้ว่ายีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวคือ *Pichia kudriavzevii*

4.2.3 การคัดเลือกชนิดของสีย้อมอะโซที่ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดได้ดีที่สุด

จากการศึกษาชนิดของสีย้อมอะโซที่ทั้ง 11 ชนิด (Acid Red 57 (AR 57), Reactive Black 5 (RB 5), Acid Blue 113 (AB 113), Reactive Violet 5 (RV 5), Acid Orange II (AO II), Reactive Yellow 84 (RY 84), Reactive Green 19 (RG 19) Acid Red 73 (AR 73), Acid Blue 221 (AB 221), Reactive Red 120 (RR 120) และ Reactive Red M5B (RR M5B)) ที่ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดได้ดีที่สุดคือ Acid Red 73 โดยสามารถกำจัดได้ 100% ภายใน 5 ชั่วโมง รองลงมาคือ สี Reactive black 5 และ Reactive green 19 ได้ 100% ภายใน 8 และ 10 ชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับสี Acid Blue 113, Acid Blue 221, Acid Red 57, Reactive Red M5B และ Reactive Yellow 84 สามารถกำจัดได้มากกว่า 90% ภายใน 12 ชั่วโมง ขณะที่ Reactive Red 120 Acid Orange II และ Reactive Violet 5 สามารถกำจัดได้เพียง 66, 49 และ 48% ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 4.4 ซึ่งจะเห็นได้ว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสี Acid Red 73 ได้ดีที่สุดในระยะเวลาที่น้อยที่สุด นอกจากนี้การกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* เป็นกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพเพียงอย่างเดียว โดยสีหลังการบำบัดนอกจากไม่มีสีหลงเหลืออยู่ เมื่อนำสารละลายดังกล่าวไปปั่นเหวี่ยงแล้วส่วนใส (Supernatant) ไม่มีสีซึ่งไม่แตกต่างกับสารละลายหลังการบำบัดก่อนการปั่นเหวี่ยง และส่วนของตะกอนเซลล์มีสีขาวไม่มีสีย้อมติดอยู่ที่เซลล์ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลที่ได้จากการศึกษาบนอาหารแข็งที่มีการผสมเชื้อกับสีแล้วเลี้ยงบนอาหารแข็ง Martin เป็นเวลา 10 ชั่วโมง พบว่า สีย้อม Acid Red 73 เปลี่ยนจากสีแดงกลายเป็นใสไม่มีสี ดังแสดงในรูปที่ 4.3(G) จากผลการศึกษาทั้งสองดังที่ได้กล่าวมาแสดงให้เห็นว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* มีกลไกการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพไม่ใช้การดูดซับบนผิวเซลล์ ขณะที่การบำบัดสีย้อม 5 ชนิด ด้วยยีสต์เป็นการย่อยสลายควบคู่กับการดูดซับบนผิวเซลล์ เช่น Acid Red 57 (AR 57), Acid Orange II (AO II), Reactive Yellow 84 (RY 84), Acid Blue 221 (AB 221) และ Reactive Red 120 (RR 120) ดังนั้นจึงจะเห็นได้ว่าก่อนนำสารละลายหลังการบำบัดไปปั่นเหวี่ยงจะเห็นสารละลายมีสี แต่เมื่อนำไปปั่นเหวี่ยงพบว่าสารละลายส่วนใสไม่มีสี เนื่องจากว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* มีการดูดซับสีย้อมที่เซลล์ทำให้เมื่อตกตะกอนเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงมีเพียงตะกอนเซลล์ที่ติดสี ส่วนสารละลายส่วนใสไม่มีสี ดังแสดงในรูปที่ 4.3(A, C, E, F, H) และด้วยโครงสร้างของสีย้อมทั้ง 5 ชนิด มีโครงสร้างที่ซับซ้อน ดังแสดงในตารางที่ 4.4 จึงทำให้การบำบัดสีต้องใช้ระยะเวลายาวนานขึ้นส่งผลทำให้เกิดการย่อยสลายที่ยังไม่สมบูรณ์ในการเปลี่ยนแปลงเป็นสารอื่น ๆ ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยจึงเลือกสีย้อม Acid Red 73 ไปใช้ในการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 4.4 การกำจัดสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ ของยีสต์ *P. kudriavzevii*

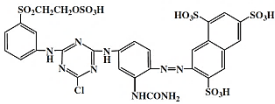
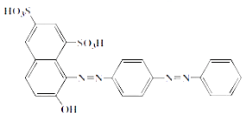
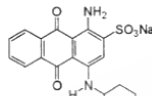
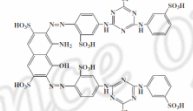
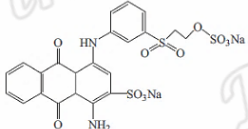
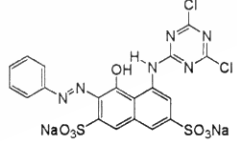
Azo dyes	Structure	λ_{\max}	% Decolorization	Time (hr)	Biodegradation
Acid Orange II		483	49	12	*, **
Reactive Violet 5		560	98	12	*
Acid Red 57		514	96	12	*, **
Acid Blue 113		568	90	12	*
Acid Red 120		534	66	12	*, **

(Qu *et al.*, 2012; Tan *et al.*, 2013; Tan *et al.*, 2016)

*การย่อยสลาย หมายถึงยีสต์กำจัดสีย้อมอะโซด้วยกระบวนการย่อยสลายโมเลกุลของสีย้อม

**การดูดซับ หมายถึงยีสต์กำจัดสีย้อมอะโซด้วยกระบวนการดูดซับบนผิวเซลล์

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

Azo dyes	Structure	λ_{max}	% Decolorization	Time (hr)	Biodegradation
Reactive Yellow 84		425	96	12	*, **
Acid Red 73		509	100	5	*
Acid Blue 221		612	98	12	*, **
Reactive Green 19		630	100	10	*
Reactive Black 5		597	100	8	*
Reactive Red M5B		537	99	12	*

(Qu *et al.*, 2012; Tan *et al.*, 2013; Tan *et al.*, 2016)

* การย่อยสลาย หมายถึงยีสต์กำจัดสีย้อมอะโซด้วยกระบวนการย่อยสลายโมเลกุลของสีย้อม

**การดูดซับ หมายถึงยีสต์กำจัดสีย้อมอะโซด้วยกระบวนการดูดซับบนผิวเซลล์



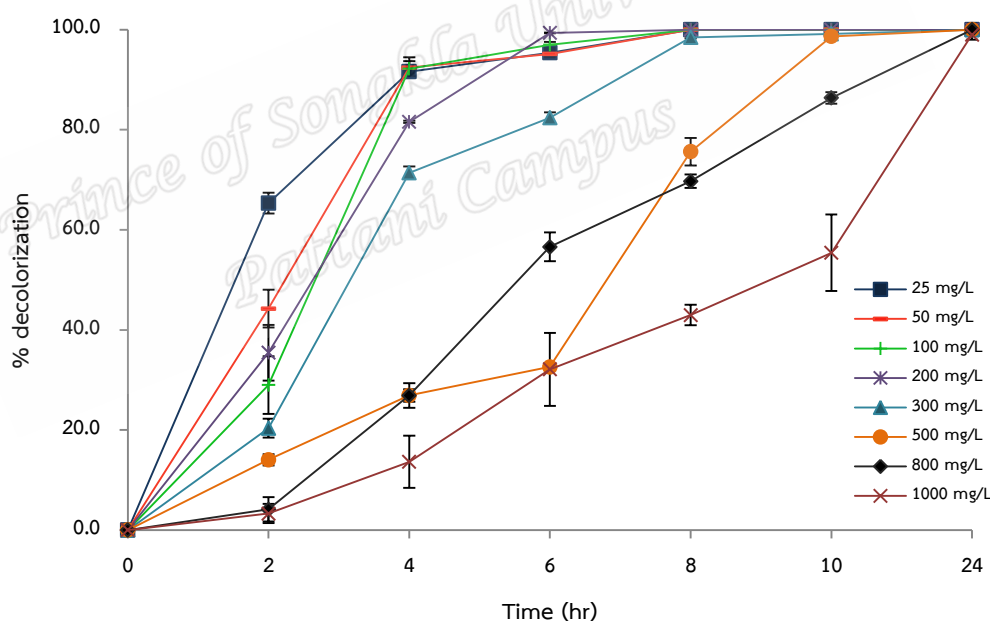
รูปที่ 4.3 การกำจัดสีย้อมอะโซชนิดต่าง ๆ โดยยีสต์ *P. kudriavzevii* (A-K) ลักษณะของสีก่อนและหลังการบำบัดในอาหารเหลว Martin (A) Acid Orange II (AO II), (B) Reactive Violet 5 (RV 5), (C) Acid Red 57 (AR 57), (D) Acid Blue 113 (AB 113), (E) Reactive Red 120 (RR 120), (F) Reactive Yellow 84 (RY 84), (G) Acid Red 73 (AR 73), (H) Acid Blue 221 (AB 221), (I) Reactive Green 19 (RG 19), (J) Reactive Black 5 (RB 5) และ (K) Reactive Red M5B (RR M5B) โดย (1) ลักษณะสีย้อมอะโซก่อนการบำบัดสี (2) หลังจากบำบัดสี และ (3) ส่วนใสของสีย้อมอะโซหลังการบำบัดที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง (L) ลักษณะของสีหลังการบำบัดบนอาหารแข็ง Martin

4.3 การศึกษาผลของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ของยีสต์ *P. kudriavzevii*

4.3.1 ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อม Acid Red 73

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 4.4 พบว่าที่ความเข้มข้นของสี 25-200 มิลลิกรัมต่อลิตร ยีสต์สามารถกำจัดสีได้ 100% ภายในเวลา 8 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 300-500, 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ยีสต์สามารถกำจัดสีได้ 99, 86 และ 55% ภายในเวลา 10 ชั่วโมง ตามลำดับ และจากการศึกษาเพิ่มเติมถึง 24 ชั่วโมง พบว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถ

กำจัดสีย้อม Acid Red 73 ความเข้มข้น 800 และ 1,000 ได้ 100 และ 99% ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดและทนต่อความเข้มข้นของสีย้อม Acid Red 73 ที่สูง โดยจะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นของสีย้อม Acid Red 73 สูงถึง 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ยีสต์ *P. kudriavzevii* ก็ยังสามารถกำจัดสีในระยะเวลาเพียง 24 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับการศึกษาของ Qu *et al.* (2012) พบว่ายีสต์ *Pichia sp.* สามารถกำจัดสี Acid Red B ที่ความเข้มข้นสี 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ 80% ภายใน 12 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้นของสี 300-500 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกำจัดสีได้ 50-60% ภายใน 4 วัน ซึ่งจะเห็นได้ว่าระยะเวลาการบำบัดนั้นยาวนานกว่าจากการศึกษาในครั้งนี้และจากผลการศึกษาของ Tan *et al.* (2013) พบว่ายีสต์ *Candida tropicalis* TL-F1 สามารถกำจัดสี Acid Brilliant Scarlet GR ที่ความเข้มข้น 20-100 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ 95% ภายใน 24 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้นของสีมากกว่า 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ยีสต์ *C. tropicalis* TL-F1 สามารถกำจัดสีได้ 59% ภายใน 5 วัน ที่ความเข้มข้นสีเท่ากันจะเห็นได้ว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีในระยะเวลาเพียง 24 ชั่วโมง



รูปที่ 4.4 ประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ *P. kudriavzevii*

จากผลการศึกษาของ Tan *et al* (2014) พบว่ายีสต์ *Magnusiomyces ingens* LH-F1 สามารถกำจัดสีย้อม Acid Red B ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ 98% ภายใน 10 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้นของสี 100 250, 300 และ 800 มิลลิกรัมต่อลิตร ยีสต์ *M. ingens* LH-F1 สามารถกำจัดสีได้ 96, 92 และ 50% ภายในระยะเวลา 20-44, 56 และ 108 ชั่วโมง ตามลำดับ นอกจากนี้

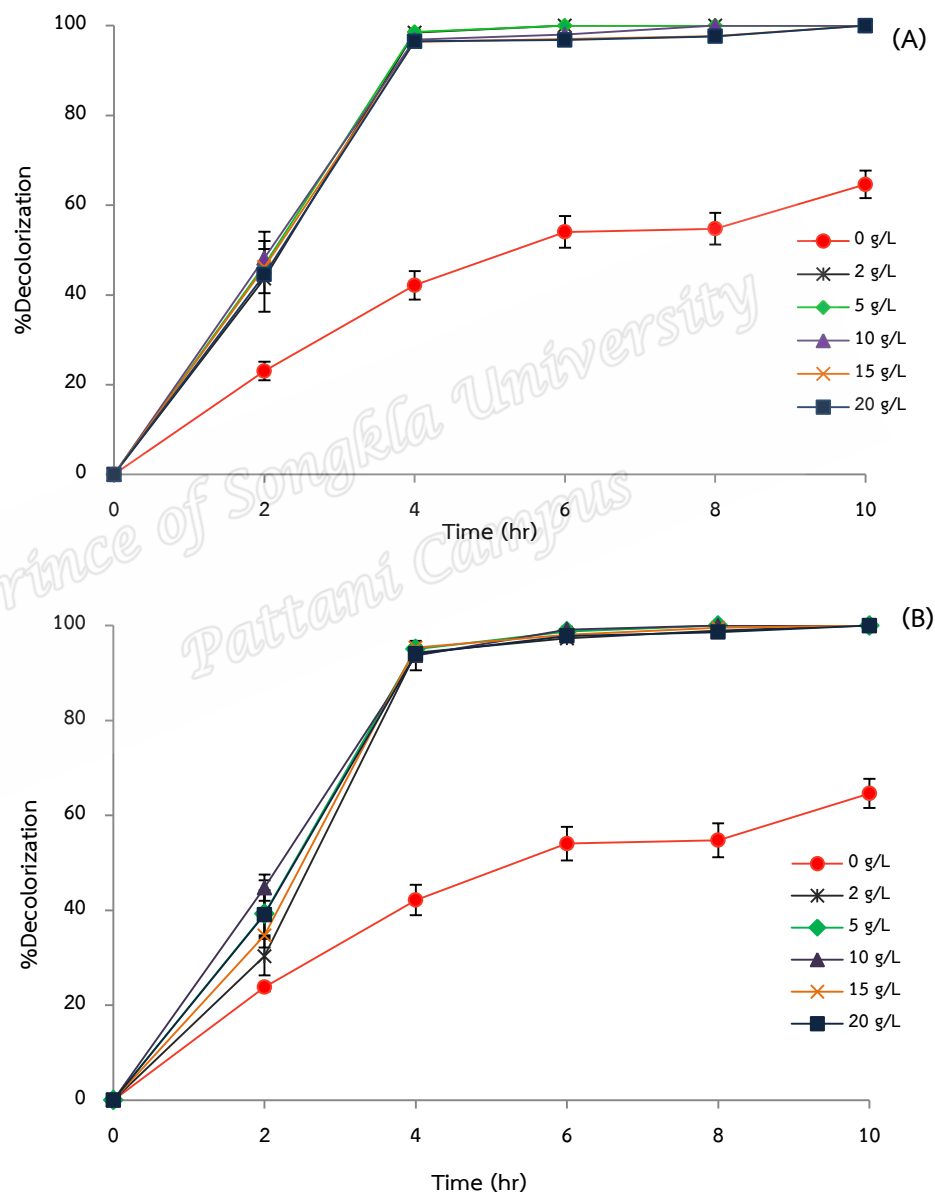
Song *et al* (2017) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของยีสต์ *Pichia occidentalis* G1 ในการกำจัดสีย้อม Acid Red B ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ยีสต์ *P. occidentalis* G1 สามารถกำจัดสีย้อม Acid Red B ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ 98% ภายใน 16 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้นของสี 100-600 มิลลิกรัมต่อลิตร กำจัดสีได้ 94 % ที่ระยะเวลา 20-36 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้นของสี 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร กำจัดสีได้ 77 และ 62% ที่ ระยะเวลา 36 ชั่วโมง ตามลำดับ จากผลการศึกษา เห็นได้ว่า ยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่คัดแยกได้จากงานวิจัยนี้มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซได้สูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับยีสต์ที่ได้รายงานในงานวิจัยก่อนหน้านี้ โดยสามารถกำจัดสีย้อมที่ความเข้มข้นสูง 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้หมดภายในระยะเวลาที่รวดเร็วมากเพียง 6 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้นสูงถึง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้เวลาเพียง 10 ชั่วโมงก็สามารถกำจัดสีย้อมได้หมด และใช้เวลาเพียง 24 ชั่วโมง ในการกำจัดสีย้อมที่ความเข้มข้นสูงถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยีสต์สายพันธุ์นี้มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดสีย้อมแล้วยังสามารถดำรงชีวิตและทำงานได้ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของสีย้อมที่สูงมากด้วย ดังนั้นจึงเป็นจุดเด่นและข้อได้เปรียบในการนำยีสต์สายพันธุ์ไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมในระดับอุตสาหกรรมต่อไปได้

4.3.2 ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน

จากการศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* โดยได้ศึกษาแหล่งคาร์บอน 2 ชนิด คือ กลูโคส และซูโครส ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0, 2, 5, 10, 15 และ 20 กรัมต่อลิตร จากผลการศึกษา พบว่า กลูโคสความเข้มข้น 2-20 กรัมต่อลิตร ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ได้มากกว่า 97% ภายใน 4 ชั่วโมง และสามารถกำจัดสีได้ 100% ภายในเวลา 10 ชั่วโมง และในอาหารที่ไม่มีกลูโคส (กลูโคสความเข้มข้น 0 กรัมต่อลิตร) ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้ 64% ภายใน 10 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 4.5(A) และจากการศึกษาผลของซูโครสต่อความสามารถในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* พบว่าที่ความเข้มข้นของซูโครส 2-20 กรัมต่อลิตร ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้มากกว่า 94% ภายใน 4 ชั่วโมง และกำจัดสีได้ 100% ที่ระยะเวลา 10 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 4.5(B) จากผลการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วย ยีสต์ *P. kudriavzevii* ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคสและซูโครสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามด้วยราคาของซูโครสที่ราคาต่ำกว่ากลูโคส นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีย้อมได้เมื่อถูกเลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสหรือซูโครสความเข้มข้น 2-20 กรัมต่อลิตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ที่ระยะเวลา 10 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของสีย้อม Acid Red 73 100 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงว่าในการเลี้ยงเชื้อยีสต์ดังกล่าวสามารถปรับองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ให้มีกลูโคสหรือซูโครสเพียง 2 กรัมต่อลิตร ได้เพื่อลดต้นทุนในการเลี้ยงเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่า การไม่เติม

แหล่งคาร์บอนทั้งกลูโคสหรือซูโครสในอาหารเลี้ยงเชื้อ ยีสต์ก็ยังสามารถกำจัดสีย้อมได้ถึง 64% ภายใน 10 ชั่วโมง ถึงแม้ประสิทธิภาพดังกล่าวจะไม่ดีเท่ากับอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมแหล่งคาร์บอน แต่แสดงให้เห็นว่า ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถใช้สารเมตาบอไลต์หรือผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายของสีย้อมเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตได้ อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า การเลี้ยงยีสต์ดังกล่าวเพื่อใช้ในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ควรมีการเติมซูโครสลงไปปริมาณ 2 กรัมต่อลิตร เพื่อช่วยให้ยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็วขึ้นทำให้ช่วยเพิ่มจำนวนยีสต์ในระบบให้มากขึ้นอย่างรวดเร็วซึ่งจะส่งผลต่อเนื่องต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมในระบบต่อไปด้วย จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซของยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ โดย Qu *et al.* (2012) ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นของกลูโคสต่อการกำจัดสีย้อม Acid Red B พบว่าที่ความเข้มข้นของกลูโคส 5-10 กรัมต่อลิตร ยีสต์ *Pichia sp.* สามารถกำจัดสี Acid Red B (80 มิลลิกรัมต่อลิตร) ได้เพียง 90% ภายในเวลา 10 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้นของกลูโคส 2 กรัมต่อลิตร สามารถกำจัดสีได้เพียง 60% ภายในเวลา 10 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าเมื่อเทียบกับการศึกษาในครั้งนี้ ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้มากกว่า 94% ภายใน 4 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของกลูโคสและซูโครส 2 กรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้แม้ความเข้มข้นของกลูโคสและซูโครสเพียง 2 กรัมต่อลิตร ซึ่งถือว่าแหล่งคาร์บอนในระบบน้อยมาก แต่ยีสต์ *P. kudriavzevii* ยังสามารถกำจัดสีได้และเปอร์เซ็นต์การกำจัดสีที่สูงในระยะเวลาการกำจัดสีย้อมที่น้อย และจากการศึกษาของ Qu *et al.* (2012) ยังพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสเป็น 15 กรัมต่อลิตร ประสิทธิภาพในการกำจัดสีของยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวลดลง โดยให้เหตุผลว่าเนื่องจากยีสต์ *Pichia sp.* จะใช้แหล่งคาร์บอนที่มีอยู่ในระบบมากกว่าการใช้สารที่เกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายของโมเลกุลสีย้อมอะโซเป็นแหล่งคาร์บอนจึงทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสีลดลง (Qu *et al.*, 2012) และจากการศึกษาของ Song *et al.* (2017) พบว่า ยีสต์ *Pichia. occidentalis* G1 สามารถกำจัดสี Acid Red B ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ 96% ภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมง ที่กลูโคสความเข้มข้น 2-4 กรัมต่อลิตรในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่เมื่อความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่มสูงขึ้นถึง 5-6 กรัมต่อลิตร การกำจัดสีก็จะน้อยลงตามความเข้มข้นของกลูโคสที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งต่างจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าที่ความเข้มข้นของกลูโคสและซูโครสเป็น 15 กรัมต่อลิตรยีสต์ *P. kudriavzevii* ก็ยังสามารถกำจัดสีได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) เมื่อเทียบกับที่ความเข้มข้นของกลูโคสและซูโครสเป็น 2-10 กรัมต่อลิตร และจากการศึกษาของ Tan *et al.* (2013) พบว่า ยีสต์ *C. tropicalis* TL-F1 สามารถกำจัดสี Acid Brilliant Scarlet GR ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซูโครสความเข้มข้นของ 2 กรัมต่อลิตร ได้เพียง 60% ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากการศึกษาจะเห็นได้ว่ายีสต์ *C. tropicalis* TL-F1 มีประสิทธิภาพการกำจัดสีน้อยกว่าเมื่อเทียบกับยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่ได้จาก

การคัดแยกในครั้งนี้ ที่ใช้ระยะเวลาเพียง 4 ชั่วโมง สามารถกำจัดสี Acid Red 73 ได้มากกว่า 93% ที่ความเข้มข้นของกลูโคสและซูโครส 2 กรัมต่อลิตร จากผลการศึกษาและการรายงานข้างต้นแสดงให้เห็นว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* ที่คัดแยกได้จากงานวิจัยนี้สามารถบำบัดสีย้อม Acid Red 73 ได้ในแหล่งอาหารที่มีซูโครส 2 กรัมต่อลิตร และยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่น ๆ ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น

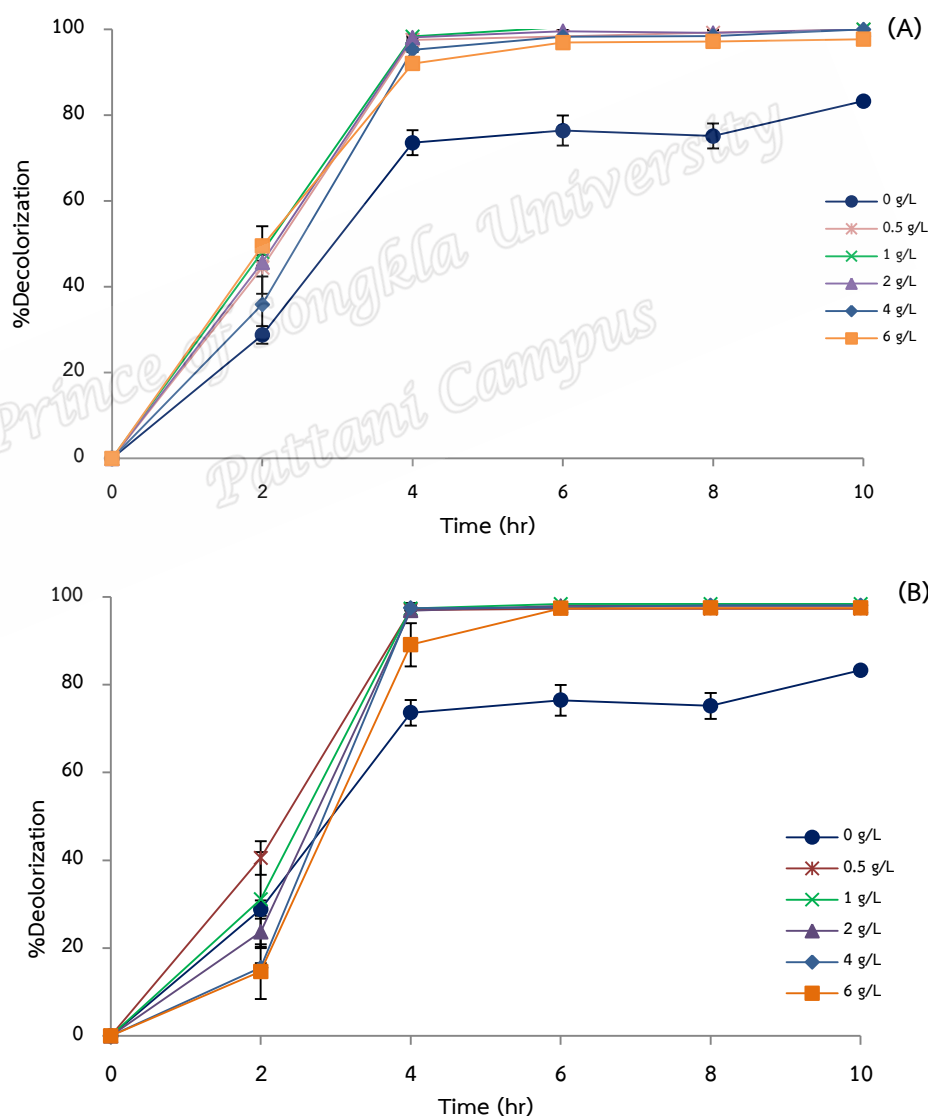


รูปที่ 4.5 ผลของชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนต่อการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ *P. kudriavzevii* โดยที่ (A) ความเข้มข้นของกลูโคส และ (B) ความเข้มข้นของซูโครส

4.3.3 ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน

จากการศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน โดยได้ทำการศึกษาแหล่งไนโตรเจนจาก 2 แหล่งคือ แอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรีย สำหรับผลการศึกษาของความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตต่อความสามารถในการบำบัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* พบว่าที่เวลา 4 ชั่วโมง ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสี Acid Red 73 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้น 0.5-4 กรัมต่อลิตร ได้มากกว่า 95% และเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 10 ชั่วโมง สามารถกำจัดสีได้ 100% ขณะที่ความเข้มข้น 6 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 4 ชั่วโมง กำจัดสีได้ 92% และกำจัดได้ 98% ที่เวลา 10 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.6(A) สำหรับผลของความเข้มข้นของยูเรียต่อความสามารถในการบำบัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ดังแสดงในรูปที่ 4.6(B) ซึ่งเห็นได้ว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมยูเรียที่ระดับความเข้มข้น 0.5-4 กรัมต่อลิตร ยีสต์สามารถกำจัดสีได้มากกว่า 96% และที่ความเข้มข้น 6 กรัมต่อลิตร ยีสต์สามารถกำจัดสีได้ 89% ที่ระยะเวลา 4 ชั่วโมง และเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 10 ชั่วโมง ยีสต์สามารถกำจัดสีได้มากกว่า 97% ที่ความเข้มข้นของยูเรีย 0.5-6 กรัมต่อลิตร และเมื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสีของยีสต์ดังกล่าวในอาหารที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนทั้งแอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรีย พบว่าที่เวลา 2 ชั่วโมง ยีสต์สามารถกำจัดสีได้ 28% ซึ่งกำจัดได้ดีกว่าในสภาวะที่มียูเรีย ความเข้มข้น 2-6 กรัมต่อลิตร และเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 4-8 ชั่วโมง ยีสต์สามารถกำจัดสีได้คงที่เท่ากับ 73-75% และเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 10 ชั่วโมง กำจัดได้ 83% จากผลการศึกษานี้จะเห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตสูงขึ้นถึง 6 กรัมต่อลิตร จะส่งผลทำให้การกำจัดสีลดลง เนื่องจากเมื่อแอมโมเนียมซัลเฟตเมื่อละลายน้ำจะเกิดเป็นแอมโมเนีย ซึ่งหากมีความเข้มข้นของแอมโมเนียในระบบสูงจะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ของยีสต์ ทำให้ยีสต์เจริญเติบโตได้ไม่ดีและเกิดการตายได้ ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสีลดลงไปด้วย นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับผลการกำจัดสีของยีสต์ในสภาวะที่ไม่มีการเติมแหล่งคาร์บอนในรูปที่ 4.5 (ผลการศึกษาคือ 4.3.2) พบว่า ที่เวลา 10 ชั่วโมง ยีสต์สามารถกำจัดสีได้ 64% ซึ่งต่ำกว่าสภาวะที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจนในรูปที่ 4.6 ประมาณ 21% จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ายีสต์มีความต้องการแหล่งคาร์บอนมากกว่าแหล่งไนโตรเจน เมื่อในระบบไม่มีแหล่งคาร์บอนยีสต์สามารถกำจัดสีได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับแหล่งที่ไม่มีไนโตรเจน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่ายีสต์สามารถใช้กลูโคสซึ่งมีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin และสารที่เกิดจากการย่อยสลายของสีย้อมเพื่อการดำรงชีวิตได้ และยังพบว่าการเติมแหล่งคาร์บอนในอาหารมีผลให้ยีสต์สามารถกำจัดสีได้สูงกว่า อย่างไรก็ตามผลการกำจัดสีก็ไม่ดีเท่ากับการมีทั้งแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งจากผลการศึกษาที่กล่าวมาทั้งหมดพบว่า ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin เพื่อเลี้ยงยีสต์ *P. kudriavzevii* สำหรับการศึกษาการกำจัดสี Acid Red 73 โดยพิจารณาจากราคา และประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม คือ ซูโครสหรือ

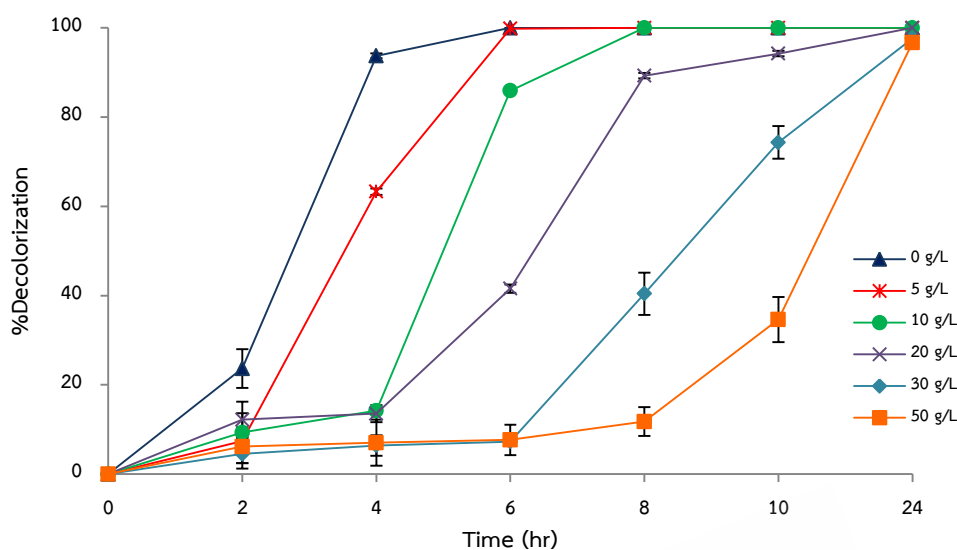
กลูโคส 2 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 และ 1 กรัมต่อลิตร และจากงานวิจัยที่ผ่านมาเกี่ยวกับผลของแหล่งไนโตรเจนต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซของยีสต์ โดย Qu *et al.* (2012) รายงานว่า ยีสต์ *Pichia sp.* สามารถกำจัดสี Acid Red B ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสถานะที่มีการเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) ความเข้มข้น 0.2-2 กรัมต่อลิตร ภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมง ได้ 85-95% และเมื่อความเข้มข้นของ NH_4Cl สูงถึง 5 กรัมต่อลิตร สามารถกำจัดได้เพียง 65% นอกจากนี้ Tan *et al.* (2013) ใช้ยีสต์สายพันธุ์ *C. tropicalis* TL-F1 สามารถกำจัดสี Acid Brilliant Scarlet GR ในสถานะที่มีความเข้มข้นของยูเรีย 5-7 กรัมต่อลิตร ได้ 97% ภายในระยะเวลาถึง 24 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ แต่ประสิทธิภาพในการบำบัดสีด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* จะใช้ระยะเวลาที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Qu *et al.* (2012)



รูปที่ 4.6 ผลของชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนต่อการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* โดย (A) ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และ (B) ความเข้มข้นของยูเรีย

4.3.4 ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์

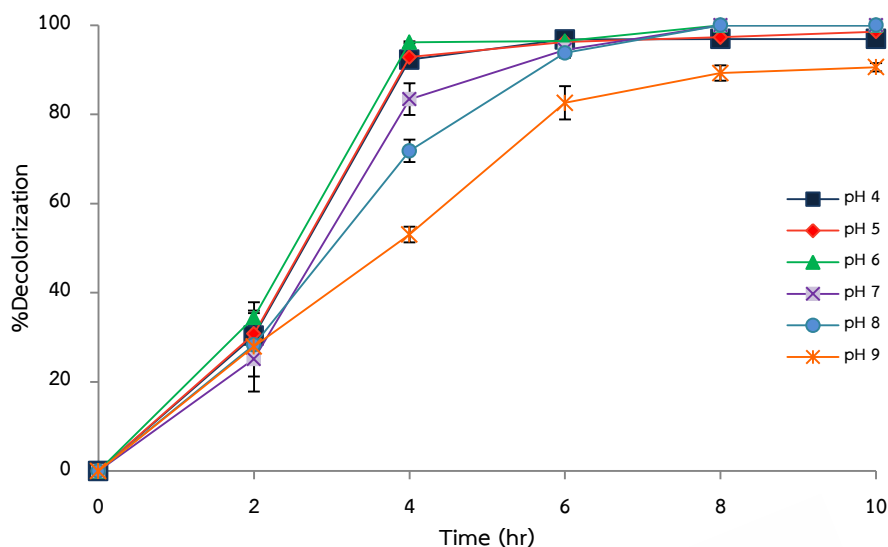
จากการศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0-50 กรัมต่อลิตร) ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีของ Acid Red 73 ของยีสต์ *P. kudriavzevii* ได้ผลดังกราฟในรูปที่ 4.7 พบว่า เมื่อปริมาณของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้นประสิทธิภาพในการกำจัดสีของยีสต์ลดลงและที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นมีผลให้การกำจัดสีของยีสต์เพิ่มขึ้นด้วย ดังนี้ ประสิทธิภาพในการกำจัดสีของ Acid Red 73 ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีโซเดียมคลอไรด์ปริมาณ 0, 5, 10, 20, 30 และ 50 กรัมต่อลิตร ยีสต์สามารถกำจัดสีในเวลา 4 ชั่วโมง ได้ 88, 63, 14, 14, 6 และ 7% ตามลำดับ และเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 6 ชั่วโมง กำจัดสีได้ 93, 99, 86, 42, 7 และ 8% ตามลำดับ และเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 8 ชั่วโมง กำจัดสีได้ 100, 100, 100, 89, 40 และ 12% ตามลำดับ และที่เวลา 10 ชั่วโมง ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ 20, 30 และ 50 กรัมต่อลิตร ได้เพิ่มขึ้นเป็น 94, 74 และ 35% ตามลำดับ และกำจัดได้มากกว่า 97% ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากผลการศึกษาเห็นได้ว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* ที่คัดแยกได้สามารถกำจัดสีของยีสต์ได้ในสารละลายที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงได้ แสดงให้เห็นว่ายีสต์สามารถทนต่อปริมาณของเกลือที่สูงได้ ซึ่งเป็นข้อดีของยีสต์ที่สามารถนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียสีจากโรงงานย้อมผ้า เนื่องจากในกระบวนการย้อมผ้ามีการใช้เกลือทำให้น้ำเสียดังกล่าวมีความเข้มข้นของเกลือที่ค่อนข้างสูงถึง 5-10 กรัมต่อลิตร ซึ่งจุลินทรีย์ที่จะนำไปใช้ในกระบวนการบำบัดดังกล่าวควรจะต้องดำรงชีวิตและทำงานได้ในสภาวะที่มีความเค็ม ซึ่งยีสต์ที่คัดแยกได้มีคุณสมบัติดังกล่าวที่เหมาะสมในการนำไปใช้ได้ดี นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดสีในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ ยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่คัดแยกได้ในงานวิจัยนี้สามารถทนต่อความเข้มข้นของเกลือที่สูงกว่าและสามารถกำจัดสีที่มีความเข้มข้นที่สูงกว่าได้ดีกว่างานวิจัยที่ได้มีการรายงานมาก่อนหน้านี้ โดยจากการศึกษาของ Qu *et al.* (2012) ยีสต์ *Pichia* sp. กำจัดสี Acid Red B ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 2-10 กรัมต่อลิตร พบว่ายีสต์ *Pichia* sp. สามารถกำจัดสีได้ 81-89% ภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมง และเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์เพิ่มสูงขึ้นเป็น 15 กรัมต่อลิตร *Pichia* sp. สามารถกำจัดสีได้เพียง 68% ที่เวลา 12 ชั่วโมง และจากการศึกษาของ Tan *et al.* (2016) ได้คัดแยกยีสต์ทนเค็มสูงและศึกษาการกำจัดสี Acid Scarlet 3R (20 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในสภาวะความเข้มข้นเกลือสูง (30 กรัมต่อลิตร) พบว่ายีสต์ *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1 ที่คัดแยกได้สามารถกำจัดสี Acid Scarlet 3R ได้ 96% ที่เวลา 12 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่ายีสต์ที่คัดแยกได้ ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีในสภาวะเกลือที่สูง (50 มิลลิกรัมต่อลิตร) และประสิทธิภาพในการกำจัดสีที่สูง (มากกว่า 97% ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง) เมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Qu *et al.* (2012) และ Tan *et al.* (2016)



รูปที่ 4.7 ผลของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

4.3.5 ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการกำจัดสีของ Acid Red 73

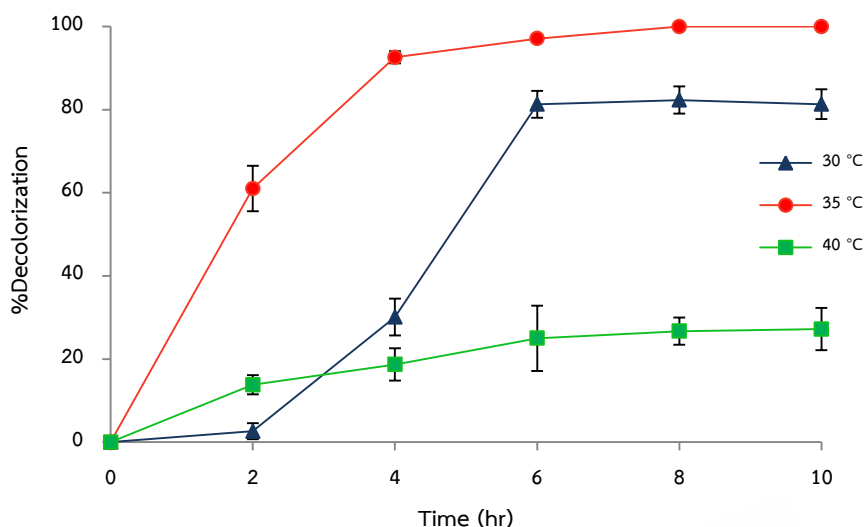
จากการศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ที่มีค่าพีเอชต่าง ๆ (4-9) ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ดังแสดงในรูปที่ 4.8 จากรูปดังกล่าวพบว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้ในสภาวะที่มีค่าพีเอชในช่วงที่กว้างคือที่พีเอช 4-8 ยีสต์สามารถกำจัดสีได้ถึง 93-97% ที่เวลา 6 ชั่วโมง และกำจัดได้มากกว่า 97% ที่ระยะเวลา 10 ชั่วโมง แต่เมื่อพีเอชสูงถึง 9 ยีสต์สามารถกำจัดสีได้ 91% ภายใน 10 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับการศึกษาของ Tan *et al.* (2013) ใช้ความเข้มข้นของสี Acid Brilliant Scarlet GR เริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ายีสต์ *Candida tropicalis* TL-F1 สามารถกำจัดสีได้ 98% ภายใน 24 ชั่วโมง ที่พีเอช 4-6 จะเห็นได้ว่ายีสต์ *C. tropicalis* TL-F1 สามารถกำจัดสีได้ดีในช่วงของพีเอช 4-6 เท่านั้น และระยะเวลาในการกำจัดยาวนานถึง 24 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่คัดแยกได้ในงานวิจัยนี้สามารถกำจัดสีได้มากถึง 97% ภายใน 10 ชั่วโมง ที่พีเอช 4-8 และสามารถกำจัดสีได้ 90% เมื่อพีเอชเท่ากับ 9 ดังนั้นจากผลการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่า ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสี ดำรงชีวิตและทำงานหรือทนต่อความเป็นกรดต่างในช่วงกว้าง ซึ่งในน้ำเสียโดยทั่วไปจะมีค่าพีเอชที่หลากหลาย ดังนั้นจึงเป็นข้อได้เปรียบในการนำยีสต์สายพันธุ์นี้ไปใช้จริงในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม



รูปที่ 4.8 ผลของพีเอชต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

4.3.6 อุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อต่อการบำบัดสีย้อม Acid Red 73

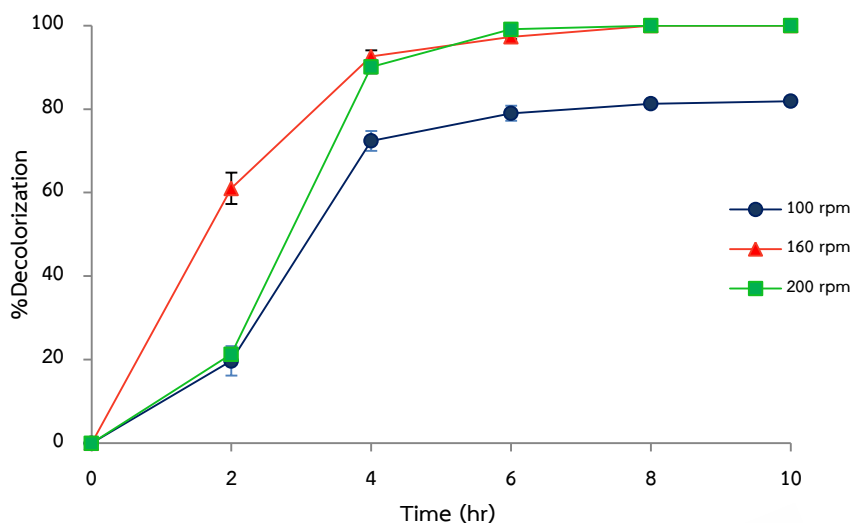
จากการศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.9 จะเห็นว่าอุณหภูมิที่มีผลให้ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้ดีที่สุด คือ 35 องศาเซลเซียส โดยยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้ 100% ภายในเวลา 6 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส ยีสต์สามารถกำจัดสีได้ 82 และ 27% ภายในระยะเวลา 10 ชั่วโมง จากผลดังกล่าวเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ *P. kudriavzevii* จึงทำให้ยีสต์สามารถกำจัดสีได้น้อยที่อุณหภูมิดังกล่าว ขณะที่ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ยีสต์สามารถกำจัดสีได้ดีที่สุด นั่นแสดงว่าที่อุณหภูมิดังกล่าวเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตหรือการทำงานของยีสต์สายพันธุ์นี้ ซึ่งจากการศึกษาของ Tan *et al.* (2013) พบว่า ยีสต์ *Candida tropicalis* TL-F1 สามารถกำจัดสีได้ 95% ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส และจากการศึกษาของ Song *et al.* (2017) พบว่ายีสต์ *Pichia occidentalis* G1 สามารถกำจัดสี Acid Red B ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ได้ 90% ภายใน ระยะเวลา 12 ชั่วโมง จากผลดังกล่าวจะเห็นได้ว่ายีสต์แต่ละสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตและทำงานได้ดีที่อุณหภูมิแตกต่างกัน สำหรับผลงานวิจัยนี้สามารถสรุปได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตและทำงานของยีสต์ *P. kudriavzevii* คืออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.9 ผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

4.3.7 ความเร็วรอบในการเขย่า

จากการศึกษาผลของความเร็วรอบในการเขย่าต่อความสามารถในการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* จะเห็นได้ว่าที่ความเร็วในการเขย่า 160-200 รอบต่อนาที ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้มากกว่า 97% ภายใน 6 ชั่วโมง แต่ที่ความเร็วรอบในการเขย่าต่ำ ๆ คือ 100 รอบต่อนาที พบว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้เพียง 82% ภายใน 10 ชั่วโมง นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าภายในเวลา 2 ชั่วโมง ที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที และยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้ 62% ขณะที่ความเร็ว 100 และ 200 รอบต่อนาที ยีสต์สามารถกำจัดสีได้เพียง 20% ดังแสดงในรูปที่ 4.9 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Tan *et al.* (2013) โดยใช้ความเข้มข้นของสี Acid Brilliant Scarlet GR เริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ายีสต์ *Candida tropicalis* TL-F1 สามารถกำจัดสี 98% ภายใน 24 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบ 160-200 รอบต่อนาที และเมื่อความเร็วรอบในการเขย่าน้อยลง ทำให้การกำจัดสีน้อยลงไปด้วย โดยที่ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบต่อนาที ยีสต์ *C. tropicalis* TL-F1 สามารถกำจัดสีได้เพียง 57% ภายใน 24 ชั่วโมง จากผลการศึกษาและบทความที่กล่าวมาข้างต้นเห็นได้ว่า ยีสต์แต่ละสายพันธุ์ต้องการปริมาณของออกซิเจนไม่เท่ากัน จึงส่งผลต่อความเร็วรอบในการเขย่าในการเลี้ยงเชื้อแตกต่างกันไปด้วย และจากผลที่ได้ในขั้นตอนการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่า ความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *P. kudriavzevii* คือ 160 รอบต่อนาที

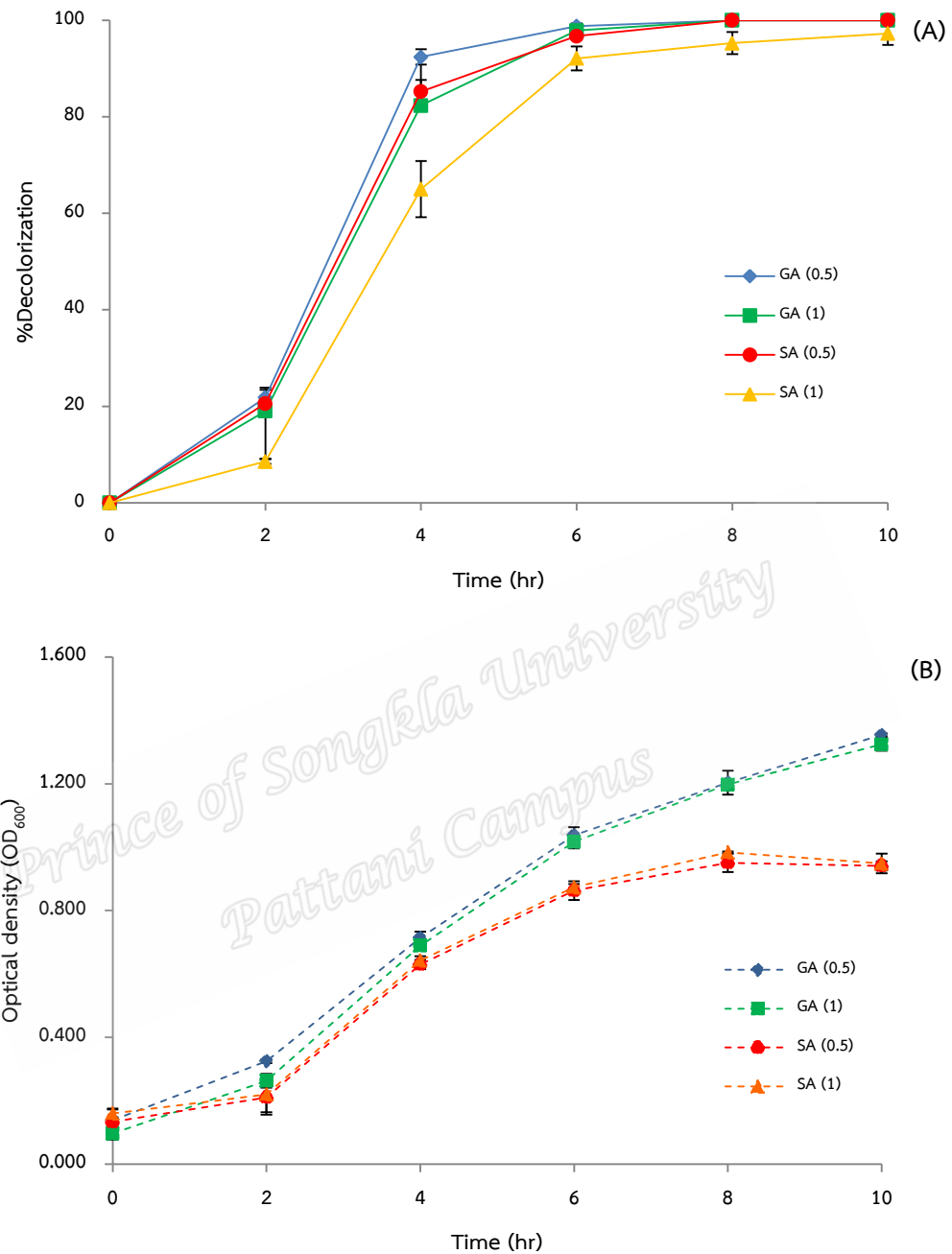


รูปที่ 4.10 ผลของความเร็วย้อนในการเขย่าต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

4.3.8 ประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

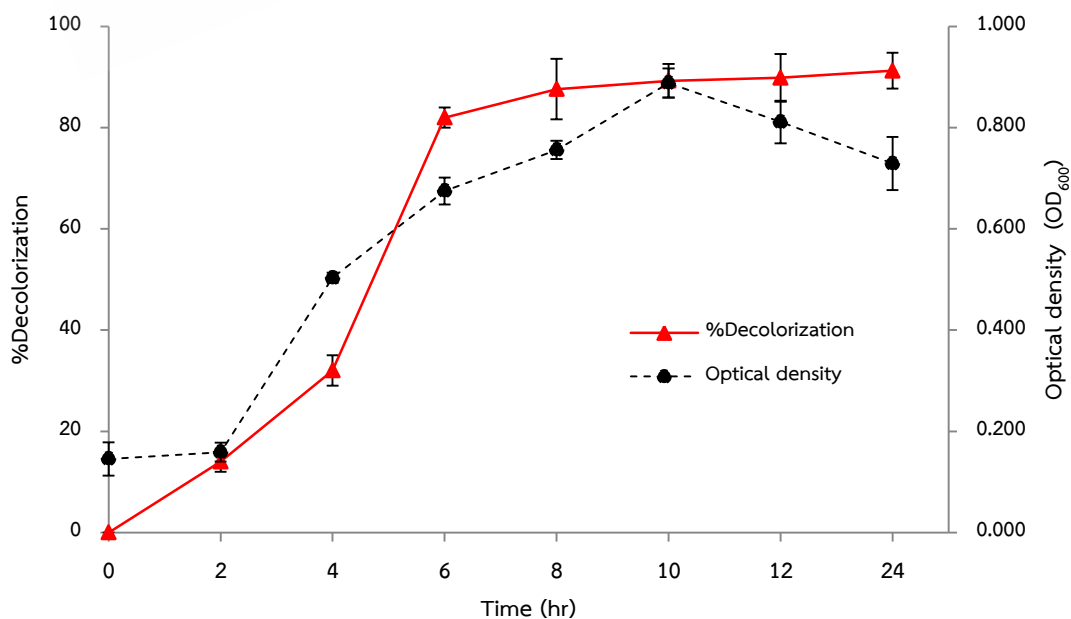
จากผลพารามิเตอร์ที่ดีที่สุด จะเห็นได้ว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้ 100% ภายใน 10 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีกลูโคส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร กลูโคส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร และซูโครส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในรูปที่ 4.11(A) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้เลือกสภาวะที่จะใช้ในระบบต่อเนื่อง (Continuous system) คือ ซูโครส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร และจากรูปที่ 4.11(B) การเจริญเติบโตของยีสต์ *P. kudriavzevii* ในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 โดยจะเห็นได้ว่าการเจริญเติบโตในสภาวะที่มีกลูโคส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร ยีสต์ *P. kudriavzevii* เจริญเติบโตได้ดีกว่าในสภาวะที่มีซูโครส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร แต่จะเห็นได้ว่าในสภาวะที่มีซูโครส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร เปรี่เซนต์การกำจัดสีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) เมื่อเทียบกับในสภาวะที่มีกลูโคส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร และกลูโคส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเลือกสภาวะที่มีซูโครส 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร ในการศึกษาในระบบต่อเนื่อง (Continuous system) ต่อไป



รูปที่ 4.11 ประสิทธิภาพในการกำจัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* โดย (A) เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีของ Acid Red 73 (B) การเจริญเติบโตของยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่ความเข้มข้นของสีย้อม Acid Red 73 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาวะอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และความเร็วรอบในการเขย่า 160 รอบต่อนาที โดยที่ GA (0.5): Glucose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 0.5 g/L, GA (1): Glucose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 1 g/L, SA (0.5): Sucrose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 0.5 g/L และ SA (1): Sucrose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 1 g/L

4.3.9 ผลการกำจัดสีของอะซิโด้เรดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ในสถานะที่ไม่มีอาหาร

จากการศึกษาการกำจัดสีของอะซิโด้เรด Acid Red 73 ในสถานะที่ไม่มีแหล่งอาหาร (ไม่มีแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจนและสารประกอบอื่น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin) พบว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีของอะซิโด้เรด Acid Red 73 ได้ 89, 91% ภายใน 10 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.12 และจะเห็นได้ว่าแม้ไม่มีแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจนและแร่ธาตุอาหาร แต่ยีสต์ *P. kudriavzevii* ยังสามารถกำจัดสีของอะซิโด้เรด Acid Red 73 และเจริญเติบโตได้ แสดงว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* ใช้แหล่งคาร์บอนที่ได้จากการย่อยสลายโมเลกุลของสีของอะซิโด้เรด จากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Qu *et al.* (2012) พบว่ายีสต์สามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่ได้จากการย่อยสลายของโมเลกุลของสีของอะซิโด้เรด แต่การใช้แหล่งคาร์บอนกระบวนการย่อยสลายนั้นจำเป็นต้องใช้เวลา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการเจริญเติบโตของยีสต์ในช่วงเวลา 2 ชั่วโมง ยีสต์เจริญเติบโตได้น้อย แต่เมื่อเวลาผ่านไป 4-10 ชั่วโมง การเจริญเติบโตของยีสต์เพิ่มสูงขึ้นพร้อมกับการกำจัดสีไปด้วย และเมื่อระยะเวลาการบ่มเพาะยาวนานถึง 12-24 ชั่วโมง จะเห็นได้ว่าการกำจัดสีของอะซิโด้เรดที่แต่การเจริญเติบโตของยีสต์ลดลง เนื่องจากโมเลกุลของสีของอะซิโด้เรดเกิดการย่อยสลายไปเป็นสารที่ยีสต์สามารถใช้ในการเจริญเติบโตได้หมด ไม่มีโมเลกุลที่ยีสต์ที่เปลี่ยนเป็นสารที่นำไปใช้ได้อีก จึงส่งผลทำให้การเจริญเติบโตของยีสต์ลดลง ดังนั้นจากการศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าแม้ไม่มีแหล่งอาหารในระบบยีสต์สามารถกำจัดสีและเจริญเติบโตได้ โดยยีสต์จะได้รับแหล่งอาหารจากกระบวนการย่อยสลายของโมเลกุลของสีของอะซิโด้เรด (Qu *et al.*, 2012) ซึ่งในการย่อยโมเลกุลของสีของอะซิโด้เรดเกิดจากยีสต์มีการผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยโมเลกุลของสีของอะซิโด้เรดและการเกิดกลไกต่าง ๆ ที่ยีสต์สามารถย่อยสลายโมเลกุลของสีของอะซิโด้เรดให้ได้สารที่นำไปใช้ในการสร้างเป็นแหล่งอาหารและพลังงานให้แก่เซลล์ (Tan *et al.*, 2013; Qu *et al.*, 2012)

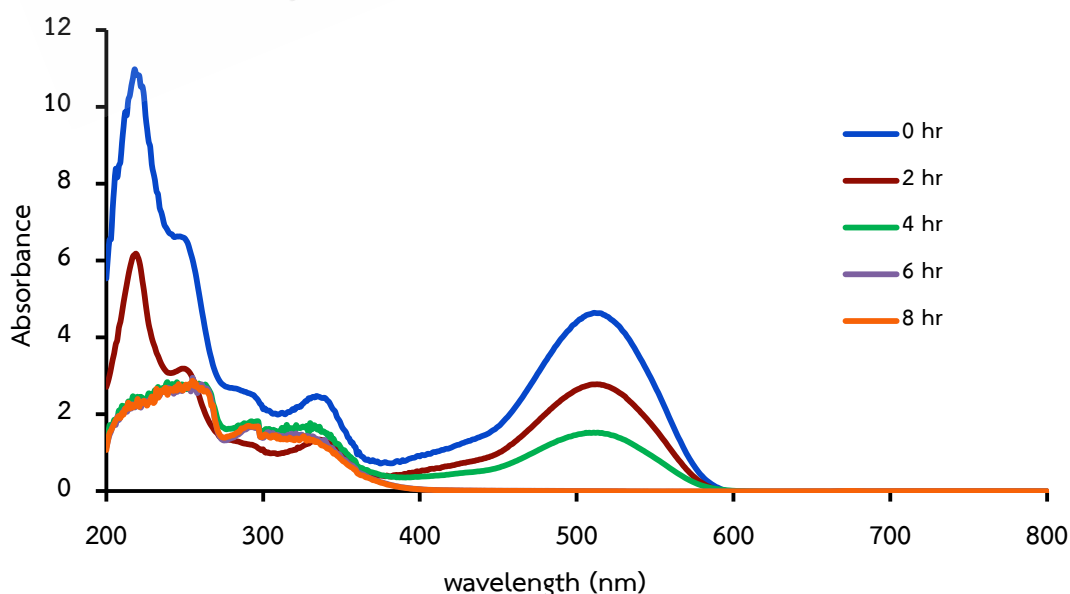


รูปที่ 4.12 ผลการกำจัดสี Acid Red 73 ในสถานะที่ไม่มีอาหาร ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

4.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

4.4.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมของสีย้อม Acid Red 73 ด้วยเทคนิค UV-Visible spectrophotometry

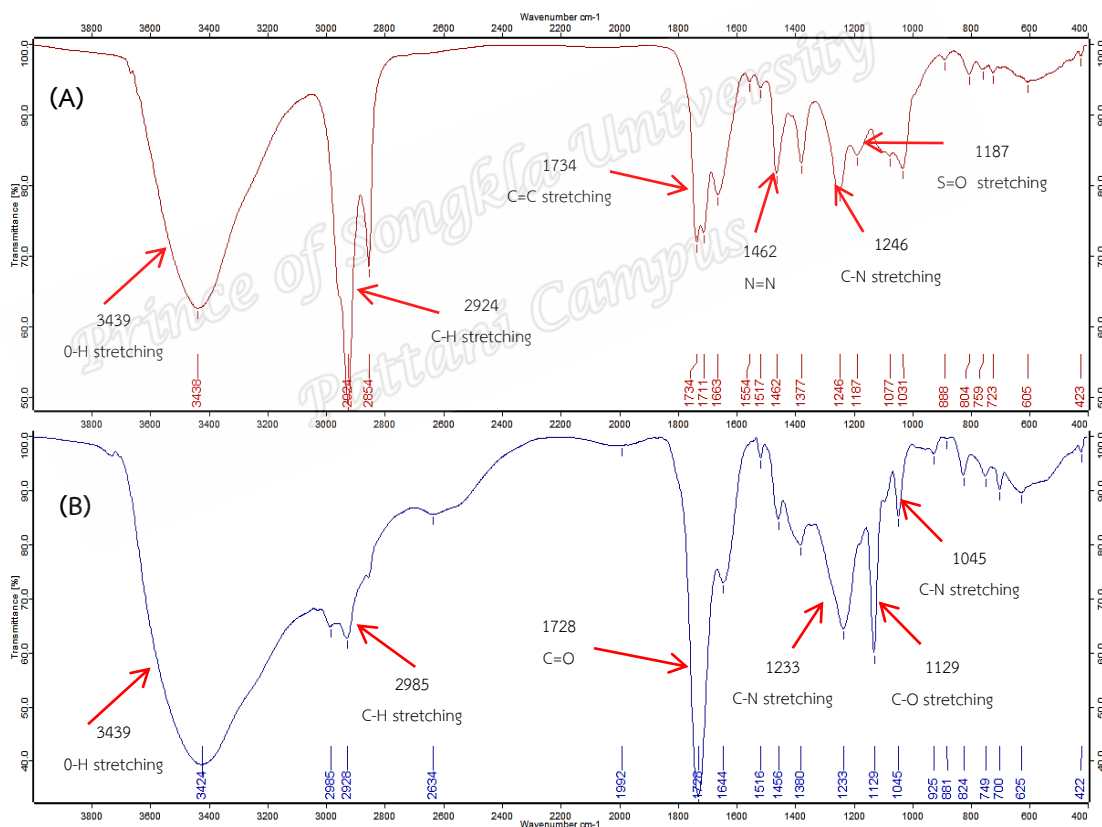
จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* โดยนำสารละลายสีย้อมก่อนบำบัดและสารละลายส่วนใสหลังการบำบัดที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง มาสแกนค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 200-800 นาโนเมตร พบว่าสารละลายสีย้อม Acid Red 73 มีการดูดแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 509 นาโนเมตร ขณะที่สารละลายส่วนใสมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นดังกล่าวลดลงเรื่อยๆ เมื่อเวลาในการบำบัดเพิ่มขึ้น จนกระทั่งที่เวลา 8 ชั่วโมง ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับศูนย์ ดังแสดงในรูปที่ 4.13 เมื่อเวลาในการบำบัดเพิ่มขึ้นค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ลดน้อยลง เนื่องจากบริเวณโครโมฟอร์ (-N=N-) ในโครงสร้างของสีย้อมอะโซถูกย่อยสลายโดยยีสต์ *P. kudriavzevii* จึงทำให้การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 509 นาโนเมตร ลดลงไปด้วย นอกจากนี้ที่ความยาวคลื่นดังกล่าวลดลงจนหายไปแล้ว ลักษณะของสเปกตรัมบริเวณช่วง Ultraviolet (UV) 200-380 นาโนเมตร สีย้อมหลังการบำบัดมีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของ สเปกตรัมเกิดขึ้นเมื่อเทียบกับสีก่อนบำบัด (0 ชั่วโมง) แสดงให้เห็นว่า สีย้อม Acid Red 73 ถูกย่อยสลายและกลายเป็นสารเมตาบอไลต์ตัวอื่น ๆ อย่างไรก็ตามด้วยวิธีการศึกษานี้ไม่สามารถบอกได้ว่าสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นเป็นสารชนิดใด จึงควรมีการศึกษาต่อไปด้วยวิธีการอื่น คือ FTIR และ GC-MS ซึ่งได้ผลดังแสดงในหัวข้อที่ 4.4.2 และ 4.4.3



รูปที่ 4.13 รูปแบบการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมก่อนและหลังการบำบัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

4.4.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสเปกตรัมของสีย้อม Acid Red 73 ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ด้วยเทคนิค FTIR ดังแสดงในรูปที่ 4.14 จาก IR spectrum สามารถบ่งบอกถึงหมู่ฟังก์ชันสำคัญที่มีในโครงสร้างของสีย้อมก่อนการบำบัดและที่เปลี่ยนแปลงไปหรือเกิดขึ้นหลังการบำบัด พบว่าสีย้อม Acid Red 73 ก่อนการบำบัด มีการปรากฏสเปกตรัมของหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญคือ ที่เลขคลื่น 3439 cm^{-1} คือ O-H stretching ที่เลขคลื่น 2924 cm^{-1} คือ C-H stretching ของวงอะโรมาติก ที่เลขคลื่น 1734 cm^{-1} คือ C=C stretching ที่เลขคลื่น 1462 cm^{-1} คือ N=N ของสารประกอบอะโซที่เลขคลื่น 1246 cm^{-1} คือ C-N stretching และที่เลขคลื่น 1187 cm^{-1} คือ S=O ของหมู่ซัลฟอนิก ดังแสดงในรูปที่ 4.14(A)



รูปที่ 4.14 IR spectra ของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัด โดยที่ (A) สีย้อม Acid Red 73 ก่อนการบำบัด (B) สีย้อม Acid Red 73 หลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

จาก IR Spectrum หลังจากการบำบัดสีด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างของโมเลกุลสีย้อม Acid Red 73 เกิดขึ้นเกิดเป็นสารอื่น ๆ เนื่องจากเกิด

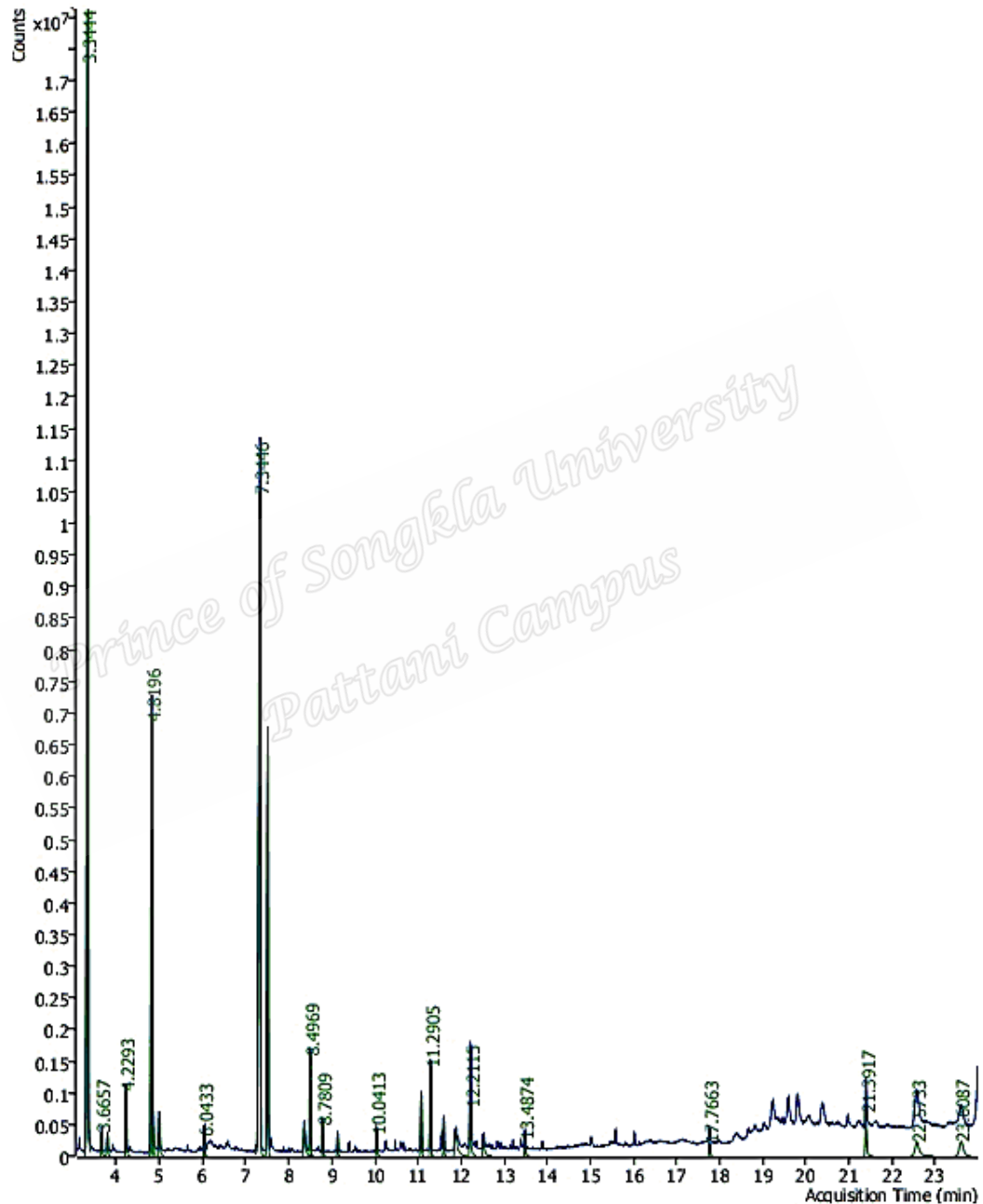
การทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการย่อยสลายสีย้อม ได้แก่ Azoreductase ซึ่งมีหน้าที่ทำลายหมู่อะโซและจากการเกิดปฏิกิริยารีดักชัน จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ซึ่งสามารถทำนายได้ว่า โครงสร้างของวงเบนซีนมีการเปลี่ยนแปลงไป โดยพบว่า ที่เลขคลื่น 3424 cm^{-1} คือ O-H stretching ของโครงสร้างที่เกิดการเปลี่ยนแปลง ที่เลขคลื่น 2928 cm^{-1} คือ C-H stretching ของการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณสเปกตรัมลดลง ซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของวงอะโรมาติกในโครงสร้างที่เกิดการเปลี่ยนแปลง ที่เลขคลื่น 1728 cm^{-1} คือ C=O เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างที่มีการเติมออกซิเจนจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน รีดักชัน ที่เลขคลื่น 1233 cm^{-1} คือ C-N Stretching ของคาร์บอนในวงอะโรมาติกที่จับกับไนโตรเจน ที่เลขคลื่น 1129 cm^{-1} คือ C-O และ ที่เลขคลื่น 1054 cm^{-1} คือ C-N Stretching ของคาร์บอนที่จับกับหมู่เอมีน (-NH_2) ดังแสดงในรูปที่ 4.14(B)

4.4.3 ศึกษาชนิดของสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นในการย่อยสลายสีย้อม Acid Red 73 ด้วยเครื่อง Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS) และการทำนายวิถีที่เป็นไปได้ในการย่อยสลายทางชีวภาพของสีย้อม Acid Red 73

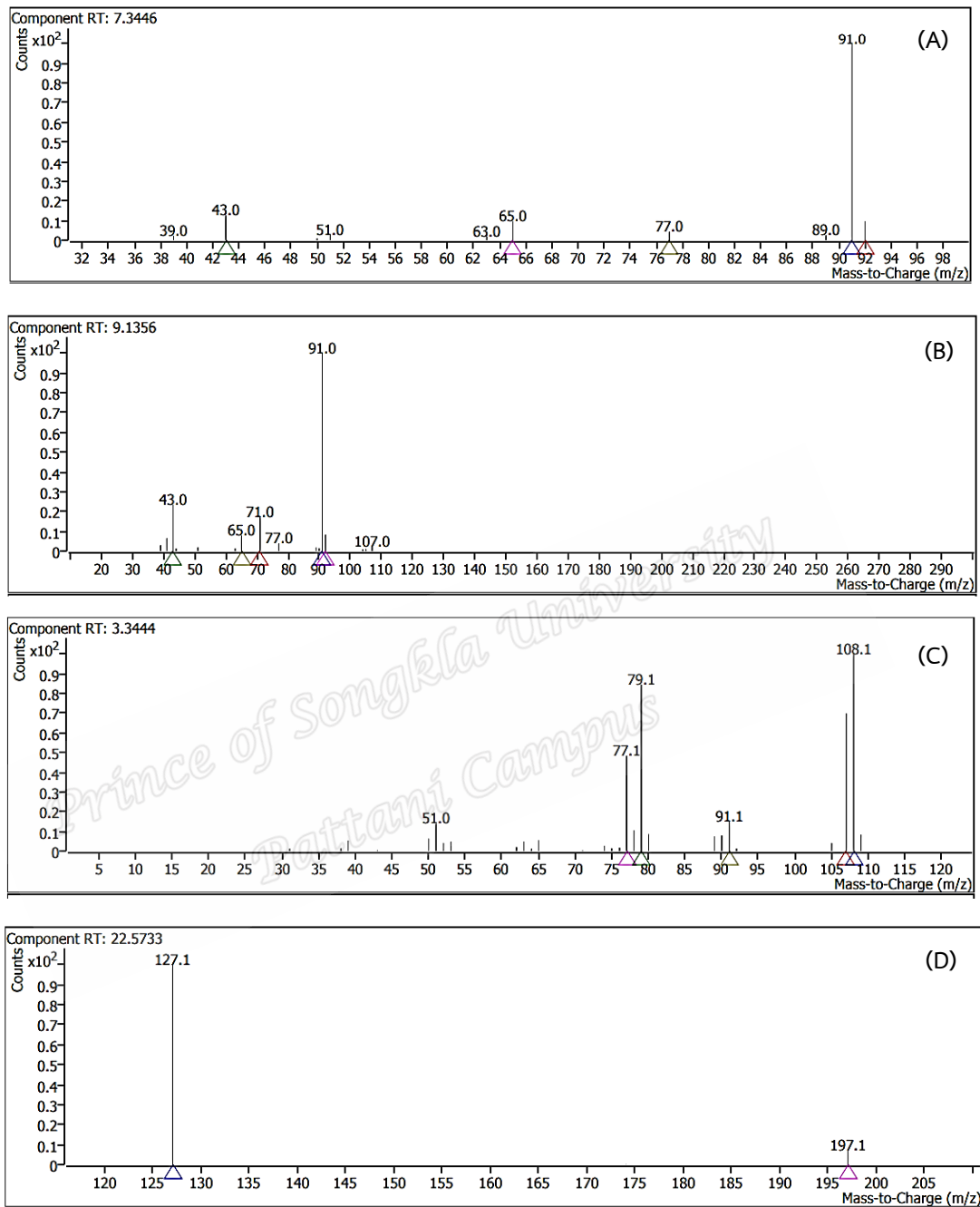
จากผลการวิเคราะห์สีย้อม Acid Red 73 ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และที่ความเร็วรอบในการเขย่า 160 รอบต่อนาที ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ด้วย GC-MS พบสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นหลังจากการบำบัดและย่อยสลายสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และรูปแบบของสเปกตรัมที่เกิดขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 4.16 จากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS จะแสดงกระบวนการย่อยสลายด้วยกระบวนการอะโซรีดักเทส (Azo reductase) ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation reduction reaction) ดีอะมีเนชัน (Deamination) ดีซัลโฟเนชัน (Desulfonation) และการแตกของอะโรมาติก (Aromatic ring cleavage) (Chan *et al*, 2012) โดยกระบวนการดังกล่าวทำให้เกิดกระบวนการย่อยสลายโมเลกุลของสีย้อม Acid Red 73 ได้สารเมตาบอไลต์ โดยกระบวนการอะโซรีดักเทสเป็นกระบวนการแรกในการแตกโมเลกุลของสีย้อม Acid Red 73 เพื่อให้ได้เป็นอะโรมาติกเอมีน (Aromatic amine) นั่นคือ Aniline และ 1,4-amino benzene โดยกลไกการแตกของโมเลกุลดังแสดงในรูปที่ 4.16(A) และ 4.16(B) จากนั้นผ่านกระบวนการดีอะมีเนชัน ดีซัลโฟเนชันและการแตกของวงอะโรมาติก ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาและจากการศึกษาในครั้งนี้สามารถทำนายวิถีที่เป็นไปได้ในการย่อยสลายของสีย้อมอะโซด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* โดยกลไกที่เกิดขึ้นดังแสดงในรูปที่ 4.17 และ 4.18 ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.15 จะแสดงลักษณะของพีกที่เกิดขึ้นจากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS โดยสารที่เกิดขึ้นหลังจากย่อยสลายด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* จะเห็นได้ว่าที่ Retention time (RT) เท่ากับ 3.3444 คือ Catechol :ซึ่งลักษณะของพีกที่สูง แสดงว่าในระบบมีปริมาณของโมเลกุลของสีย้อมที่

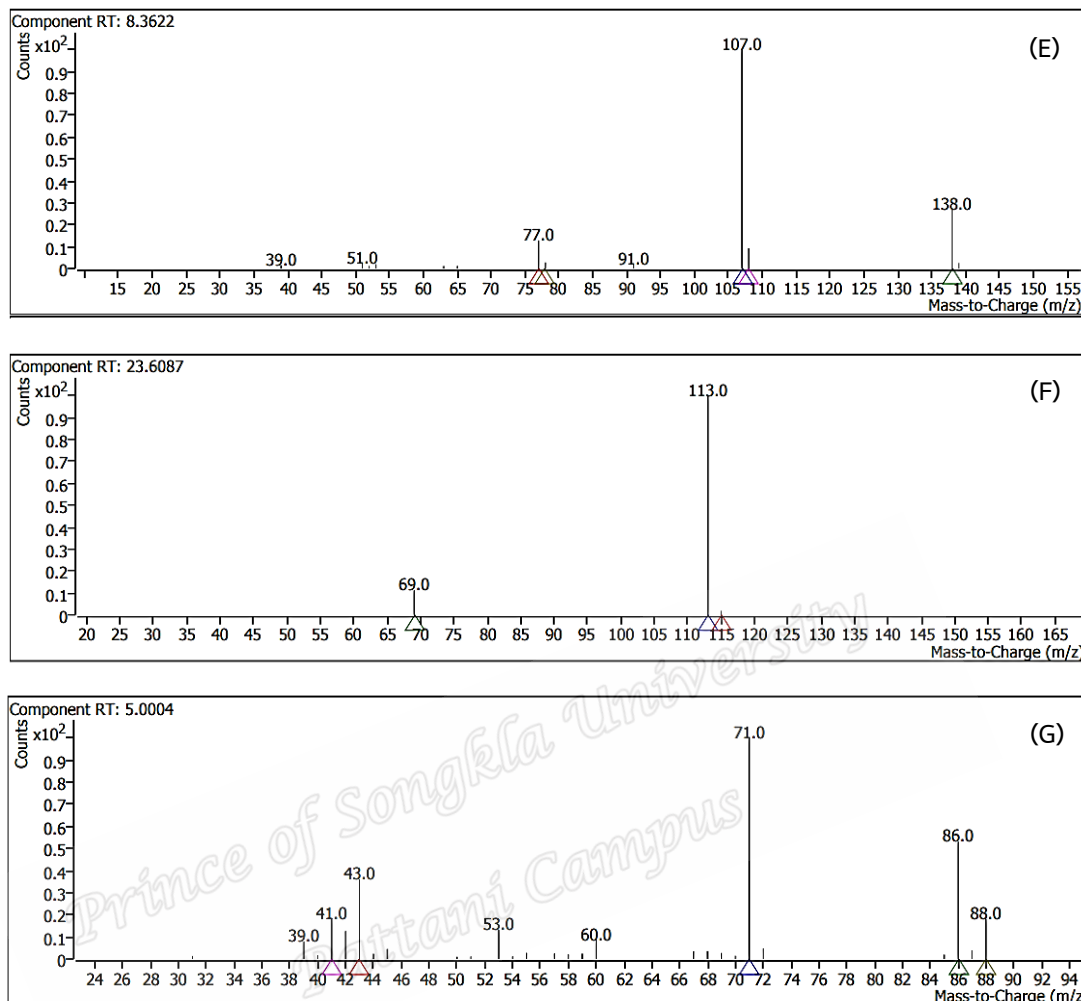
เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็น Catechol ได้มาก และที่ RT เท่ากับ 7.3446 คือ Aniline ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากการย่อยโมเลกุลสี้อมชั้นแรก ได้เป็น Aniline ซึ่งเป็นสารพวกสารอะโรมาติกเอมีน และยังมีฟีกของสารอื่น ๆ ที่เกิดขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 4.15 และในตารางที่ 4.5



รูปที่ 4.15 ลักษณะของฟีก (Peak) ที่วิเคราะห์ด้วย Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS) ของสี้อม Acid Red 73 หลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*



รูปที่ 4.16 สเปกตรัมที่แสดงน้ำหนักของสารและการแตกของโมเลกุลของสารเมตาบอลิต์หลังจากกระบวนการย่อยสลายของสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* โดย (A) Aniline (B) 1,4-aminobenzene (C) Catechol และ (D) 3,7-dihydroxy-octahydro-naphthalene-2,6-dione ที่วิเคราะห์ด้วย Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS)



รูปที่ 4.16 (ต่อ) สเปกตรัมที่แสดงน้ำหนักของสารและการแตกของโมเลกุลของสารเมตาบอไลต์ หลังจากกระบวนการย่อยสลายของสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* โดย (E) 2-hydroxy-6-oxohexa-2,4-dienoate (F) 2-oxopent-4-enoate และ (G) Pyruvate ที่วิเคราะห์ด้วย Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS)

หลังจากการย่อยสลายสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้นเมื่อวิเคราะห์ด้วย GC-MS คือ aniline ที่ m/z เท่ากับ $[M-2H]^+$ 1,4-diaminobenzene ที่ m/z เท่ากับ $[M-H]^+$ ซึ่งเป็นสารประกอบอะโรมาติกเอมีน และ 1-aminonaphthylene-2-hydroxy-3,6-disulfonic acid ซึ่งเป็นสารประกอบอะโรมาติกเอมีนเหมือนกันแต่การวิเคราะห์ในงานวิจัยนี้ตรวจไม่พบสารนี้ สารเมตาบอไลต์ที่ตรวจพบหลังจากการย่อยสลายของสารอะโรมาติกเอมีนคือ 2-hydroxy-6-oxohexa-2,4-dienoate ที่ m/z เท่ากับ $[M-3H]^+$ 3,7-dihydroxy-octahydro-naphthalene-2,6-dione ที่ m/z เท่ากับ $[M+H]^+$ และ Catechol ที่ m/z เท่ากับ $[M+2H]^+$ ซึ่งสารที่ได้จากการย่อยสลายสารพวกอะโรมาติกเอมีน เป็นสารประกอบฟีนอลิก โดยสารประกอบฟีนอลิกถือเป็นสารตั้งต้นที่จะเกิดการเปลี่ยนเป็นอะซีติลโค

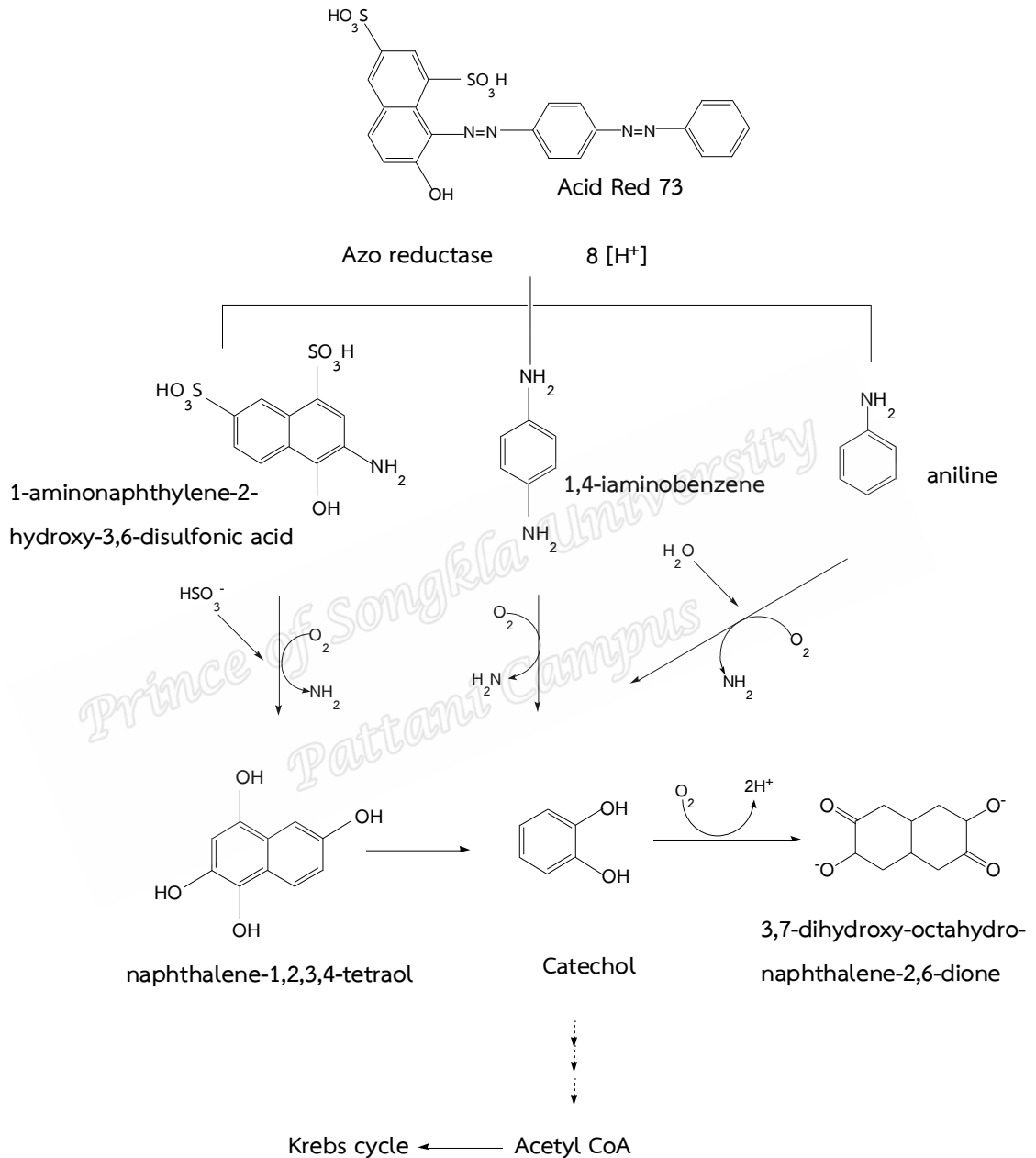
เอนไซม์ เอ โดยสารที่ตรวจพบในการเปลี่ยนเป็นอะซีติลโคเอนไซม์ เอ คือ Pyruvate ที่ m/z เท่ากับ $[M+H^+]$ และ 2-oxopent-4-enoate ที่ m/z เท่ากับ $[M^+]$ ดังแสดงดังตารางที่ 4.5 และการแตกตัวของสารแต่ละตัวที่เกิดขึ้นหลังจากการย่อยสลายสีย้อม Acid Red 73 ดังแสดงในรูปที่ 4.16(A) และ 4.16(B)

ตารางที่ 4.5 สารเมตาบอไลต์ที่พบเมื่อวิเคราะห์ด้วย Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS) หลังจากการย่อยสลายสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ภายใต้สภาวะที่ใช้ออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

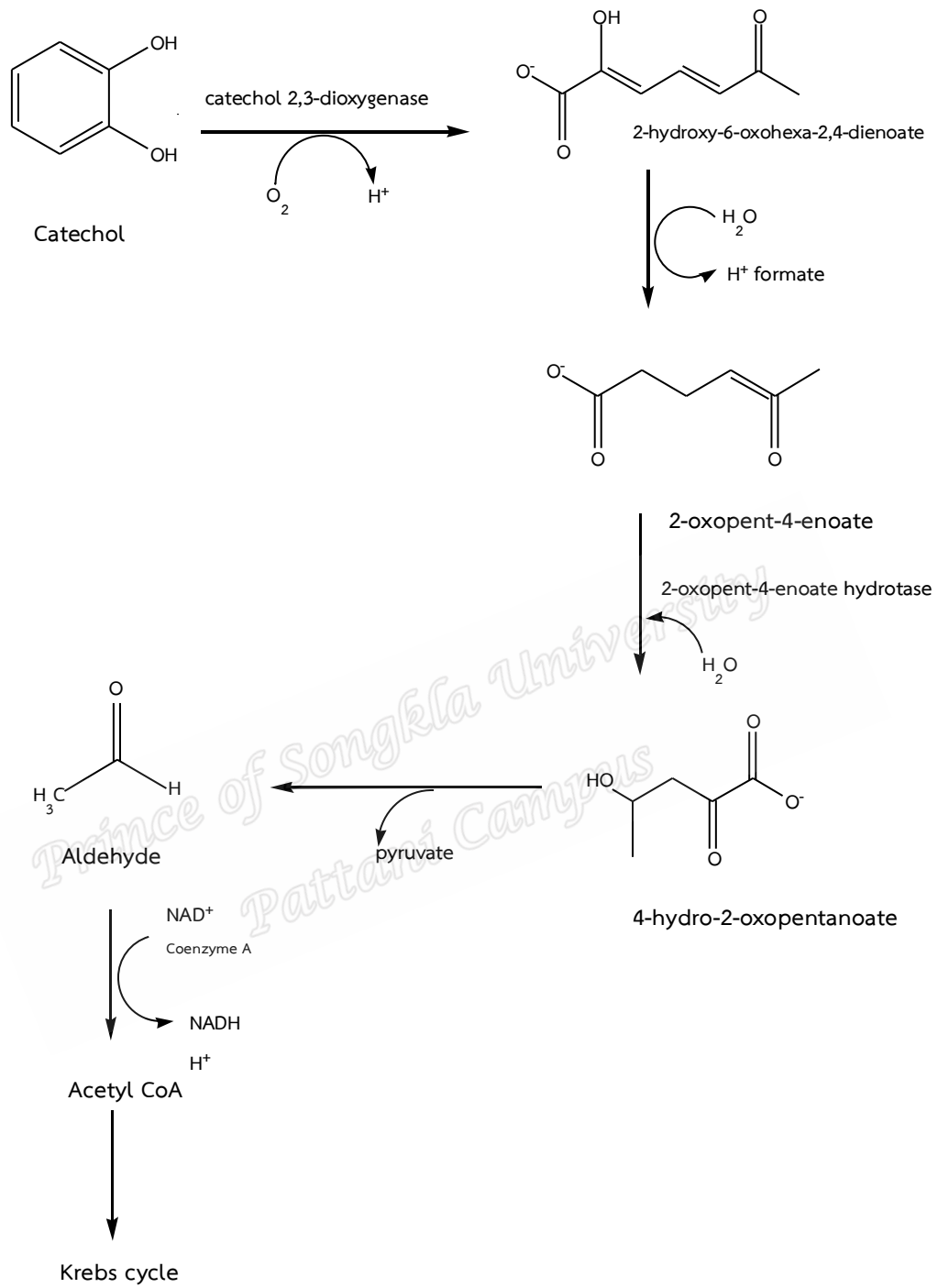
Compounds	Retention time	Molar mass (g/mol)		m/z
Catechol	3.3444	110	108.1	$[M-2H^+]$
Pyruvate	5.0004	87	88	$[M+H^+]$
Aniline	7.3446	93	91	$[M+2H^+]$
2-hydroxy-6-oxohexa-2,4-dienoate	8.3266	141	138	$[M-3H^+]$
1,4-diaminobenzene	9.1356	108	107	$[M-H^+]$
3,7-dihydroxy-octahydro-naphthalene-2,6-dione	22.5733	196	197	$[M+H^+]$
2-oxopent-4-enoate	23.6087	113	113	$[M^+]$

หลังจากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS สามารถทำนายวิถีที่เป็นไปได้ในการย่อยสลายของสีย้อม Acid Red 73 หลังการบำบัด โดยเริ่มต้นสีย้อม Acid Red 73 จะถูกเอนไซม์อะโซรีดักเทสที่ยีสต์ *P. kudriavzevii* ผลิตขึ้นมาภายในเซลล์และปล่อยออกมาข้างนอกเซลล์ (Singh *et al.*, 2015) ส่งผลทำให้โมเลกุลของสีย้อม Acid Red 73 เกิดการย่อยบริเวณโครโมฟอร์ -N=N- ของสีย้อมอะโซได้สารอะโรมาติกเอมีนคือ Aniline และ 1,4-diaminobenzene หลังจากนั้นจึงเกิดกลไกอื่น ๆ คือ กระบวนการอะโซรีดักเทส (Azoreductase) ปฏิกริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation reduction reaction) ดีอะมีเนชัน (Deamination) ดีซัลโฟเนชัน (Desulfonation) และการแตกของอะโรมาติก (Aromatic ring cleavage) (Chan *et al.*, 2012) ทำให้ Aniline และ 1,4-diaminobenzene เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง โดยกลไกการเกิดและการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 4.17 โดย Catechol สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็นอะซีติลโคเอนไซม์ เอ ที่เป็น

สารตั้งต้นในวัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle) ได้ โดยการเปลี่ยนจาก Catechol เป็น Acetyl CoA ผ่าน เอนไซม์ต่าง ๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.18



รูปที่ 4.17 วิธีที่เป็นไปได้ของการย่อยสลายของสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่วิเคราะห์ด้วย Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS)

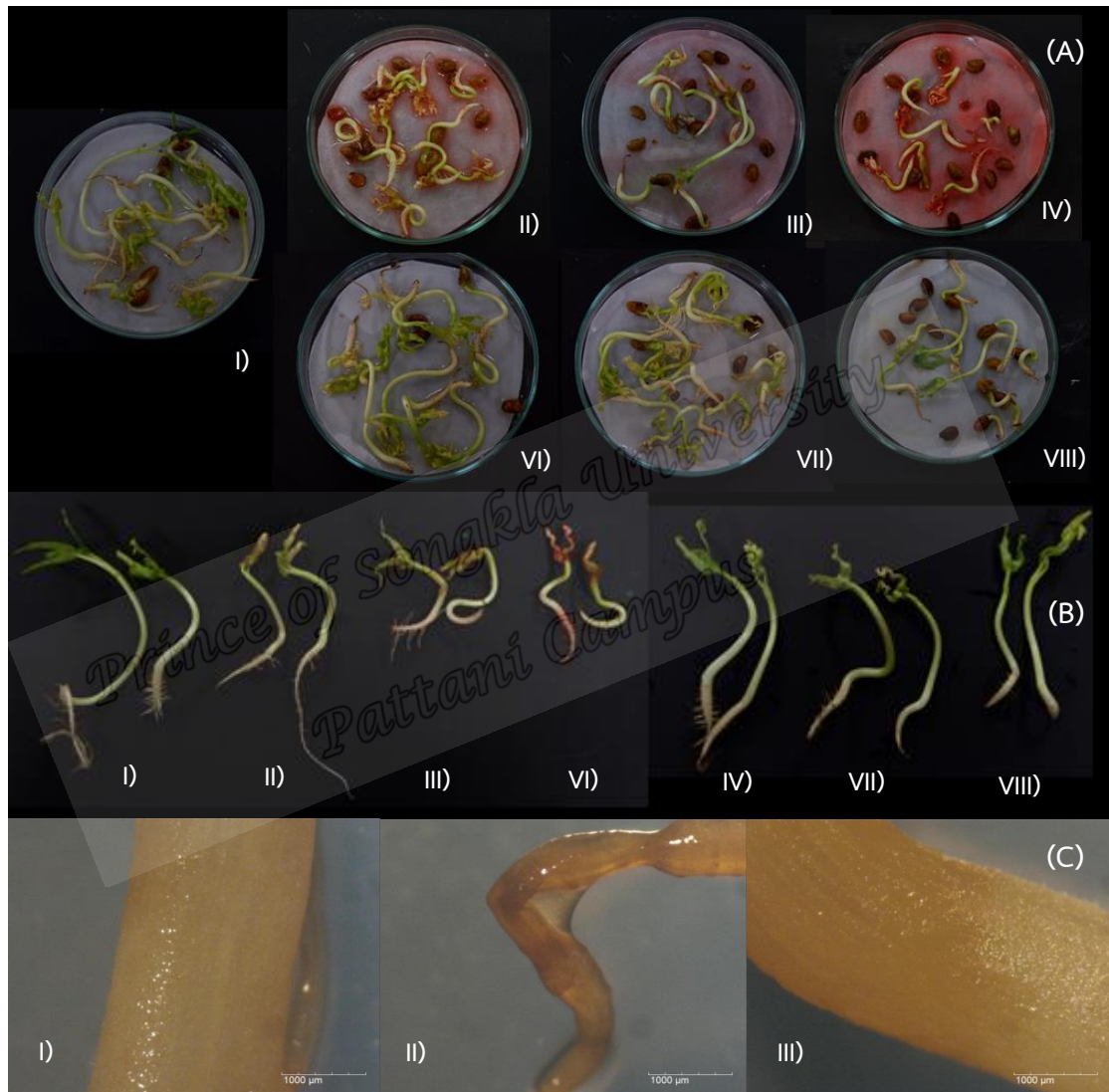


รูปที่ 4.18 กลไกการเปลี่ยน Catechol เป็น Acetyl CoA จากการย่อยสลายของสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

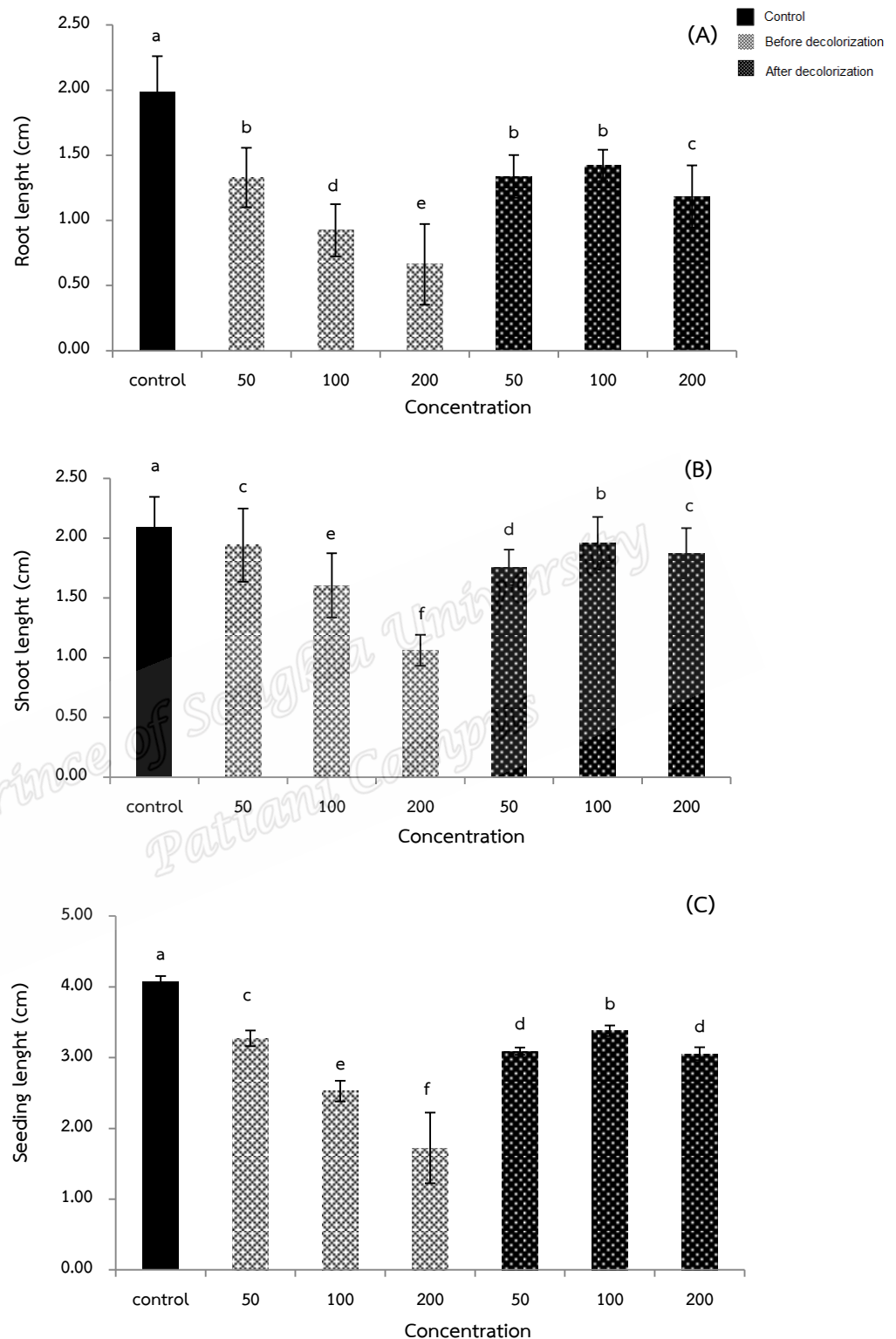
4.5 การศึกษาความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์

P. kudriavzevii

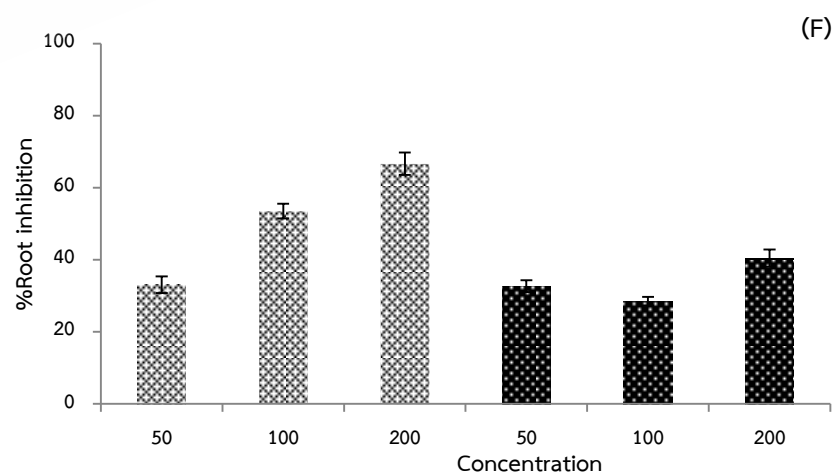
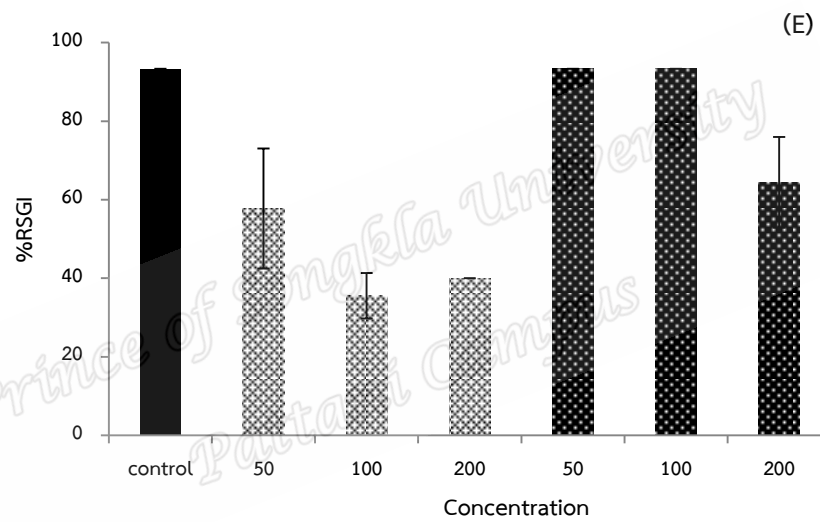
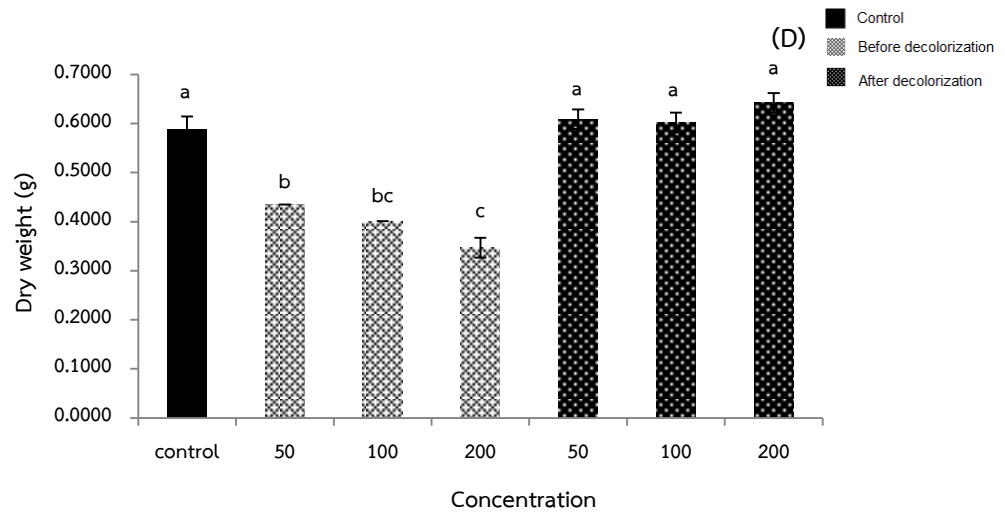
4.5.1 การศึกษาความเป็นพิษของสีย้อมก่อนและหลังการบำบัดที่มีผลต่อต้นผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*)



รูปที่ 4.19 การเจริญเติบโตของต้นผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*) (A) การเจริญเติบโตบนจานอาหารเพาะเชื้อ (B) ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้ง โดย (A-B) i) น้ำกลั่น ii) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร iii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร iv) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 ก่อนการบำบัด) vi) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร vii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร viii) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 หลังการบำบัด) (C) ลักษณะของรากที่ถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบถ่ายภาพได้ (100X) โดยที่ i) น้ำกลั่น ii) Acid Red 73 ก่อนการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) iii) Acid Red 73 หลังการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*



รูปที่ 4.20 ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*) โดยที่ (A) Root length (B) Shoot length และ (C) Seeding length



รูปที่ 4.21 ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*) โดยที่ (D) Dry weight (E) Relative seed germination index: (RSGI) (F) %Root inhibition

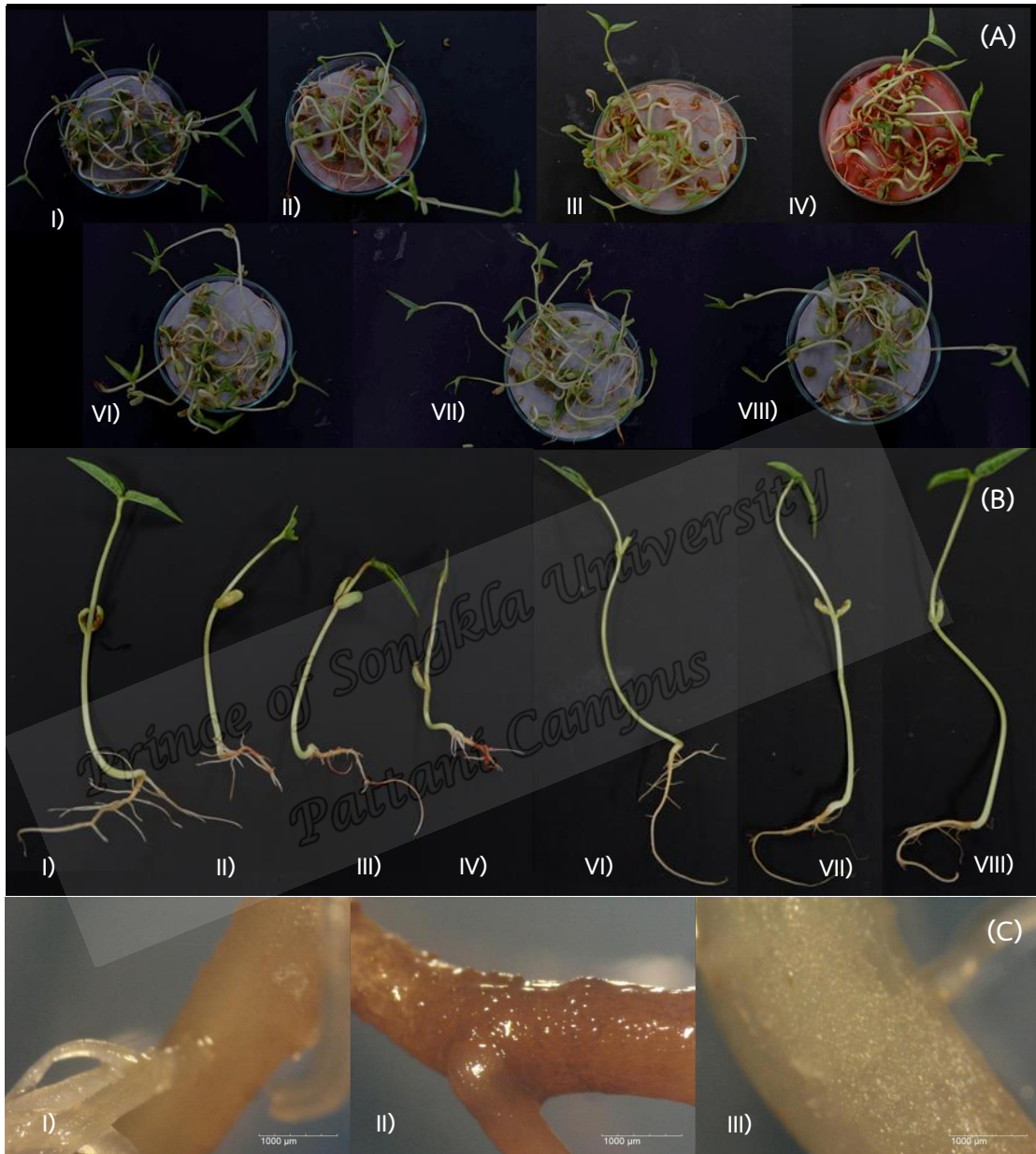
ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*) จะเห็นได้ว่าต้นพืชที่รดด้วยสารละลายสีย้อม Acid Red 73 หลังการบำบัด มีความยาวของรากและยอดที่ยาวมากกว่าต้นที่รดด้วยสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ก่อนการบำบัด เนื่องจากเมล็ดที่เริ่มงอกมีการดูดซับน้ำ เป็นผลทำให้ใบเลี้ยงพองบวมและเร่งการเกิดเมตาบอลิซึม (Metabolism) ของเอ็มบริโอ (Embryo) ทำให้เซลล์เกิดการแบ่งตัวและเพิ่มขนาดของเซลล์โดยการดูดน้ำเข้ามาภายในเซลล์ในพืช (ภาควิชาพืชศาสตร์, 2543) ดังนั้นจึงจะเห็นได้ว่าเมื่อต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ก่อนการบำบัดการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับสารละลายหลังการบำบัด ดังแสดงในรูปที่ 4.19(B) และจากการถ่ายภาพใต้น้ำกล้องจุลทรรศน์แบบถ่ายภาพได้ (100X) พบว่าบริเวณรากของต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนการบำบัด เกิดเนื้อเยื่อตาย (Necrosis) เฉพาะบริเวณราก ดังแสดงในรูปที่ 4.19(C) เนื่องจากเกิดจากการได้รับความเสียหายจากสีย้อม Acid Red 73 และความเป็นพิษของสีย้อมส่งผลทำให้รากเกิดเนื้อเยื่อตาย แต่บริเวณที่เกิดเนื้อเยื่อตายยังสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเพื่อซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ตายได้ (ภาควิชาพืชศาสตร์, 2543) จากการศึกษาความเป็นพิษของสารละลายก่อนและหลังการบำบัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* โดยทั้ง 3 ชุดการทดลอง คือ น้ำกลั่น (ชุดควบคุม) สีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัด ที่ความเข้มข้นของสารละลาย 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่าความยาวของรากของต้นพืชที่รดด้วยสารละลายหลังการบำบัดจะมีความยาวมากกว่าเมื่อเทียบกับต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนการบำบัด โดยต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนบำบัด (200 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีความยาวรากเท่ากับ 0.50 ± 0.31 เซนติเมตร ซึ่งมีความยาวรากน้อยกว่าเมื่อเทียบกับต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายหลังบำบัด (200 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยมีความยาวรากเท่ากับ 1.18 ± 0.24 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 4.20(A) จากการศึกษาความยาวยอดของต้นพืช พบว่าต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายหลังการบำบัดมีความยาวยอดมากกว่าเมื่อเทียบกับความยาวยอดของต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนการบำบัด เท่ากับ 1.96 ± 0.22 และ 1.60 ± 0.27 เซนติเมตร ที่ความเข้มข้นของสารละลาย 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อเทียบกับที่ความเข้มข้นของสารละลายสีย้อม 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายหลังบำบัด 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ความยาวยอดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าที่ความเข้มข้นของสีย้อมที่ความเข้มข้นน้อย ๆ (50 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีความเป็นพิษน้อยกว่าเมื่อเทียบกับความเข้มข้นของสีย้อมที่สูงถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และความยาวต้นนั้นจะสอดคล้องกับความยาวรากและความยาวยอด โดยต้นพืชที่มีความยาวรากและยอดที่สูง จะส่งผลทำให้มีต้นที่สูงไปด้วย โดยความยาวต้นดังแสดงในรูปที่ 4.20(C) ผลของน้ำหนักรากพบว่าต้นพืชที่ผ่านรดด้วยสารละลายหลังการบำบัด จะมีน้ำหนักที่มากกว่าเมื่อเทียบกับต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนการบำบัด และน้ำหนักแห้งของต้นพืชในชุดควบคุมกับสารละลายหลังการบำบัดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$)

เนื่องจากจากกระบวนการย่อยสลายของสีย้อม Acid Red 73 จะได้สารที่เป็นสารพวกฟีนอลิกและกรดอะลิฟาติก ซึ่งสารทั้งสองสามารถเป็นอะซิติลโคเอนไซม์ เอ ที่สามารถเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ ซึ่งสามารถสร้างพลังงานและแหล่งอาหารที่พืชสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ จึงส่งผลทำให้พืชที่รดด้วยสารละลายหลังการบำบัดจะเจริญเติบโตดีกว่าชุดควบคุมและสารละลายก่อนการบำบัด และผลของดัชนีการงอกของเมล็ดพืช พบว่าต้นพืชที่รดด้วยสารละลายก่อนและหลังการบำบัดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 4.21(E) และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของราก พบว่าต้นพืชที่รดด้วยสารละลายก่อนการบำบัด ที่ความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เปอร์เซ็นต์การยับยั้งรากเท่ากับ 53 และ 66% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการของ Bharagava *et al.* (2018) พบว่าสารละลายก่อนการบำบัดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงถึง 82% เมื่อเทียบกับสารละลายก่อนการบำบัดเพียง 42% จากการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าการกำจัดและย่อยสลายสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์สามารถลดความเป็นพิษของของสีย้อมได้

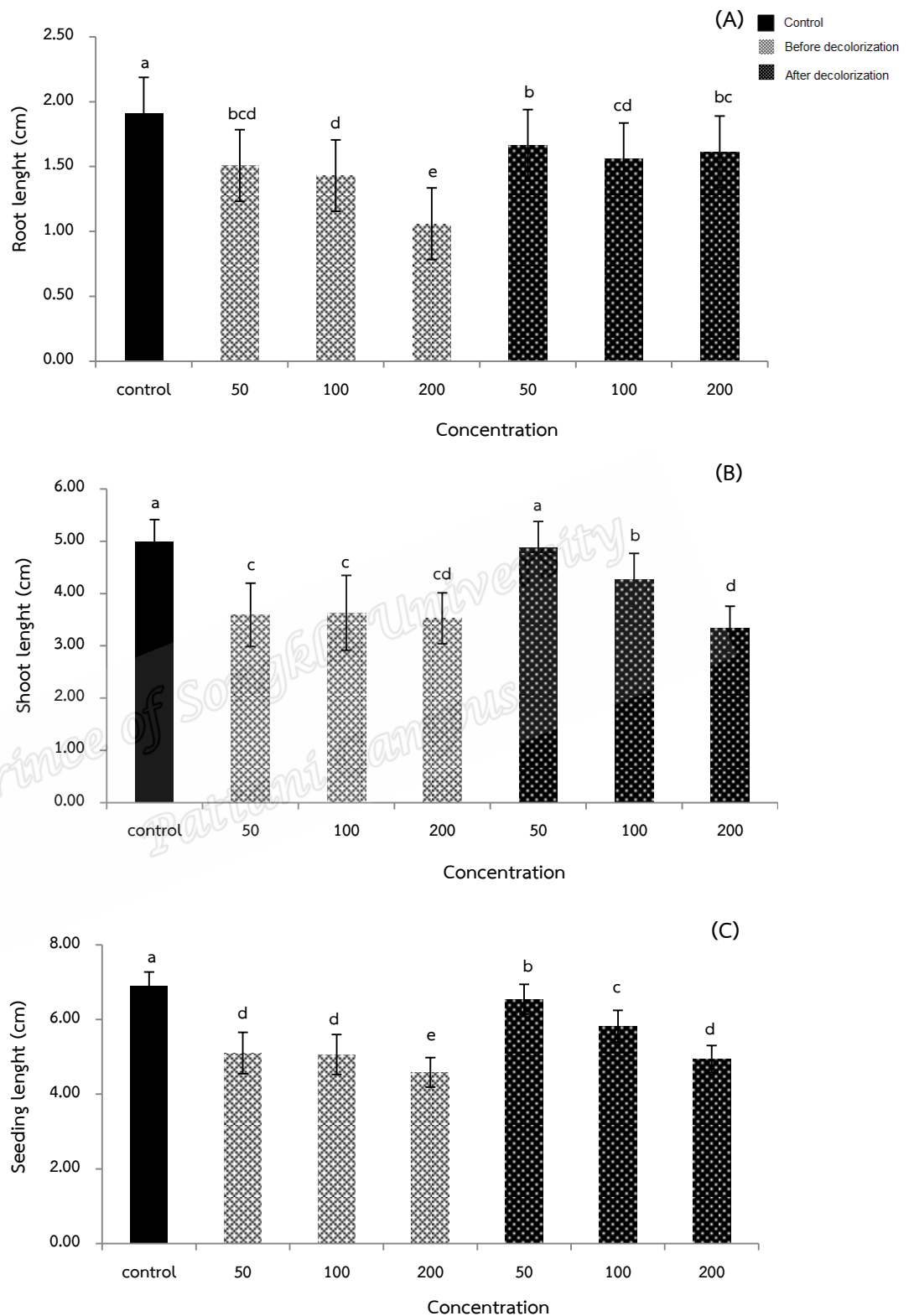
Prince of Songkla University
Pattani Campus

4.5.2 การศึกษาความเป็นพิษของสีย้อมก่อนและหลังการบำบัดที่มีผลต่อต้นถั่วเขียว

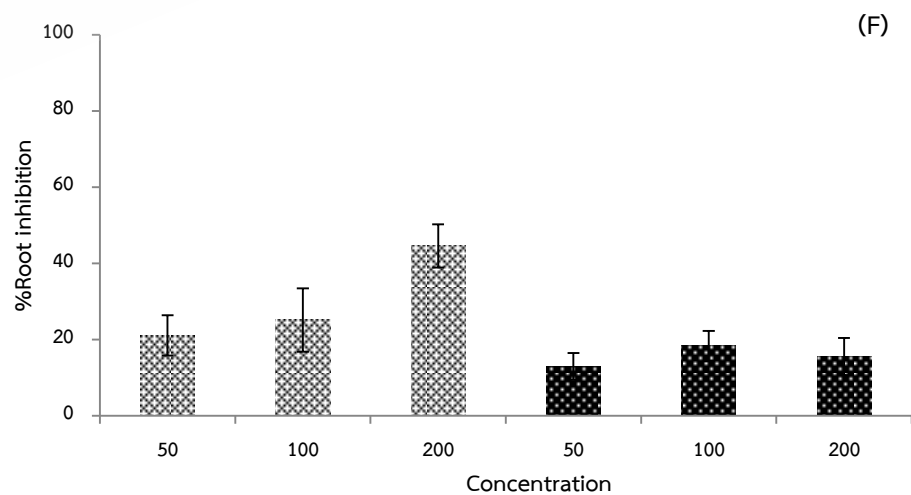
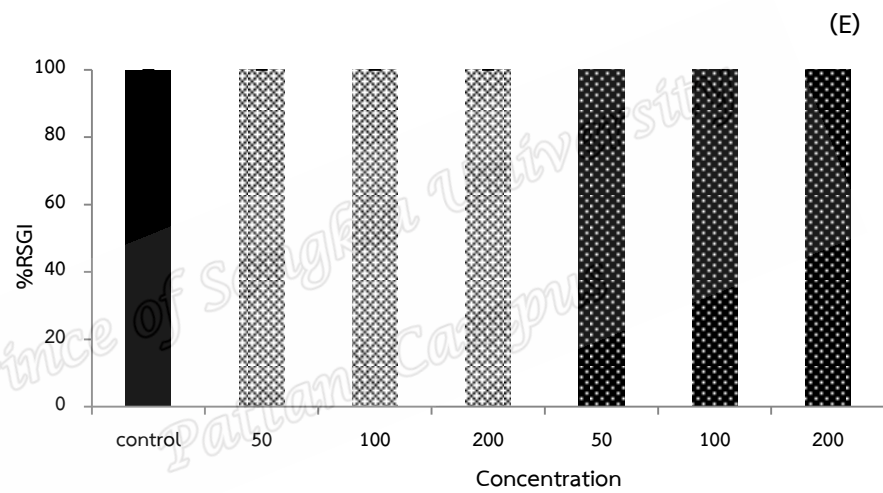
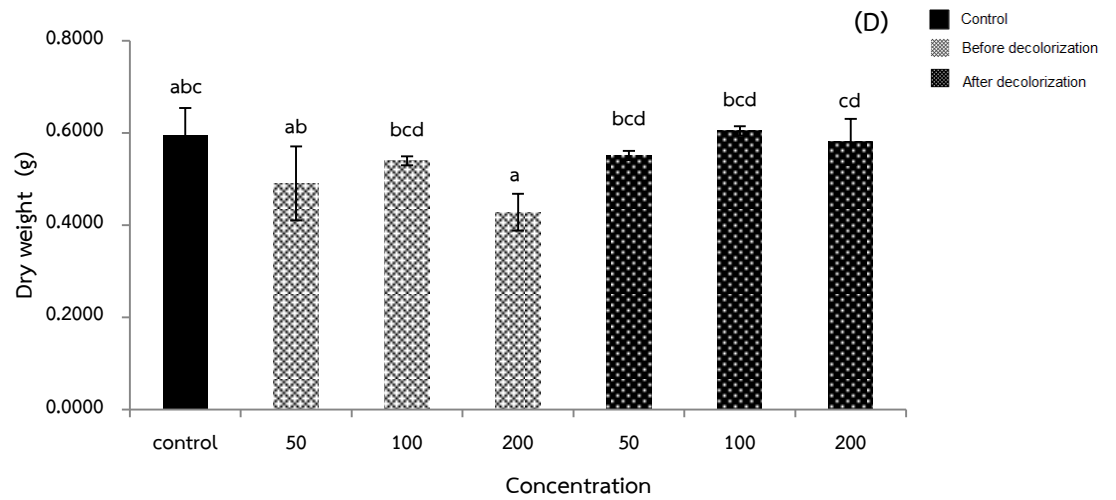
(*Vigna radiata*)



รูปที่ 4.22 การเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว (*Vigna radiata*) (A) การเจริญเติบโตบนจานอาหารเพาะเชื้อ (B) ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว โดยที่ (A-B) i) น้ำกลั่น ii) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร iii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร iv) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 ก่อนการบำบัด) vi) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร vii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร viii) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 หลังการบำบัด) (C) ลักษณะของรากที่ถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบถ่ายภาพได้ (100X) โดยที่ i) น้ำกลั่น ii) Acid Red 73 ก่อนการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) iii) Acid Red 73 หลังการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*



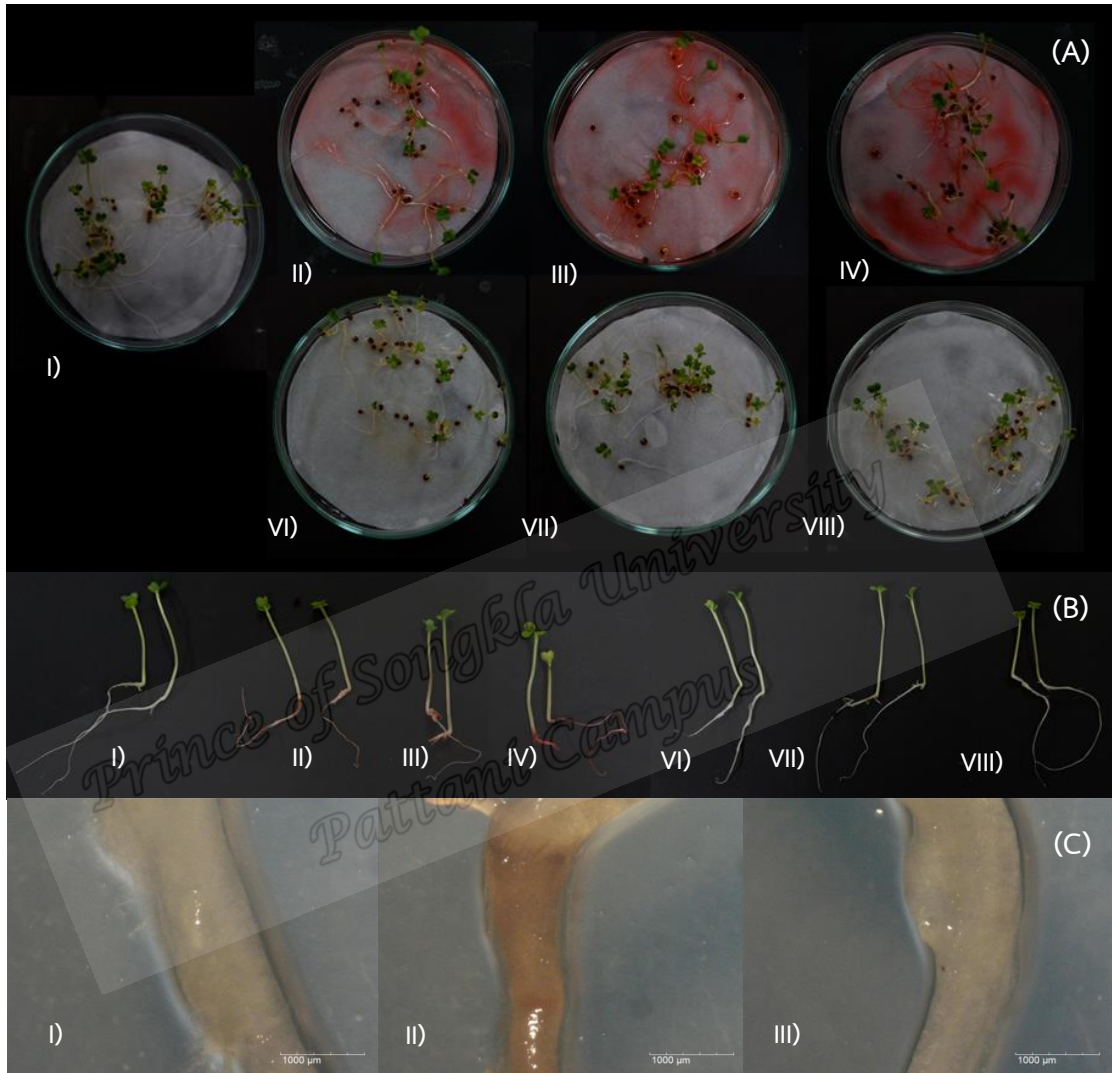
รูปที่ 4.23 ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว (*Vigna radiata*) โดยที่ (A) Root length (B) Shoot length และ (C) Seeding length



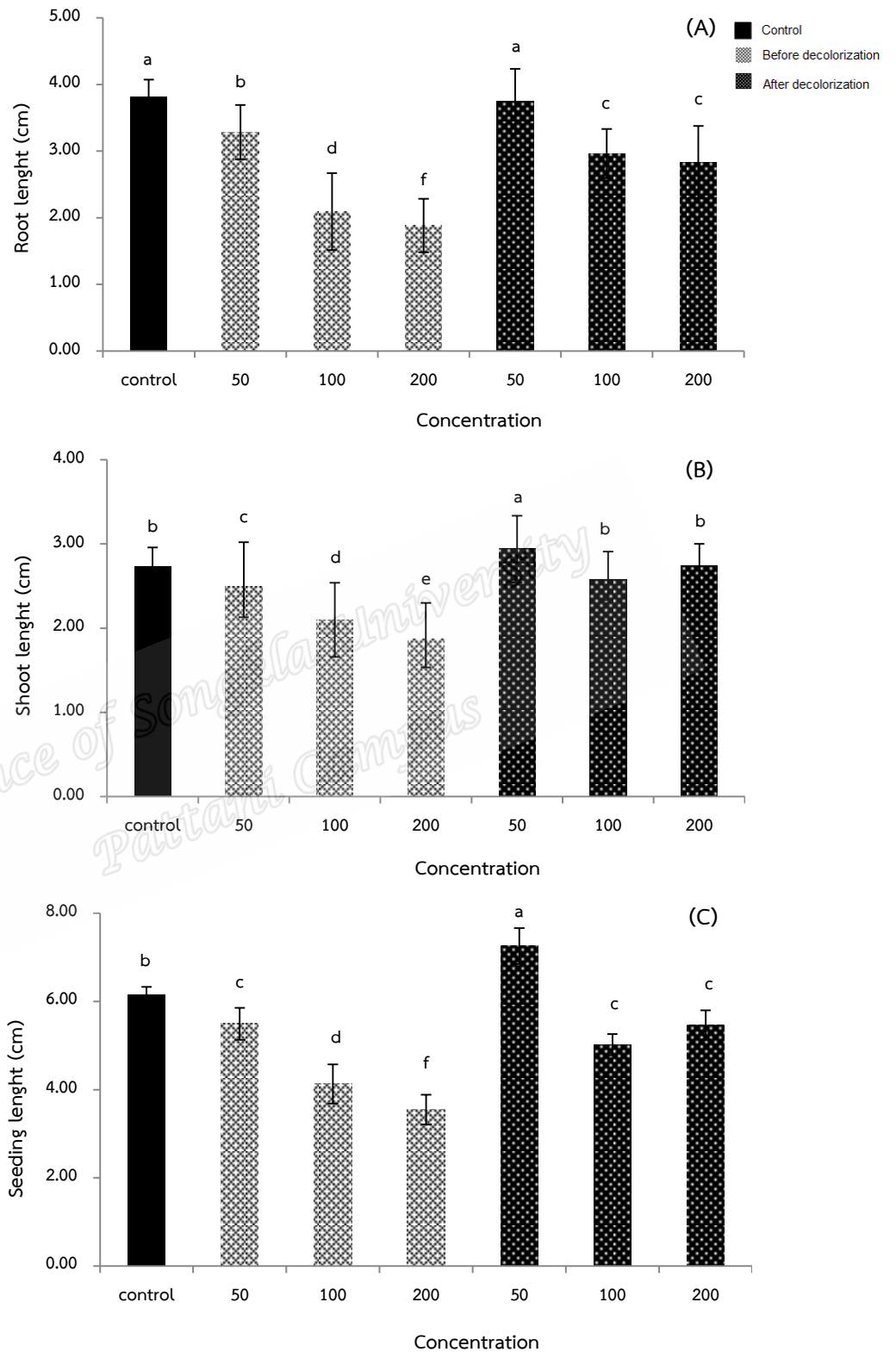
รูปที่ 4.24 ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว (*Vigna radiata*) โดยที่ (D) Dry weight (E) Relative seed germination index: (RSGI) (F) %Root inhibition

จากการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว (*Vigna radiata*) โดยจะเห็นได้ว่ารากมีการแตกแขนง และพบว่าต้นที่ผ่านการรดด้วยสารละลายหลังการบำบัดจะมีรากที่แตกแขนงมากกว่าเมื่อเทียบกับสารละลายก่อนการบำบัด ดังแสดงในรูปที่ 4.22(B) และจากการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์แบบถ่ายภาพได้ พบว่าบริเวณรากของต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนการบำบัด บริเวณรากเกิดเนื้อเยื่อตาย ส่งผลทำให้ความยาวต้นน้อยกว่าเมื่อเทียบกับต้นที่รดด้วยสารละลายหลังการบำบัด ดังแสดงในรูปที่ 4.22(C) จากการศึกษาความเป็นพิษของสารละลายก่อนและหลังการบำบัดสี้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* จะเห็นได้ว่าความยาวรากของต้นพืชที่รดด้วยสารละลายก่อนและหลังการบำบัดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยต้นพืชที่รดด้วยสารละลายก่อนการบำบัด ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีความยาวของรากเพียง 1.04 ± 0.35 เซนติเมตร ซึ่งมีความยาวรากที่น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ จากการศึกษาความยาวยอดของต้นพืช พบว่าต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) จะมีความยาวยอดเท่ากับ 4.99 ± 0.23 เซนติเมตร โดยความยาวยอดไม่มีความแตกต่างเมื่อเทียบกับสารละลายหลังการบำบัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความยาวยอดเท่ากับ 4.88 ± 0.50 เซนติเมตร ดังแสดงในรูปที่ 4.23(B) และความยาวต้น พบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายหลังการบำบัดที่ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลไม่แตกต่างเมื่อเทียบกับสารละลายหลังการบำบัดที่ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bankole *et al.* (2018) พบว่าความยาวรากและยอดของต้นพืชที่รดด้วยสารละลายก่อนและหลังการบำบัดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยความยาวรากและยอดของต้นพืชที่รดด้วยสารละลายหลังการบำบัดมีความยาวมากกว่าเมื่อเทียบกับต้นพืชที่รดด้วยสารละลายก่อนการบำบัด ผลของน้ำหนักแห้ง พบว่าต้นพืชที่รดด้วยสารละลายก่อนและหลังการบำบัด จะมีน้ำหนักเท่ากับ 0.5395 ± 0.01 และ 0.6041 ± 0.01 กรัม ที่ความเข้มข้นของสารละลาย 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าน้ำหนักแห้งของต้นพืชที่รดด้วยสารละลายหลังการบำบัดมีน้ำหนักมากกว่าเมื่อเทียบสารละลายก่อนการบำบัด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของความยาวราก ยอดและต้น หลังการบำบัดมีความยาวราก ยอดและต้นที่มากกว่าเมื่อเทียบกับสารละลายก่อนการบำบัด และผลของดัชนีการงอกของเมล็ดพืช พบว่าพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนและหลังการบำบัดที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการงอกของเมล็ดเท่ากับ 100% ดังแสดงในรูปที่ 4.24(E) ส่วนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งพบว่าพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนการบำบัดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 21, 25 และ 45% ที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.24(F) ซึ่งจะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่สูงเมื่อเทียบกับต้นพืชที่รดด้วยสารละลายหลังการบำบัดมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 13, 18 และ 17% ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นของสารละลายหลังการบำบัด 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

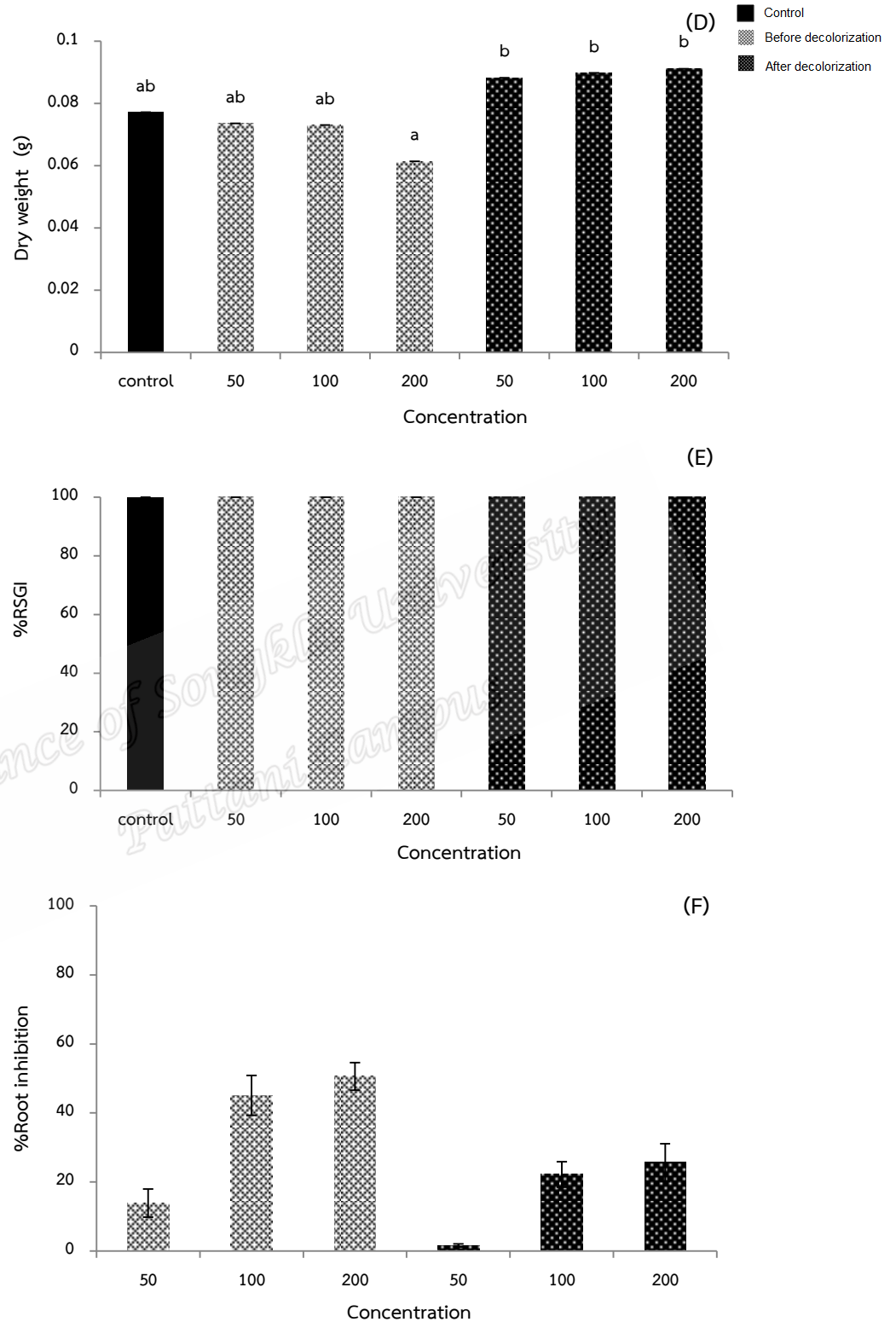
4.5.3 การศึกษาความเป็นพิษของสีย้อมก่อนและหลังการบำบัดที่มีผลต่อต้นผักกาด
 กวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*)



รูปที่ 4.25 การเจริญเติบโตของต้นผักกาดกวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*) โดย (A) การเจริญเติบโตบนจานอาหารเพาะเชื้อ (B) ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นผักกาดกวางตุ้ง (Acid Red 73 หลังการบำบัด โดยที่ (A-B) i) น้ำกลั่น ii) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร iii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร iv) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 ก่อนการบำบัด) vi) 50 มิลลิกรัมต่อลิตร vii) 100 มิลลิกรัมต่อลิตร viii) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Acid Red 73 หลังการบำบัด) (C) ลักษณะของรากที่ถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบถ่ายภาพได้ (100X) โดยที่ i) น้ำกลั่น ii) Acid Red 73 ก่อนการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) iii) Acid Red 73 หลังการบำบัด (100 มิลลิกรัมต่อลิตร) ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*



รูปที่ 4.26 ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของผักกาดกวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*) โดยที่ (A) Root length (B) Shoot length และ (C) Seeding length



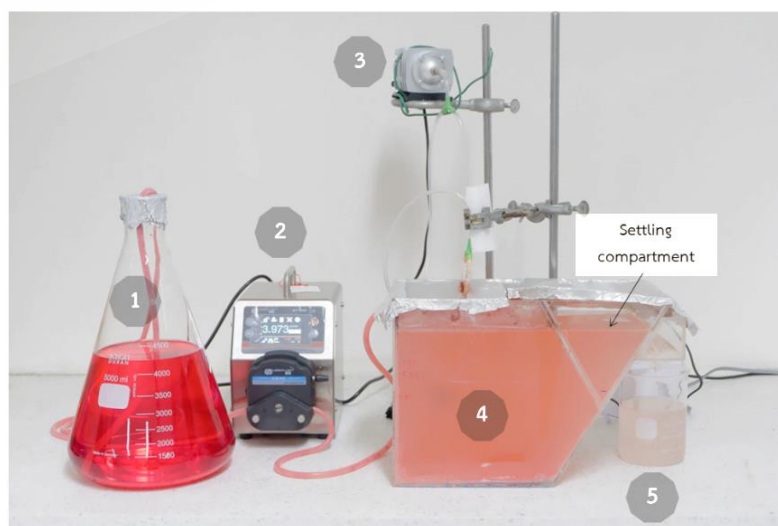
รูปที่ 4.27 ผลของความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นผักกาดกวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*) โดยที่ (D) Dry weight (E) Relative seed germination index: (RSGI) (F) %Root inhibition

จากรูปที่ 4.25(A และ B) จะเห็นได้ว่าต้นผักกาดกวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*) จะเห็นได้ว่าต้นพืชมีการเจริญเติบโต โดยจะสังเกตเห็นรากที่แตกแขนง มีใบเลี้ยงคู่ จากการถ่ายภาพใต้น้ำกล้องจุลทรรศน์แบบถ่ายภาพได้ (100X) พบว่าบริเวณรากของต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนการบำบัด เกิดเนื้อเยื่อตายเฉพาะบริเวณรากและบริเวณรากจะเกิดการรืทำให้มีขนาดของรากที่มีขนาดเล็ก ดังแสดงในรูปที่ 4.25(C) จากการศึกษาความเป็นพิษของสารละลายก่อนและหลังการบำบัดด้วย Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* การศึกษาความยาวรากของต้นพืช พบว่าต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) ความยาวรากไม่มีความแตกต่างเมื่อเทียบกับสารละลายหลังการบำบัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในรูปที่ 4.26(A) ส่วนความยาวยอดพบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายหลังการบำบัดที่ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลไม่แตกต่างเมื่อเทียบกับต้นพืชที่รดด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) 2.72 ± 0.24 และ 2.77 ± 0.23 เซนติเมตร ตามลำดับ ผลของน้ำหนักแห้งจะเห็นได้ว่าต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายหลังการบำบัดจะมีน้ำหนักที่มากกว่าต้นพืชที่รดด้วยสารละลายก่อนการบำบัด เนื่องจากจากกระบวนการย่อยสลายของสีย้อม Acid Red 73 จะได้สารที่เป็นสารสามารถสร้างพลังงานและแหล่งอาหารที่พืชสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ จึงส่งผลทำให้พืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายหลังการบำบัดจะเจริญเติบโตได้ดีกว่าต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนการบำบัดต้นมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 4.27(D) และผลของดัชนีการงอกของเมล็ดพืชพบว่าพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนและหลังการบำบัดที่ 100% ทั้ง 3 ความเข้มข้นที่ศึกษา ส่วนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งพบว่าพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนการบำบัดมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 14 และต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายหลังการบำบัดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเพียง 1.6 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในรูปที่ 4.27(F) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายหลังการบำบัดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้อยกว่าเมื่อเทียบกับต้นพืชที่ผ่านการรดด้วยสารละลายก่อนการบำบัดที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่น้อยบ่งบอกได้ว่าสารละลายเมตาบอลิต์ที่ได้จากการย่อยสลายสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* มีความเป็นพิษลดลง อีกทั้งยังเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งอาหารให้พืชเจริญเติบโตอีกด้วย

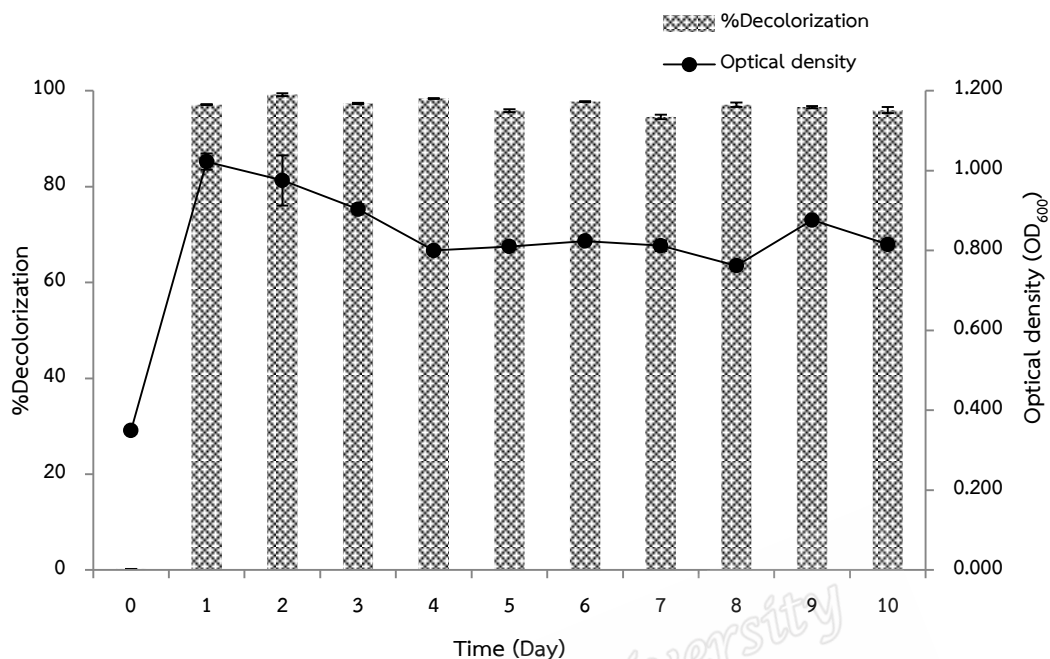
4.6 การศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ในถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง Continuous stirred tank reactor: CSTR)

4.6.1 การกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ในถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

จากการศึกษาในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) โดยในการทดลองจะทำการป้อนสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ที่อัตราการไหล 4.86 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งมีค่า Hydraulic Retention Time (HRT) เท่ากับ 24 ชั่วโมง โดยจะทำการป้อนสารละลายสีย้อม Acid Red 73 อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 10 วัน พบว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ได้มากกว่า 95% ตลอดระยะเวลาของการทดลอง 10 วัน ที่ความเข้มข้นของสีย้อม Acid Red 73 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากวิเคราะห์การเจริญเติบโตของเซลล์ยีสต์โดยพิจารณาจากค่า Optical density ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร พบว่าเมื่อระยะเวลาของการบำบัดที่ 1 วัน เห็นได้ว่าการเจริญเติบโตของยีสต์ *P. kudriavzevii* เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน เนื่องจากยีสต์ *P. kudriavzevii* มีการใช้ซูโครสและแหล่งอาหารที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายสีย้อม Acid Red 73 เป็นแหล่งอาหารในการเพิ่มและแบ่งจำนวนเซลล์ ทำให้มีจำนวนเซลล์ในระบบที่มากเพียงพอ (Qu *et al.*, 2012) ยีสต์ก็จะมีการผลิตเอนไซม์ เพื่อย่อยสลายโมเลกุลของสีย้อม Acid Red 73 ทำให้เป็นโครโมฟอร์ (-N=N-) แยกออกเป็นสารอะโรมาติกเอมีนและเกิดการย่อยต่อไป ทำให้สารละลายในถังปฏิกรณ์มีเชื้อยีสต์ *P. kudriavzevii* และสีย้อม Acid Red 73 และสารเมตาบอไลต์ที่เกิดขึ้น จะเห็นลักษณะของสารละลายที่เป็นสารละลายสีชมพู ในขณะที่สารละลายในถังป้อนเป็นสารละลายสีแดง ดังแสดงในรูปที่ 4.28



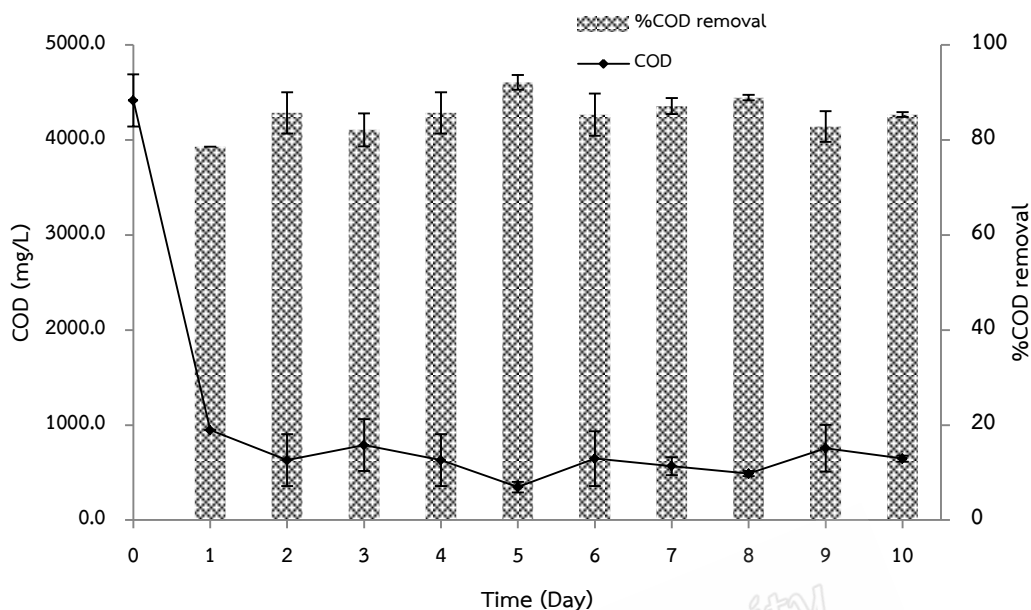
รูปที่ 4.28 ถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) ระดับห้องปฏิบัติการที่ออกแบบสำหรับการบำบัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* โดยหมายเลข 1) Feed tank 2) Peristaltic pump 3) Air pump 4) CSTR 5) Effluent tank



รูปที่ 4.29 ประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และการเจริญเติบโตของยีสต์ *P. kudriavzevii* ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR)

4.6.2 ค่าซีโอดีของสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) ก่อนและหลังการบำบัด ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

จากรูปที่ 4.30 พบว่าค่าซีโอดีของสีย้อม Acid Red 73 ก่อนการบำบัดเท่ากับ $4,417 \pm 273.2$ มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อผ่านการบำบัดในช่วงวันที่ 1-5 ค่าซีโอดีลดลงเหลือ 946 ± 0.00 , 632 ± 273.2 , 789 ± 273.2 , 631 ± 273.2 และ 347 ± 54.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีได้เท่ากับ 78, 85, 81, 86 และ 92% ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลายาวนานขึ้นถึง 10 วัน ค่าของซีโอดีภายหลังการบำบัดมีค่าเท่ากับ 641 ± 32.8 คิดเป็นประสิทธิภาพของการกำจัดซีโอดีเท่ากับ 85% ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการกำจัดและการย่อยสลายสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีที่สูงแล้ว ยังสามารถกำจัดซีโอดีในระบบได้อีกด้วย

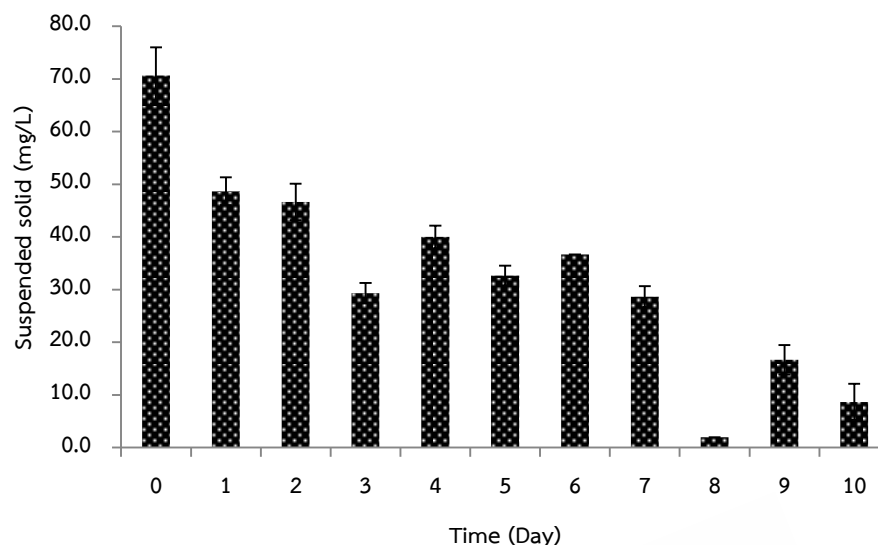


รูปที่ 4.30 ค่าซีโอดีและประสิทธิภาพของการกำจัดซีโอดีของสีย้อม Acid Red 73 ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ก่อนและหลังการบำบัดในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR)

4.6.3 ปริมาณของแข็งแขวนลอย ก่อนและหลังการบำบัดสีย้อม Acid Red 73 ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

4.6.3.1 ผลของปริมาณของแข็งแขวนลอยในสารละลายก่อนการปั่นเหวี่ยง

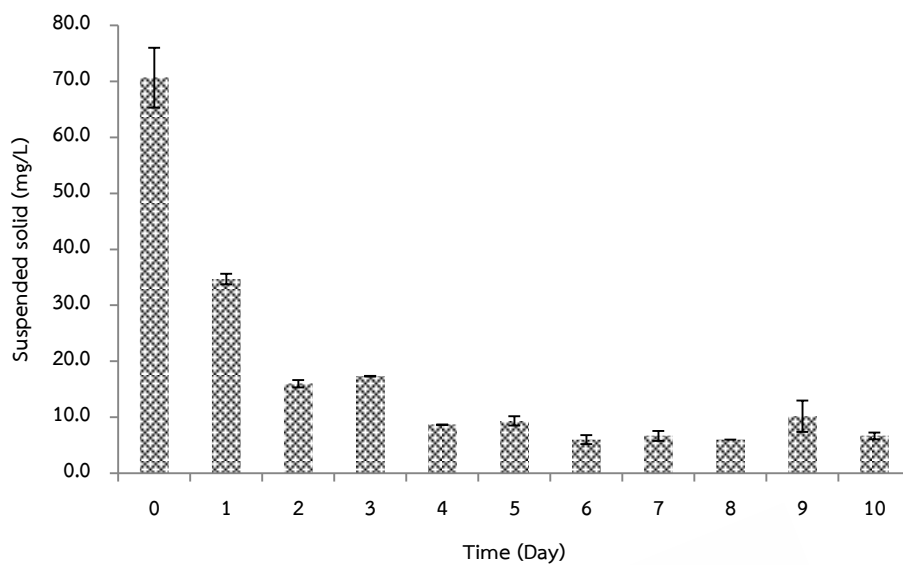
จากการศึกษาการหาปริมาณของแข็งแขวนลอยในสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดก่อนที่ปั่นเหวี่ยงตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง พบว่าปริมาณของแข็งแขวนลอยในสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ก่อนการบำบัดเท่ากับ 70.7 ± 0.53 และเมื่อผ่านการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* จะเห็นได้ว่าปริมาณของแข็งแขวนลอยลดลง โดยในวันที่ 1-3 วัน มีปริมาณของแข็งแขวนลอยในสารละลายที่ออกจากระบบเท่ากับ 48.7 ± 0.26 , 46.7 ± 0.35 และ 29.3 ± 1.91 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไปของแข็งแขวนลอยจะลดลง โดยที่ 10 วัน ปริมาณของแข็งแขวนลอยปริมาณเท่ากับ 8.7 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในรูปที่ 4.31



รูปที่ 4.31 ปริมาณของแข็งแขวนลอยแบบไม่ปั่นเหวี่ยงในสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง

4.6.3.2 ผลของปริมาณแข็งแขวนลอยในสารละลายหลังการปั่นเหวี่ยง

จากรูปที่ 4.34 พบว่าปริมาณของแข็งแขวนลอยในสารละลายก่อนการบำบัดเท่ากับ 70.7 ± 0.53 และเมื่อผ่านการบำบัดจะเห็นได้ว่าปริมาณของแข็งแขวนลอยลดลง ในวันที่ 1-5 วัน มีของแข็งแขวนลอยในสารละลายที่ออกจากระบบเท่ากับ 34.7 ± 0.09 , 16.0 ± 0.06 , 17.3 ± 0.07 , 8.7 ± 0.02 และ 9.3 ± 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไปของแข็งแขวนลอยลดลง โดยในวันที่ 10 ปริมาณของแข็งแขวนลอยมีเพียง 6.7 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการลดลงของปริมาณของแข็งแขวนลอยนั้นเกิดจากการย่อยสลายโมเลกุลของสีย้อม Acid Red 73 ได้เป็นอะโรมาติกเอมีน และเปลี่ยนไปสารที่สามารถเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่สามารถใช้เป็นพลังงานและเป็นแหล่งอาหาร ส่วนสารพวกอะโรมาติกเอมีนและสารประกอบฟีนอลิกและกรดอะลิฟาติกที่เหลืออยู่ก็ยังคงมีอยู่ในระบบและเปลี่ยนเป็นสารตัวต่อไปที่เซลล์จะนำไปใช้ จากผลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาในการบำบัดยาวนานขึ้นปริมาณของแข็งแขวนลอยในสารละลายลดลงตามระยะเวลาในการบำบัดที่ยาวนาน จากผลดังกล่าวสรุปได้ว่า เมื่อระยะเวลาในการบำบัดสีย้อม Acid Red 73 ในถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) ยาวนานขึ้นสีย้อมจะถูกเปลี่ยนเป็นสารเมตาบอไลต์ต่าง ๆ ซึ่งยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถนำไปใช้ในระบบเมตาบอลิซึมของเซลล์เพื่อการเจริญเติบโตได้ ทำให้ปริมาณสารต่าง ๆ ในระบบลดน้อยลง ดังแสดงในรูปที่ 4.32



รูปที่ 4.32 ปริมาณของแข็งแขวนลอยแบบปั่นเหวี่ยงในสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 ยีสต์ที่คัดแยกได้จากดินบริเวณโรงงานย้อมผ้าบาติกที่สามารถบำบัดสีย้อมอะโซที่ศึกษาได้ดีที่สุดคือ ยีสต์ไอโซเลต co 6

5.1.2 ชนิดของสีย้อมอะโซที่ยีสต์ไอโซเลต co 6 สามารถกำจัดได้ดีที่สุดคือ Acid Red 73 ซึ่งสามารถบำบัดได้ 100% ภายในเวลา 5 ชั่วโมง

5.1.3 เมื่อระบุสายพันธุ์ของยีสต์ไอโซเลต co 6 โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 26S rRNA เทียบกับฐานข้อมูล พบว่ายีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวคือ *Pichia kudriavzevii*

5.1.4 ผลของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ต่อประสิทธิภาพในการบำบัดสี Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ดังนี้

1. ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถบำบัด Acid Red 73 ที่ความเข้มข้น 25-500 มิลลิกรัมต่อลิตรได้มากกว่า 99% ภายใน 10 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถบำบัดได้ 100 และ 99% ที่ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

2. ที่ความเข้มข้นของกลูโคสและซูโครส 2-10 กรัมต่อลิตร ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถบำบัดสีได้ 100% ภายใน 10 ชั่วโมง แต่เมื่อความเข้มข้นของกลูโคสและซูโครสสูงขึ้นส่งผลทำให้การกำจัดสีเพิ่มสูงขึ้นด้วย และเมื่อไม่มีแหล่งคาร์บอนดังกล่าวยีสต์ยังสามารถบำบัดสีได้ 64% ภายใน 10 ชั่วโมง

3. ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรีย 0.5-4 กรัมต่อลิตร ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถบำบัดสีได้ 100 และ 97% ภายในเวลา 10 ชั่วโมง ตามลำดับ แม้ไม่มีแหล่งไนโตรเจนดังกล่าวยีสต์ยังสามารถบำบัดสีได้ 83% ภายใน 10 ชั่วโมง

4. ที่ปริมาณของโซเดียมคลอไรด์ 0-10 กรัมต่อลิตร ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถบำบัดสีได้ 100% ภายใน 10 ชั่วโมง และที่ปริมาณของโซเดียมคลอไรด์ 20-50 กรัมต่อลิตร สามารถบำบัดสีได้มากกว่า 96% ภายใน 24 ชั่วโมง ซึ่งเห็นได้ว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถทนต่อสภาวะที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่สูง (50 มิลลิกรัมต่อลิตร)

5. พีเอช อุณหภูมิ และความเร็วในการเขย่าที่เหมาะสมคือ พีเอช 4-9, 35 องศาเซลเซียส และ 160 รอบต่อนาที ตามลำดับ

5.1.5 โครงสร้างของสี Acid Red 73 หลังจากการบำบัดมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นโดยเปลี่ยนไปเป็นสารเมตาบอไลต์ชนิดอื่น ๆ ที่สามารถเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น Acetyl CoA ได้

5.1.6 สีย้อม Acid Red 73 หลังการบำบัดไม่มีความเป็นพิษต่อพืชที่ใช้ในการทดสอบเมื่อเทียบกับสีย้อมก่อนการบำบัด

5.1.7 จากการศึกษาการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) พบว่ายีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีได้มากกว่า 95% ตลอดระยะเวลาการทดลองต่อเนื่อง 10 วัน ที่ความเข้มข้นของสีย้อม Acid Red 73 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายสีย้อมหลังการบำบัดมีค่าซีโอดีลดลงเมื่อเทียบกับก่อนการบำบัด โดยเปอร์เซ็นต์ของการกำจัดซีโอดีมากกว่า 85% และปริมาณของแข็งแขวนลอยลดลงเมื่อเทียบกับในสารละลายก่อนบำบัด

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ยีสต์ที่คัดแยกได้มีประสิทธิภาพในการบำบัดสีย้อม สามารถนำไปศึกษาต่อยอดได้เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนที่สีย้อมต่อไป

5.2.2 ในการศึกษาพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ที่คัดแยกได้ในช่วงของแต่ละสภาวะสามารถนำไปปรับใช้กับสภาวะในการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนจากสีย้อมได้จริงและยีสต์ที่คัดแยกได้ยังมีความสามารถในการกำจัดสีย้อมในสภาวะช่วงกว้าง

5.2.3 ผลที่ได้จากการศึกษาในระบบถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการออกแบบระบบที่มีขนาดใหญ่ขึ้นสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนสีย้อมในระดับอุตสาหกรรม

บรรณานุกรม

- กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. 2539. ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ.2539) เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจาก แหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม. สืบค้นจาก: <http://law.longdo.com/law/587/sub41976> [20 พฤษภาคม 2559]
- กรมโรงงานอุตสาหกรรม. 2560. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการ ระบายน้ำทิ้งจากโรงงาน พ.ศ. ๒๕๖๐. สืบค้นจาก: [http:// www.diw.go.th](http://www.diw.go.th). [20 มิถุนายน 2560]
- กาวิ ศรีกุลกิจ. 2554. หลักการย้อมสิ่งทอ. กรุงเทพมหานคร. บริษัทศูนย์หนังสือกรุงเทพ. 165
- ชนิษฐา. 2550. เรียนรู้ถึงปัญหาและวิธีการแก้ปัญหาเกี่ยวกับน้ำที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม. สืบค้น จาก <http://www.tpa.or.th/writer>. [5 ตุลาคม 2559]
- พิมพ์ชนา วงศ์พิศาล พรศิลป์ สีเผือก ชัยสิทธิ์ ปรีชา และ วุฒิชัย สีเผือก. 2559. การคัดเลือกเชื้อราที่ ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส จากซากใบปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.). วารสารแก่นเกษตร. 44 (1), 948-952
- วีรานุช หลาง, ธนสิริ มีชัย และ วิชชุพร จันทร์ศรี. 2551. ความสามารถในการกำจัดสีย้อมผ้าประเภท รีแอกทีฟของ *Burkholderia glumae*. วารสารสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติ. 6, 66-81.
- ภาควิชาพืชศาสตร์.คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 2543. หลักการกสิกรรม.สืบค้นจาก[http://www.natres.psu.ac.th/Department/Plant Science/510-111web/index.htm](http://www.natres.psu.ac.th/Department/PlantScience/510-111web/index.htm). [25 พฤษภาคม 2561]
- ศูนย์ข้อมูลพิษวิทยา. 2553. อนิลีน (Aniline). สืบค้นจาก:http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_toxic [20 เมษายน 2561]
- สุดสายชล หอมทอง และสุบัตินิต นิมรัตน์. 2550. การพัฒนาระบบบำบัดสีกลุ่มอะโซด้วยวิธีผสม ผสานวารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี. 1(1), 101-112.
- สุดสายชล หอมทอง นเรศ เชื้อสุวรรณ และสุบัตินิต นิมรัตน์. 2554. การกำจัดสีเมทิลเรดด้วยการดูด ซับ/วิธีทางชีวภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 16(2), 63-74.
- สำนักงานกรรมการอาหารและยา. 2549. สืบค้นจาก: [https://db.oryor.com/databank /data / printing //49_1218_Factsheet_\(Naphthalene\)_786.pdf](https://db.oryor.com/databank/data/printing/49_1218_Factsheet_(Naphthalene)_786.pdf). [20 เมษายน 2561]
- ไตรมาศ บุญไทย วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และสุบัตินิต นิมรัตน์. 2554. การลดความเข้มข้นสีและการย่อย สลายสีอะโซด้วยแบคทีเรีย. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

- โสภาพรรณ รัตนพันธุ์. 2547. การบำบัดและกำจัดสีของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยเส้นใยเห็ด *Lentinus* spp. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต, เทคโนโลยีชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์.
- Anliker, R. 1977. Color chemistry and the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 1, 211-237.
- APHA-AWWA, Standard methods for examination of water and wastewater. 1999a. Chemical Oxygen Demand (COD). Method 5220 A. American Public Health Association/ American Water Works Association. *In APHA*
- APHA-AWWA, Standard methods for examination of water and wastewater. 1999b. Total Suspended Solids Dried at 103–105 °C. Method 2540 D. American Public Health Association/American Water Works Association. *In APHA*
- Aravind, P., Selvaraj, H., Ferro, S. and Sundaram, M. 2016. An integrated (electro- and bio-oxidation) approach for remediation of industrial wastewater containing azo dyes: Understanding the degradation mechanism and toxicity assessment. *Journal of Hazardous Materials*. 318, 203–215
- Bankole, P.O., Adekunle, A.A. and Govindwar, S.P. 2018. Enhanced decolorization and biodegradation of acid red 88 dye by newly isolated fungus, *Achaetomium strumarium*. *Environmental Chemical Engineering*. 6, 1589–1600
- Bardi, L. and Marzona, M. 2010. Factors Affecting the Complete Mineralization of Azo Dyes. Available online https://www.researchgate.net/publication/226116445_Decolorization_of_Azo_Dyes_by_Yeasts. [30 March 2018]
- Bharagava, R.N., Mani, S., Mulla, S.I. and Saratal G. D. 2018. Degradation and decolourization potential of an ligninolytic enzyme producing *Aeromonas hydrophila* for crystal violet dye and its phytotoxicity evaluation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 156, 166–175
- Brown, D. 1987. Effects of colorants in the aquatic environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 13, 139-147.
- Chan, G.F., Rashid, N.A.A., Lee, S.C., Ab.llaah, N., Nasiri, R. and Ikubar, M.R.M. 2012. Communal microaerophilic–aerobic biodegradation of Amaranth by novel NAR-2 bacterial consortium. *Bioresource Technology*. 105, 48-59.

- Chander, M. and Arora, D.S. 2007. Evaluation of some white-rot fungi for their potential to decolourise industrial dyes. *Dyes and Pigments*. 72, 293-298.
- Chen, L-C. 2002. Effects of factors and interacted factors on the optimal decolorization process of methyl orange by ozone. *Water Research*. 34, 974-982.
- Clarke, E.A. and Anliker, R. 1980. Organic Dyes and Pigments. In O Hutzinger (ed), *The Handbook of Environmental Chemistry. Anthropogenic Compounds*, Springer, Heidelberg, pp. 181-215.
- Duygu, O. H. and Van Leeuwen J. 2010. Removal of color from fruit candy waste by activated carbon adsorption. *Journal of Food Engineering*. 101, 106-112.
- Forgacs, E., Cserhati, T. and Oros, G. 2004. Removal of synthetic dyes from wastewaters. *Environment International*. 30, 953-971.
- García-Martínez, Y., Bengoa, C., Stüber, F., Fortuny A, Font, J. and Fabregat, A. 2015. Biodegradation of acid orange 7 in an anaerobic-aerobic sequential treatment system. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 94, 99-104
- Grand View Research. 2017. *Dyes & Pigments Market Analysis By Product [Dyes (Reactive, Vat, Acid, Direct, Disperse), Pigments (Organic, Inorganic)], By Application (Dyes, Pigments), And Segment Forecasts, 2018–2025*. Available online: <https://www.grandviewresearch.com/>. [3 June 2018]
- Isik, M. and Sponza, D.T. 2004. Monitoring of toxicity and intermediates of C.I. Direct Black 38 azo dye through decolorization in an anaerobic/aerobic sequential reactor system. *Environmental Science Health*. 29-39.
- Jin, X., Liu, G. Xu, Z. and Tao, W. 2007. Decolourisation of a dye industry effluent by *Aspergillus fumigatus* XC6. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 74, 239-243.
- Kalpana, D., Velmurugan, N., Shim, J.H., Oh, B-T., Senthil, K. and Lee, Y.S. 2012. Biodecolorization and biodegradation of reactive Levafix Blue E-RA granulate dye by the white rot fungus *Irpex lacteus*. *Journal of Environmental Management*. 111, 142-149.
- Keck, A., Klein, J., Kudlich, M., Stolz, A., Knackmuss, H.J. and Mattes, R. 1997. Reduction of azo dyes by redox mediators originating in the naphthalene

- sulfonic acid degradation pathway of *Sphingomonas* sp. strain BN6. *Applied and Environmental Microbiology*. 63, 3684-3690.
- Leontievsky A., Myasoedova N., Baskunov B., Golovleva L., Bucke C. and Evans C. 2001. Transformation of 2,4,6-trichlorophenol by free and immobilized fungallaccase. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 57, 85-91.
- Levine, W.G. 1991. Metabolism of azo dyes: implication for detoxification and activation. *Drug Metabolism Review*. 23, 253-309.
- Li, H., Tan, L., Ning, S. and He, A. 2015. Reactor performance during aerobic degradation and detoxification of Acid Red B with activated sludge bioaugmented by a yeast *Candida tropicalis* TL-F1 in MBR. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 104, 149–156.
- Limura, Y., Hartikainen, P. and Tatsumi, K. 1996. Dechlorination of tetrachloroguaiacol by laccase of white-rot basidiomycete. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 45, 434-439.
- Mallikarjuna, N M., Keshavayya, J., Maliyappa, M.R., Shoukat Ali, R.A. and Venkatesh T. Synthesis, Characterization, thermal and biological evaluation of Cu (II), Co (II) and Ni (II) complexes of azo dye ligand containing Sulfamethaxazole moiety. *Molecular Structure*. (In press).
- Mane, U.V., Gurav, P.N., Deshmukh, A.M. and Govindwar, S.P. 2008. Degradation of textile dye reactive navy-blue Rx (Reactive blue-59) by an isolated *Actinomyces Streptomyces* krainskii SUK-5. *Malaysian Journal Microbiology*. 4 (2), 1-5.
- MetaCyc. 2006. Pathway: catechol degradation I (meta-cleavage pathway). Available online <https://biocyc.org/META/NEW-IMAGE?type=PATHWAY&objec=PWY-5415>. [30 March 2017]
- Qu, Y., Cao, X., Ma, Q., Shi, S., Tan, L., Zhou, H., Zhang, X. and Zhou, J. 2012. Aerobic decolorization and degradation of Acid Red B by a newly isolated *Pichia* sp.TCL. *Journal of Hazardous Materials*. 223-224, 31-38.
- Rawat, D., Sharma, S.P., Karmakara, S., Arora, L.S. and Mishra, V. 2018. Ecotoxic potential of a presumably non-toxic azo dye. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 148,528–537.

- RAzo-Flores E., Luijten M., Donlon B.A., Lettinga G. and Field J.A. 1997. Complete biodegradation of the azo dye azodisalicylate under anaerobic conditions. *Environmental Science and Technology*. 31(7), 2098-2103.
- Saratale, R.G., Saratale, G.D., Chang, J.S. and Govindwar, S.P. 2011. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 4, 138-157.
- Saratale, RG, Gandhi S.S., Purankar, M.V., Kurade, M.B., Govindwar, S.P., Oh, S.E. and Saratale, G.D. 2013. Decolorization and detoxification of sulfonated azo dye C.I. Remazol Red and textile effluent by isolated *Lysinibacillus* sp. RGS. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 115, 658-667.
- Singh, R.L., Singh, P.K. and Singh, R.P. 2015. Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes - A review. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 104, 21- 31.
- Song, L., Shao, Y., Ning, S. and Tan, L. 2017. Performance of a newly isolated salt-tolerant yeast strain *Pichia occidentalis* G1 for degrading and detoxifying azo dyes. *Bioresource Technology*. 233, 21-29.
- Sponza, D.T. and Isik, M. 2002. Decolorization and azo dye degradation by anaerobic/aerobic sequential process. *Enzyme and Microbial Technology*. 31, 102-110.
- Sudha, M., Bakiyaraj, G., Saranya, A., Sivakumar, N. and Selvakumar, G. 2018. Prospective assessment of the *Enterobacter aerogenes* PP002 in decolorization and degradation of azo dyes DB 71 and DG 28. *Environmental Chemical Engineering*. 6, 95-109
- Tan, L., Ning, S., Zhang, X. and Shi, S. 2013. Aerobic decolorization and degradation of azo dyes growing cells of a newly isolated yeast *Candida tropicalis* TL-F1. *Bioresource Technology*. 138, 307-313.
- Tan, L., Li, H., Ning, S. and Xu B. 2014 Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by suspended growing cells and immobilized cells of a newly isolated yeast *Magnusiomyces ingens* LH-F1. *Bioresource Technology*. 233, 21-29
- Tan, L., He, M., Song, L., Fu, X. and Shi, S. 2016. Aerobic decolorization, degradation and detoxification of azo dyes by a newly isolated salt-tolerant yeast *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1. *Bioresource Technology*. 203, 287-294.

- TextInfo. 2011. Classification of Dyes. Available online: <https://textInfo.wordpress.com/>. [29 May 2108]
- Wanida, C. 2012. Color Removal technology in industrial wastewater. Burapha Science Journal. 17 (1), 181-191.
- Xu, Q., Ye, Y., Chen, V. and Wen, X. 2015. Evaluation of fouling formation and evolution on hollow fibre membrane: effects of ageing and chemical exposure on biofoulant. Water Research. 68, 182-193.
- Umbuzeiro, G.A., Freeman, H., Warren, S.H., Oliveira, D.P., Terao, Y., Watanabe, T. and Claxton, L.D. 2005. The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River. Chemosphere. 60, 55-64.

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

1. วิธีการตรวจวัดค่าความเป็นพิษของดิน

- 1.1. นำตัวอย่างดินอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 1.2. ชั่งตัวอย่างดินที่แห้ง 20 กรัม เทลงในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- 1.3. ใช้แท่งแก้วคนดินเป็นเวลา 30 วินาที แล้วพัก 3 นาที ทำอย่างนี้ 5 ครั้ง
- 1.4. เมื่อคนดินครบ 5 ครั้งแล้วตั้งทิ้งไว้จนดินในบีกเกอร์ตกตะกอน จะเห็นน้ำใส ๆ อยู่บริเวณด้านบน
- 1.5. จุ่มปลายหัวตรวจวัดพิษที่ปรับค่ามาตรฐาน ลงไปในบริเวณน้ำใส ๆ
- 1.6. เมื่อวัดพิษเสร็จแล้ว ใช้น้ำกลั่นล้างปลายหัวตรวจวัดบริเวณที่สัมผัสกับดินให้สะอาด และใช้กระดาษทิชชูซับให้แห้ง

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Martin (Qu et al., 2012)

2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin

(1) ชั่งส่วนประกอบต่าง ๆ ตามสูตรอาหาร

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1.0	กรัมต่อลิตร
KH_2PO_4	1.0	กรัมต่อลิตร
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.58	กรัมต่อลิตร
Glucose	10.0	กรัมต่อลิตร

(2) สารละลายส่วนประกอบต่าง ๆ ของเลี้ยงเชื้อ ในน้ำกลั่นแล้วคนด้วยแท่งแก้ว ให้ส่วนประกอบของอาหารละลาย แล้วปรับปริมาตรให้ครบตามสูตรด้วยน้ำกลั่น

2.2. การเตรียมอาหารแข็ง Martin

(1) ใช้ส่วนประกอบเช่นเดียวกับ Martin media แล้วเติมผงวุ้น (Agar) 15 กรัมต่อลิตร

(2) สารละลายส่วนประกอบต่าง ๆ ของเลี้ยงเชื้อ ในน้ำกลั่นแล้วคนด้วยแท่งแก้ว ให้ส่วนประกอบของอาหารละลายให้หมด แล้วปรับปริมาตรให้ครบตามสูตรด้วยน้ำกลั่น

2.3. การบรรจุอาหารลงในขวด

(1) บรรจุอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วลงในขวด (Duran) หรือหลอดทดลอง โดยบรรจุ 1 ใน 2 ส่วนของขวด

- (2) ปิดขวดด้วยฝาเกลียวให้สนิทแล้วคลายเกลียวออกครึ่งรอบ (การนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจึงปิดเกลียวให้แน่น ปิดหลอดทดลอง หรือขวดรูปชมพู่ด้วยแผ่นพอยล์หรือจุกสำลี)
- (3) นำไปกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) แบบอัตโนมัติ

2.4. การกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย Autoclave แบบอัตโนมัติ

- (1) เติมน้ำกลั่นลงในหม้อ Autoclave
- (2) นำอาหารที่บรรจุไว้ในภาชนะต่าง ๆ ลงวางในหม้อ autoclave
- (3) ปิดฝาหม้อ Autoclave
- (4) ตั้งค่าอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และเวลา 15 นาที
- (5) รอจนกว่าเครื่อง Autoclave ทำงานเสร็จ โดยสามารถเปิดฝาหม้อ Autoclave เมื่ออุณหภูมิลดลงเหลือ 80 องศาเซลเซียส

3.การวิเคราะห์ Chemical Oxygen Demand (COD) วิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน APHA

3.1 การเตรียมสารละลาย

3.1.1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน 0.1N $K_2Cr_2O_7$

- (1) ชั่ง $K_2Cr_2O_7$ ประมาณ 5.100 กรัม อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- (2) นำไปวางไว้ให้เย็นใน Desicator เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- (3) ชั่ง $K_2Cr_2O_7$ 4.931 กรัม
- (4) เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วคนให้ $K_2Cr_2O_7$ ละลายให้หมด
- (5) เติม H_2SO_4 ปริมาตร 167.0 มิลลิลิตร
- (6) เติม $HqSO_4$ 33.3 กรัม
- (7) วางทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- (8) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

3.1.2. การเตรียมสารละลายกรด H_2SO_4 reagent

- (1) ชั่ง Ag_2SO_4 22 กรัม
- (2) เติมลงในขวด Concentration H_2SO_4 ปริมาตร 2.5 ลิตร
- (3) วางทิ้งไว้ 2-3 วัน ก่อนการใช้งาน

3.1.3. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน 0.05N $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$

- (1) ชั่ง $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ 19.6 กรัม
- (2) เติมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วคนให้ $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ ละลายให้หมด

(3) ปิเปตกรด H_2SO_4 20.0 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น

(4) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

3.1.4. การเตรียม 20% (v/v) H_2SO_4

(1) เติมน้ำกลั่นปริมาตร 180 มิลลิลิตร ลงในปิเปตอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร

(2) ปิเปต H_2SO_4 ปริมาตร 50.0 เติมลงไปข้อ (1) แล้วคนให้เข้ากัน

(3) ถ่ายลงในขวดปริมาตร 250 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร

3.1.5. การเตรียมเฟอโรอิน (Feroin indicator)

(1) ชั่ง 1,10-phenanthroline monohydrate ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\text{H}_2\text{O}$) 1.48 กรัม

(2) ชั่ง Ferrous sulfate heptahydrate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.70 กรัม

(3) นำสารที่ชั่งจากข้อ (1) และ (2) มาละลายด้วยน้ำกลั่น

(4) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การหาค่าซีไอดี

(1) ล้างหลอดทดลอง และขวดรูปชมพู่ด้วย 20% (v/v) H_2SO_4 แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ก่อนทำการทดลอง

(2) เจือจางน้ำตัวอย่างให้อยู่ในช่วงซีไอดี (COD) ที่จะวิเคราะห์

(3) ปิเปตสารละลาย 0.1N $\text{k}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เติมลงไปหลอดทดลอง

(4) ปิเปตตัวอย่างน้ำที่เจือจางปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เติมลงไปหลอดทดลอง

(5) ปิเปตกรด H_2SO_4 reagent ปริมาตร 3.5 มิลลิลิตร เติมลงไปหลอดทดลอง

(6) ปิดฝาหลอดทดลอง แล้วนำไปเขย่าให้เข้ากัน

(7) นำไปอบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

(8) นำมาวางให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

(9) นำไปไทเทรตด้วย 0.05 $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ โดยใช้เฟอโรอินเป็นอินดิเคเตอร์

(10) จุดยุติจะได้สารละลายสีน้ำตาลแดง

(11) บันทึกปริมาตรของ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ที่ใช้ (มิลลิลิตร)

(12) สารละลาย Blank ทำเหมือนกับน้ำตัวอย่างทุกขั้นตอน โดยใช้ น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่าง

3.2.2 การหาความเข้มข้นของ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

(1) ปิเปตน้ำกลั่น 50.0 มิลลิลิตร เติมลงไปขวดรูปชมพู่

(2) ปิเปตสารละลาย 0.1N $\text{k}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร เติม ลงไปในขวดรูปชมพู่

- (3) ปิเปตกรด H_2SO_4 reagent ปริมาตร 15.0 มิลลิลิตร เติมลงไปในขวดรูปชมพู่ แล้วเขย่าให้เข้ากัน
- (4) วางไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- (5) หยดเฟอโรอินอินดิเคเตอร์ 3 หยด
- (6) นำไปไทเทรตด้วย $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- (7) จุดยุติจะได้สารละลายสีน้ำตาลแดง
- (8) บันทึกปริมาตรของ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ที่ใช้ (มิลลิลิตร)

การคำนวณหาความเข้มข้นของ $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ดังนี้

$$N = \frac{(0.1) (5)}{\text{ปริมาตรของ } \text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} \text{ ที่ใช้ (มิลลิลิตร)}}$$

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์

ตารางที่ ข1 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อม Acid Red ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Concentration (mg/L)	%Decolorization with time						
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr	24 hr
25	0±0.002 ^a	65.3±0.013 ^a	91.6±0.002 ^a	95.4±0.001 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
50	0±0.008 ^a	44.2±0.036 ^b	92.4±0.020 ^a	95.1±0.002 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
100	0±0.018 ^a	29.0±0.096 ^c	92.2±0.026 ^a	97.0±0.009 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
200	0±0.045 ^a	35.4±0.193 ^c	81.6±0.008 ^b	99.4±0.002 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
300	0±0.327 ^a	20.4±0.119 ^d	71.4±0.079 ^c	82.4±0.066 ^b	98.5±0.015 ^a	99.2±0.003 ^a	100±0.000 ^a
500	0±0.156 ^a	8.9±0.949 ^e	26.9±0.131 ^d	32.6±0.012 ^d	75.6±0.289 ^b	98.7±0.036 ^a	100±0.000 ^a
800	0±0.387 ^a	4.1±0.325 ^e	26.9±0.333 ^d	56.6±0.384 ^d	69.7±0.178 ^c	86.4±0.126 ^b	100±0.000 ^a
1000	0±0.306 ^a	3.3±0.315 ^e	13.6±0.853 ^e	32.1±1.198 ^e	43.0±0.336 ^d	55.4±1.024 ^c	99.4±0.006 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข2 ผลของความเข้มข้นของกลูโคส (Glucose) ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Concentration (g/L)	%Decolorization with time					
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr
0	0±0.075 ^a	23.1±0.036 ^b	40.5±0.093 ^b	50.9±0.100 ^b	52.0±0.112 ^b	64.6±0.044 ^b
2	0±0.089 ^a	43.7±0.025 ^a	98.4±0.011 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
5	0±0.045 ^a	46.7±0.116 ^a	98.6±0.002 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
10	0±0.141 ^a	48.2±0.033 ^a	96.9±0.027 ^a	98.1±0.004 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
15	0±0.097 ^a	46.2±0.098 ^a	96.4±0.010 ^a	97.1±0.012 ^a	97.7±0.005 ^a	100±0.000 ^a
20	0±0.026 ^a	44.6±0.006 ^a	96.5±0.005 ^a	96.8±0.006 ^a	97.6±0.009 ^a	100±0.000 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข3 ผลของความเข้มข้นของซูโครส (Sucrose) ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีของ Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Concentration (g/L)	%Decolorization with time					
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr
0	0±0.075 ^a	23.1±0.036 ^c	40.5±0.093 ^b	50.9±0.100 ^a	52.0±0.112 ^b	64.6±0.044 ^b
2	0±0.023 ^a	30.3±0.065 ^{cd}	94.3±0.011 ^a	97.3±0.004 ^a	98.0±0.000 ^a	100±0.000 ^a
5	0±0.100 ^a	39.3±0.108 ^{ab}	95.0±0.005 ^a	98.8±0.001 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
10	0±0.035 ^a	44.8±0.044 ^a	93.7±0.09 ^a	99.2±0.001 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
15	0±0.045 ^a	34.7±0.142 ^{ab}	95.3±0.008 ^a	98.1±0.027 ^a	99.5±0.001 ^a	100±0.000 ^a
20	0±0.089 ^a	39.1±0.085 ^{ab}	94±0.0014 ^a	97.8±0.005 ^a	98.6±0.004 ^a	100±0.000 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข4 ผลของความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต ((NH₄)₂SO₄) ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีของ Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Concentration (g/L)	%Decolorization with time					
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr
0	0±0.033 ^a	28.8±0.033 ^{ab}	73.6±0.046 ^e	73.8±0.107 ^b	75.2±0.047 ^d	83.3±0.011 ^b
0.5	0±0.045 ^a	40.5±0.228 ^{ab}	97.6±0.004 ^{ab}	98.3±0.005 ^a	99.2±0.009 ^{ab}	100±0.000 ^a
1	0±0.091 ^a	48.2±0.166 ^b	98.3±0.002 ^a	100±0.010 ^a	100±0.013 ^a	100±0.000 ^a
2	0±0.083 ^a	45.7±0.056 ^{ab}	98.1±0.010 ^a	99.6±0.028 ^a	99.2±0.001 ^{ab}	100±0.000 ^a
4	0±0.022 ^a	35.9±0.016 ^{ab}	95.3±0.008 ^b	98.3±0.022 ^a	98.5±0.009 ^{ab}	100±0.000 ^a
6	0±0.216 ^a	49.5±0.095 ^a	92.0±0.020 ^d	96.9±0.021 ^a	97.2±0.019 ^c	97.7±0.011 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข5 ผลของความเข้มข้นของยูเรีย (Urea) ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Concentration (g/L)	%Decolorization with time					
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr
0	0±0.003 ^a	28.8±0.033 ^b	73.6±0.310 ^c	73.8±0.205 ^b	75.2±0.109 ^b	83.3±0.190 ^c
0.5	0±0.060 ^a	27.0±0.186 ^b	97.0±0.001 ^a	97.3±0.001 ^a	97.3±0.001 ^a	97.3±0.001 ^b
1	0±0.038 ^a	31.1±0.032 ^a	97.4±0.020 ^a	98.4±0.002 ^a	98.4±0.002 ^a	98.4±0.002 ^a
2	0±0.059 ^a	23.7±0.026 ^c	96.9±0.011 ^a	97.9±0.008 ^a	97.9±0.008 ^a	97.9±0.008 ^{ab}
4	0±0.030 ^a	15.5±0.099 ^d	97.4±0.009 ^a	97.5±0.010 ^a	98.1±0.006 ^a	98.1±0.006 ^{ab}
6	0±0.035 ^a	14.6±0.071 ^d	89.1±0.076 ^b	97.4±0.013 ^a	97.5±0.008 ^a	97.5±0.008 ^b

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข6 ผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Concentration (g/L)	%Decolorization with time						
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr	24 hr
0	0±0.048 ^a	21.8±0.121 ^a	87.5±0.180 ^a	93.0±0.014 ^b	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
5	0±0.068 ^a	7.4±0.107 ^b	63.3±0.013 ^b	99.8±0.012 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
10	0±0.071 ^a	9.3±0.020 ^b	14.2±0.010 ^c	85.9±0.001 ^c	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
20	0±0.056 ^a	12.2±0.075 ^b	13.6±0.035 ^c	41.6±0.018 ^d	89.3±0.011 ^b	94.2±0.009 ^b	100±0.000 ^a
30	0±0.088 ^a	4.5±0.036 ^b	6.4±0.040 ^d	7.3±0.010 ^e	40.4±0.084 ^c	74.3±0.053 ^c	97.6±0.057 ^b
50	0±0.030 ^a	6.2±0.063 ^b	7.0±0.079 ^d	7.7±0.053 ^e	11.8±0.053 ^d	34.6±0.068 ^d	96.6±0.040 ^b

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข7 ผลของพีเอชต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

pH	%Decolorization with time					
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr
4	0±0.093 ^a	30.3±0.030 ^a	92.3±0.010 ^a	96.8±0.001 ^a	96.9±0.013 ^b	96.9±0.011 ^c
5	0±0.119 ^a	30.8±0.090 ^a	92.8±0.038 ^a	96.3±0.017 ^a	97.3±0.022 ^b	98.6±0.019 ^b
6	0±0.129 ^a	34.5±0.060 ^a	96.2±0.004 ^a	96.4±0.014 ^a	100±0.000 ^a	100.0±0.000 ^a
7	0±0.088 ^a	25.5±0.120 ^a	83.4±0.059 ^b	94.5±0.020 ^a	100±0.000 ^a	100.0±0.000 ^a
8	0±0.071 ^a	28.3±0.126 ^a	71.8±0.045 ^c	93.8±0.019 ^a	100±0.000 ^a	100.0±0.000 ^a
9	0±0.161 ^a	27.9±0.045 ^a	53.1±0.033 ^d	82.3±0.071 ^b	89.3±0.033 ^c	90.6±0.014 ^d

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข8 ผลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Temperature (°C)	%Decolorization with time					
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr
30	0±0.061 ^a	2.62±0.030 ^b	30.1±0.068 ^b	81.3±0.050 ^b	82.3±0.051 ^b	81.3±0.055 ^b
35	0±0.263 ^a	61.0±0.069 ^a	92.6±0.026 ^a	97.1±0.009 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
40	0±0.050 ^a	13.8±0.041 ^c	18.7±0.041 ^c	25.0±0.141 ^c	26.7±0.059 ^c	27.2±0.092 ^c

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข9 ผลของความเร็วยรอบในการเขย่าต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Rotation speed (rpm)	%Decolorization with time					
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr
100	0±0.045 ^a	19.7±0.064 ^a	72.4±0.043 ^c	79.0±0.033 ^b	81.3±0.008 ^b	81.9±0.006 ^b
160	0±0.263 ^a	61.0±0.096 ^b	92.6±0.026 ^a	97.3±0.009 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a
200	0±0.047 ^a	21.3±0.021 ^a	90.1±0.028 ^b	99.1±0.007 ^a	100±0.000 ^a	100±0.000 ^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข10 ผลของพารามิเตอร์ที่เหมาะสมที่สุดต่อการกำจัดสี Acid Red 73 โดยยีสต์ *P. kudriavzevii* ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที

Concentration (g/L)	%Decolorization with time					
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr
GA (0.5)	0.0±0.008 ^a	21.8±0.033 ^a	92.4±0.025 ^a	98.8±0.009 ^a	100.0±0.000 ^a	100.0±0.000 ^a
GA (1)	0.0±0.026 ^a	19.0±0.085 ^a	82.3±0.155 ^a	97.9±0.007 ^a	100.0±0.000 ^a	100.0±0.000 ^a
SA (0.5)	0.0±0.133 ^a	20.6±0.048 ^a	85.3±0.041 ^a	96.7±0.004 ^a	100.0±0.000 ^a	100.0±0.000 ^a
SA (1)	0.0±0.024 ^a	8.6±0.162 ^b	65.0±0.182 ^b	92.1±0.040 ^b	95.3±0.037 ^b	97.3±0.038 ^b

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

GA (0.5) : Glucose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 0.5 g/L

GA (1) : Glucose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 1.0 g/L

SA (0.5) : Sucrose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 0.5 g/L

SA (1) : Sucrose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 1.0 g/L

ตารางที่ ข11 ผลของการเจริญเติบโตของยีสต์ *P. kudriavzevii* ต่อการกำจัดสี Acid Red 73 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที

Concentration (g/L)	%Decolorization with time					
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr
GA (0.5)	0.139±0.037 ^a	0.325±0.006 ^a	0.714±0.019 ^a	1.038±0.025 ^a	1.204±0.037 ^a	1.355±0.005 ^a
GA (1)	0.137±0.019 ^a	0.263±0.022 ^{ab}	0.689±0.014 ^a	1.017±0.021 ^a	1.198±0.016 ^a	1.325±0.020 ^a
SA (0.5)	0.133±0.012 ^a	0.211±0.055 ^b	0.630±0.015 ^b	0.863±0.030 ^b	0.951±0.029 ^b	0.941±0.015 ^b
SA (1)	0.130±0.012 ^a	0.220±0.057 ^b	0.643±0.014 ^b	0.874±0.010 ^b	0.984±0.003 ^b	0.958±0.037 ^b

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

GA (0.5) : Glucose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 0.5 g/L

GA (1) : Glucose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 1.0 g/L

SA (0.5) : Sucrose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 0.5 g/L

SA (1) : Sucrose 2 g/L, (NH₄)₂SO₄ 1.0 g/L

ตารางที่ ข12 ประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม Acid Red 73 ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* ในสถานะที่ไม่มีแหล่งอาหาร

Concentration	%Decolorization with time							
	0 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	10 hr	12 hr	24 hr
%Decolorization	0.0±0.121	14.0±2.027	32.0±3.000	82.0±2.000	87.6±5.979	89.3±3.315	89.9±4.715	91.3±3.552
OD ₆₀₀	0.379±0.059	0.159±0.019	0.503±0.010	0.675±0.027	0.756±0.018	0.888±0.029	0.811±0.042	0.729±0.053

ตารางที่ ข13 ความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ที่มีผลต่อต้นผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*) ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Parameter	control	Before declorization			After declorization		
		50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
Root length (cm)	1.99±0.27 ^a	1.33±0.23 ^b	0.92±0.20 ^d	0.50±0.31 ^e	1.34±0.16 ^b	1.42±0.12 ^b	1.18±0.24 ^c
Shoot length (cm)	2.09±0.25 ^a	1.91±0.31 ^c	1.60±0.27 ^e	1.06±0.13 ^f	1.76±0.15 ^d	1.96±0.22 ^b	1.87±0.21 ^c
Stem length (cm)	4.08±0.08 ^a	3.27±0.11 ^c	2.53±0.15 ^e	1.56±0.50 ^f	3.09±0.05 ^d	3.38±0.07 ^b	3.06±0.09 ^d
weight (g)	0.5877±0.03 ^a	0.4352±0.00 ^b	0.4012±0.00 ^{bc}	0.3540±0.02 ^c	0.5889±0.02 ^a	0.6424±0.02 ^a	0.4589±0.02 ^a
%RSGL	93.3	57.8	35.6	40.0	93.3	93.3	46.7
%Inhibition		33.1	53.5	66.7	32.7	28.5	40.5

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข14 ความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ที่มีผลต่อผลของความเป็นพิษที่มีต่อต้นถั่วเขียว (*Vigna radiata*) ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Parameter	Control	Before declorization			After declorization		
		50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
Root length (cm)	1.91±0.53 ^a	1.51±0.83 ^{bcd}	1.43±0.57 ^d	1.06±0.35 ^e	1.66±0.39 ^b	1.56±0.49 ^{cd}	1.37±0.42 ^{bc}
Shoot length (cm)	4.94±0.43 ^a	3.59±0.61 ^c	3.63±0.072 ^c	3.53±0.49 ^{cd}	4.88±0.50 ^a	4.26±0.51 ^b	3.33±0.43 ^d
Stem length (cm)	6.90±0.38 ^a	5.10±0.53 ^d	5.60±0.53 ^d	4.59±0.40 ^e	6.54±0.40 ^b	5.82±0.42 ^c	4.77±0.36 ^d
weight (g)	0.5920±0.06 ^{abc}	0.4905±0.08 ^{ab}	0.5395±0.01 ^{bcd}	0.4281±0.04 ^a	0.5511±0.01 ^{bcd}	0.6041±0.01 ^{cd}	0.5804±0.05 ^{cd}
%RSGI	100	100	100	100	100	100	100
%Inhibition		21.1	25.1	44.6	12.9	18.3	15.6

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข15 ความเป็นพิษของสีย้อม Acid Red 73 ที่มีผลต่อต้นผักกาดกวางตุ้ง (*Brassica pekinensis*) ก่อนและหลังการบำบัดด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Parameter	Control	Before declorization			After declorization		
		50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
Root length (cm)	3.81±0.26 ^a	3.28±0.41 ^b	2.09±0.58 ^d	1.88±0.40 ^f	3.75±0.49 ^a	2.97±0.37 ^c	2.83±0.54 ^f
Shoot length (cm)	2.77±0.23 ^b	2.60±0.53 ^c	2.29±0.44 ^d	1.97±0.43 ^e	3.40±0.39 ^a	2.72±0.34 ^b	2.78±0.26 ^b
Stem length (cm)	6.58±0.18 ^b	5.88±0.36 ^c	4.38±0.34 ^d	3.58±0.34 ^f	7.15±0.41 ^a	5.68±0.24 ^c	5.68±0.33 ^c
weight (g)	0.0254±0.00 ^{ab}	0.0245±0.00 ^{ab}	0.0244±0.00 ^{ab}	0.0205±0.00 ^a	0.0294±0.00 ^b	0.0299±0.00 ^b	0.0304±0.00 ^b
%RSGI	100	100	100	100	100	100	100
%Inhibition		13.9	45.1	50.6	1.6	22.2	25.6

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันซึ่งกำกับบนตัวเลขในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ข16 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อม Acid Red 73 ยีสต์ *P. kudriavzevii* สามารถกำจัดสีที่เวลาต่าง ๆ และการเจริญเติบโตของเชื้อในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง

Time (Day)	%Decolorization	Optical density (OD ₆₀₀)
0	0.00±0.000	0.350±0.008
1	97.1±0.108	1.023±0.021
2	99.2±0.315	0.976±0.063
3	97.4±0.125	0.904±0.003
4	98.4±0.036	0.810±0.002
5	95.9±0.287	0.810±0.002
6	97.7±0.063	0.824±0.004
7	95.6±0.461	0.821±0.013
8	97.1±0.461	0.762±0.003
9	96.6±0.253	0.876±0.004
10	96.0±0.630	0.815±0.008

ตารางที่ ข17 ผลของค่าซีโอดีและเปอร์เซ็นต์การกำจัดซีโอดีของสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ในระบบถังปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง ก่อนและหลังการบำบัด ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii*

Time (Day)	COD (mg/L)	%COD removal
0	4,417.3±273.2	
1	946.6±0.0	78.6
2	631.0±273.2	85.7
3	788.8±273.2	82.1
4	631.0±273.2	85.7
5	347.1±54.6	92.1
6	646.8±287.9	85.4
7	567.9±95.1	87.1
8	489.1±27.3	88.9
9	757.2±245.9	82.9
10	646.8±32.9	85.4

ตารางที่ ข18 ผลของของแข็งแขวนลอยสารละลายสีย้อม Acid Red 73 ในระบบถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง (Continuous system) ก่อนและหลังการบำบัด ด้วยยีสต์ *P. kudriavzevii* เปรียบเทียบการหาของแข็งแขวนลอยระหว่างแบบไม่ปั่นเหวี่ยงและปั่นเหวี่ยง

Time (Day)	Suspended solid (mg/L)	
	Non centrifuge	Centrifuge
0	70.7±5.34	70.7±5.34
1	48.7±2.64	34.7±0.94
2	46.7±3.46	10.0±0.66
3	29.3±1.91	17.3±0.07
4	40.0±2.18	8.7±0.02
5	32.7±1.87	9.3±0.83
6	36.7±0.00	6.0±0.79
7	28.7±2.01	6.7±0.90
8	2.0±2.91	6.0±4.74
9	16.7±2.80	10.2±4.86
10	8.7±3.44	6.7±0.61

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวนุรดา สะบาหানাเลาะ
 รหัสนักศึกษา 5920320301
 วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมี-ชีววิทยา	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2559

ทุนการศึกษา

ทุนอุดหนุนค่าธรรมเนียมการศึกษา จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปี 2559

ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปี 2560

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

นุรดา สะบาหানাเลาะ อุไรวรรณ ชุนจันทร์ และ ปรีชา กสิกรรมไพบุลย์. 2017. การคัดแยกยีสต์และศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ. ความหลากหลายทางจุลชีวัน: รู้เท่าทันและการประยุกต์. มอบ.วิจัย ครั้งที่ 11, ณ อาคารเทพรัตนสิริปภา มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, อุบลราชธานี, 13-14 กรกฎาคม 2560, 45-52.