

ความสามารถในการกำจัดสีย้อมผ้าประเภทรีแอกทีฟของ *BURKHOLDERIA GLUMAE*  
DECOLORIZATION POTENTIAL OF *BURKHOLDERIA GLUMAE* FOR  
REACTIVE TEXTILE DYE REMOVAL

วีรานุช หลาง , ธนสิริ มีชัย และ วิชชุพร จันทร์ศรี

สาขาจุลชีววิทยา สายวิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 10900

สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 10900

ประสิทธิภาพของเชื้อผงจุลินทรีย์ทางการค้าซึ่งจำแนกเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ *Burkholderia glumae* ถูกนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการเพื่อการย่อยสลายสีย้อมผ้า โดยทดสอบการกำจัดสีย้อมผ้าในน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งผสมสีโครงสร้างอะโซ 2 ชนิด (Remazol Red RGB [RR] และ Cibacron Red C2G [CR]) และโครงสร้างแอนทราควิโนน 2 ชนิด (Remazol Navy Blue RGB [RB] และ Cibacron Turquoise HGN [CT]) โดยมีการเติมกลูโคสกับสารสกัดจากยีสต์เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการกำจัดสีย้อมในช่วงความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7-8 และความเข้มข้นเริ่มต้นของสีเท่ากับ 200 มิลลิกรัม/ลิตร แป้งมันสำปะหลังและปุ๋ยที่เติมลงไปแทนอาหารเลี้ยงเชื้อปกติลดการเจริญและความสามารถในการย่อยสลายสี การเพาะเลี้ยงในสภาวะเดิมอากาศพบว่าจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นในช่วงประมาณ 3 วันแรก กระบวนการบำบัดแบบไม่เติมอากาศให้ผลเร่งการกำจัดสีได้ดีกว่าการบำบัดแบบเดิมอากาศ กระบวนการบำบัดน้ำเสียซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ช่วงได้แก่ช่วงที่เติมอากาศและไม่เติมอากาศถูกออกแบบขึ้นเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์และย่อยสลายโครงสร้างแอมโรแมติกของสี โดยสามารถกำจัดสีในน้ำทิ้งได้ร้อยละ 76 ในเวลา 7 วัน

คำสำคัญ : การกำจัดสี / สีย้อมผ้า / สีย้อมผ้า / น้ำเสีย / บูโคเดอเรีย กลูเม

Efficacy of commercial microbial inocula, identified as *Burkholderia gluma*, was evaluated in a laboratory for textile dye biodegradation. Synthetic textile wastewater contained two azo reactive dyes (Remazol Red RGB [RR] and Cibacron Red C2G [CR]) and two anthraquinone dyes (Remazol Navy Blue [RB] and Cibacron Turquoise [CT]) and also supplemented with glucose and yeast extract as nutrients. The decolorization condition was found to be effective at pH 7-8 and 200 mg/l of initial dye concentration. Cassava starch and fertilizer supplied as a nutrient in the synthetic wastewater decreased the cell growth and dye biodegradation. In an aerated cultivation, cell growth increased during approximately first 3 days but decreased the dye removal efficiency. Anoxic condition was found to rapidly induce the decolorization potential. Two subsequent stages integrating anoxic-aerobic mode was designed to increase suspended biomass and completely degrade the aromatic dye. The dye removal efficacy was found to be 76% for the real wastewater.

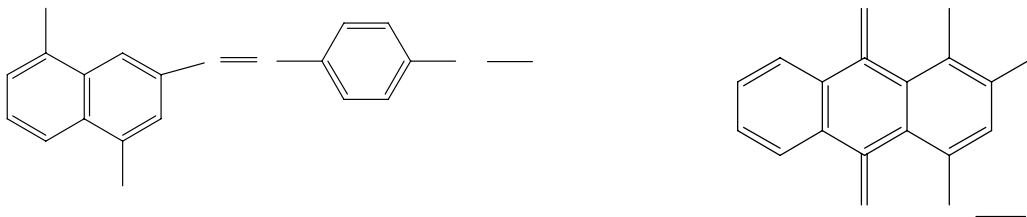
Keywords : decolorization / reactive dye/textile dye / wastewater / *Burkholderia glumae*

## 1. บทนำ

อุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นอุตสาหกรรมหลักที่สำคัญของประเทศไทย ในปีหนึ่งๆ โรงงานฟอกย้อมจะใช้สีย้อมผ้าเป็นจำนวนมากและมีการปล่อยน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมผ้าออกมาสู่สิ่งแวดล้อมในปริมาณที่มากตามไปด้วยเช่นกัน จนก่อให้เกิดปัญหาภาวะมลพิษและทัศนียภาพทางสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้สีย้อมผ้าแทบทุกชนิดมีส่วนประกอบที่เป็นพิษ ย่อยสลายตามธรรมชาติได้ยาก บางชนิดมีโครงสร้างทางเคมีเป็นพวกแอมโรแมติกเอมีน (aromatic amine) (ภาพที่ 1) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง นอกจากนี้สีที่ปนเปื้อนลงไปแหล่งน้ำยังมีผลคั่งค้างการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนและพืชน้ำ ซึ่งมีผลกระทบต่อห่วงโซ่อาหารในระบบนิเวศโดยตรง น้ำทิ้งที่จะระบายจากโรงงานสู่มแม่น้ำลำคลองหรือแหล่งธรรมชาติจึงควรได้รับการบำบัดให้ได้มาตรฐานเสียก่อน โดยทั่วไปการกำจัดสีของน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมจะใช้วิธีการทางกายภาพและเคมี เช่น การใช้โอโซน (Ozone Treatment) การแลกเปลี่ยนไอออน (Ion Exchange) การกรองด้วยแผ่นเยื่อ (Membrane Filtration) และการตกตะกอนด้วยสารเคมี (Chemical Coagulation) วิธีบำบัดดังกล่าวมีข้อเสียคือมีสัจฉเคมี และสารที่มีความเป็นพิษเกิดขึ้นในปริมาณมาก รวมทั้งค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูง การใช้วิธีบำบัดทางชีวภาพจึงน่าจะเหมาะสมในการนำมาบำบัดน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม มีรายงานถึงการย่อยสลายโครงสร้างของสีย้อมกลุ่มอะโซ (ประกอบด้วยหมู่ -N=N- เกาะกับวงแอมโรแมติก) และแอนทราควิโนน (ประกอบด้วยหมู่ conjugated aromatics) โดยจุลินทรีย์จำพวกยีสต์ ราและแบคทีเรียที่ย่อยบริเวณหมู่โครโมฟอร์และลดความเป็นพิษของสี Lucas และคณะ (2006) ศึกษาการย่อยสีรีแอกทีฟกลุ่มไดอะโซโดยยีสต์ *Candida oleophila* ที่แยกได้จากน้ำทิ้งในโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก พบว่าการย่อยเกิดขึ้นในช่วง exponential growth phase และเสนอว่าการย่อยเกิดโดยเอนไซม์ที่มีกิจกรรมคล้าย azoreductase ที่พบในแบคทีเรีย Duran และ Esposito (2000) พบว่าการย่อยสีเกิดโดยเอนไซม์ peroxidase (LiP และ MnP), phenoloxidases (Laccase) และ dioxygenase ในรา *Phanerochaete chrysosporium* โดยกระบวนการทำให้จับเป็นตะกอนหรือการเปลี่ยนรูปไปเป็นสารอื่น Chang และคณะ (2001) และ Chen และคณะ (2002) ได้ศึกษาลักษณะทางชีวภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas luteola* ที่คัดแยกได้จากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานฟอกย้อมเพื่อการขจัดสีกลุ่มอะโซ Chen และ Lin (2007) ได้ทดสอบการตรึงเชื้อแบคทีเรียชนิดดังกล่าวในวัสดุตรึงเพื่อการบำบัดน้ำทิ้งสังเคราะห์ นอกจากนี้ Field และคณะ (1995) เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการขจัดสีแบบเติมอากาศ และไม่เติมอากาศ พบว่าแบบไม่เติมอากาศมีประสิทธิภาพในการขจัดสีมากกว่าแบบเติมอากาศ

งานวิจัยนี้ได้นำปัญหาจากการเยี่ยมชมสถานที่จริงของบ่อบำบัดน้ำเสียของบริษัทกำแพงแสนพัฒนา จำกัด อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม และปรึกษากับผู้ประกอบการ พบว่าโรงงานยังคงมีปัญหาในขั้นตอนของการบำบัดน้ำทิ้งด้วยวิธีแอกทิเวเต็ดจสัจฉที่ใช้หัวเชื้อผงการค้าที่ไม่ระบุชนิดและสายพันธุ์ที่โรงงานซื้อจากบริษัทผู้ผลิต จุลินทรีย์ผง การย่อยสลายในบ่อบำบัดใช้เวลานาน และสีย้อมบางชนิดถูกย่อยสลายได้ยาก โดยเฉพาะสีย้อมประเภทรีแอกทีฟ ทำให้น้ำทิ้งที่ปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมยังคงมีสีตกค้างอยู่ นอกจากนี้โรงงานยังมีความเชื่อเรื่องการเติมน้ำเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสี จึงมีการเติมน้ำในบ่อบำบัดตลอด 24 ชั่วโมง คณะผู้วิจัยได้ร่วมกับผู้ประกอบการนำข้อมูลมาศึกษา เพื่อพยายามหาต้นเหตุของปัญหาที่ทำให้ระบบการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีแอกทิเวเต็ดจสัจฉด้อยประสิทธิภาพว่าเกิดจากผงเชื้อทางการค้าหรือเกิดจากระบบการบำบัดที่ไม่เหมาะสม โดย

ทำการตรวจสอบลักษณะการย่อยสลายของเชื้อทางการค้านี้เพื่อทดสอบความสามารถในการย่อยสีในกลุ่มรีแอกทีฟ 2 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มอะโซและแอนทราควิโนน (ภาพที่ 1) ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลาย เช่น ค่าพีเอช, ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อม, สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญ, คุณสมบัติของน้ำเสียในบ่อบางประการ รวมถึงความต้องการอากาศในการเจริญของเชื้อและการย่อยสลายสี เพื่อเป็นแนวทางการแก้ปัญหาและเพิ่มประสิทธิภาพเชื้อทางการค้าชนิดนี้ในการขจัดสีย้อมในบ่อบำบัดและการวางแผนออกแบบการกำจัดน้ำเสียของโรงงานต่อไป



ภาพที่ 1 ลักษณะโครโมฟอร์ในโครงสร้างของสีรีแอกทีฟ (วิมลรัตน์, 2550)

## 2. วิธีการทดลอง

### 2.1 การจำแนกชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อทางการค้า

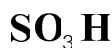
การวิเคราะห์จำแนกเชื้อทำได้โดยการ **SO<sub>3</sub>H** ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อผงที่แยกออกมาเป็นเชื้อบริสุทธิ์และใช้ชุด Microplates ตรวจสอบลักษณะความต้องการสารอาหารทางชีวเคมีของแบคทีเรีย (ใช้แหล่งคาร์บอนทั้งหมด 94 ชนิด) แล้วนำผลการตรวจสอบมาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง BioLog Microlog™ system (Biolog, Inc., USA; ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพทางเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน) **N** **N** **NH**

### 2.2 การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสีย้อมรีแอกทีฟชนิดต่างๆ

สีย้อมผ้ารีแอกทีฟที่ใช้ในการทดลองมี 4 ชนิด ได้แก่ RB RR CT และ CR (ตารางที่ 1) สีย้อมทั้งหมดได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทกำแพงแสนพัฒนา จำกัด อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม

#### 2.2.1 การเตรียมสารละลายสีย้อมผ้า

ชั่งน้ำหนักสี (RB RR CT และ CR) 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร กวนผสมให้สีย้อมผ้าละลายจนหมด จากนั้นปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จะได้ stock สารละลายสีความเข้มข้น 10 กรัม/ลิตร นำไปเจือจางเพื่อสแกนหาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV/Visible Spectrophotometer (Ultrospec 3000) พบว่าค่า  $\lambda_{max}$  ของสี RB RR CT และ CR มีค่าเท่ากับ 604, 532, 667 และ 531 นาโนเมตร ตามลำดับ



Monoazo type

X =

ตารางที่ 1 ชนิดและคุณสมบัติของสีรีแอกทีฟที่ใช้ในการทดลอง (Product catalog, 2008)

ชื่อทางการค้า (Trade name)	ชื่อทางวิทยาศาสตร์ (Scientific name)	สี (Color)	กลุ่มโครงสร้างหลัก (Chromophore)	ความยาวคลื่นแสง ที่ดูดกลืนมากที่สุด (นาโนเมตร)
Remazol Navy Blue RGB	Reactive Blue 250	น้ำเงินอม ม่วง	แอนทราควิโนนต่อ กับไวนิลซัลโฟน	604
Cibacron Turquoise HGN	Reactive Blue 80	ฟ้าน้ำทะเล	แอนทราควิโนนต่อ กับ phthalocyanine	667
Remazol Red RGB	Reactive Red 61	แดงอมส้ม	อะโซต่อกับไวนิล ซัลโฟน	532
Cibacron Red C2G	Reactive Red 281	แดงเข้มอม ส้ม	อะโซ	531

### 2.2.2 การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายของเชื้อทางการค้าบนอาหารวุ้นที่ผสมสีรีแอกทีฟ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YG agar มีสูตรดังนี้ (ต่อปริมาณน้ำ 1 ลิตร) กลูโคส 1.25 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 3 กรัม วุ้น 15 กรัม และผสมสีย้อมผ้า RB RR CT และ CR ที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเชื้อแบบที่เรียกว่าเลี้ยงบนอาหาร YG slant ลงบนอาหารวุ้นผสมสีที่เตรียมไว้ด้วยเทคนิค point inoculation บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ) วัดบริเวณใสของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร YG agar และขนาดของโคโลนีเมื่อบ่มเป็นเวลา 14 วัน

### 2.3 การศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเพิ่มความสามารถของเชื้อทางการค้าในการย่อยสลายสีย้อม

#### 2.3.1 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสีรีแอกทีฟต่อการย่อยสลาย และการเจริญของเชื้อทางการค้าด้วยการเพาะเลี้ยงแบบเดิมอากาศ

เตรียมอาหารเหลว YG medium ที่ผสมสีย้อมผ้า RB RR CT และ CR ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 50, 100, 200, 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วดูดกลืนเชื้อที่เลี้ยงไว้ในอาหาร YG (เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12-15 ชั่วโมง บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ซึ่งเซลล์จะเข้าสู่ช่วงปลาย exponential phase หรือช่วงต้นของ stationary phase) ใส่ลงไป 2 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่า ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างไปหาปริมาณสี, ความขุ่นของเชื้อ และทำ dilution pour plate count ที่ระดับความเจือจาง  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  ทุก 24 ชั่วโมง

#### 2.3.2 ผลของสภาวะกรด-ด่างต่อการย่อยสลาย และการเจริญของเชื้อทางการค้าแบบเดิมอากาศ

เตรียมอาหารเหลว YG medium ในขวดรูปชมพู่ 125 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วใส่สีย้อมผ้า RB RR CT และ CR ที่มีความเข้มข้น (ข้อ 2.3.1) ที่เลือกไว้

โดยกรองผ่านด้วย Syringe filter sterile-EO ปรับพีเอชด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 3 เปอร์เซนต์ (โดยปริมาตร/ปริมาตร) และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 เปอร์เซนต์ (โดยกรัม/ปริมาตร) เพื่อให้พีเอชของสารละลายยีสต์มีค่าตั้งแต่ 7-10 จากนั้นดูดกลืนเชื้อที่เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 2.3.1 ใส่ลงไป 2 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างไปหาปริมาณสี ความขุ่นของเชื้อ และทำ dilution pour plate count ที่ระดับความเจือจาง  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  ทุก 24 ชั่วโมง

### 2.3.3 การเปรียบเทียบการย่อยสลายและการเจริญของเชื้อทางการค้าโดยการเพาะเลี้ยงแบบเดิมอากาศและไม่เดิมอากาศ

เตรียมอาหารเหลว YG medium ในขวดรูปชมพู่ 125 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วใส่ยีสต์ RB, RR, CT และ CR ที่มีความเข้มข้น (ข้อ 2.3.1) ที่เลือกไว้ โดยใช้ Syringe filter sterile-EO ปรับพีเอชให้เท่ากับ 8 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 เปอร์เซนต์ (โดยกรัม/ปริมาตร) จากนั้นดูดกลืนเชื้อที่เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 2.3.1 ใส่ลงไป 2 มิลลิลิตร นำเข้าในตู้บ่มเชื้อ เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างไปหาปริมาณสีที่เหลืออยู่โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงเฉพาะของแต่ละสี แล้วเทียบหาปริมาณสี (หน่วยมิลลิกรัม/ลิตร) จากกราฟมาตรฐาน, ความขุ่นของเชื้อและทำ dilution pour plate count ที่ระดับความเจือจาง  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  ทุก 24 ชั่วโมง

### 2.3.4 ความต้องการสารอาหารของเชื้อทางการค้าโดยการเพาะเลี้ยงแบบเดิมอากาศ

สารอาหารที่ใช้ในการทดลองมี 2 ชนิด ได้แก่ แป้งมันสำปะหลัง และปุ๋ยสูตร 16-16-16 (ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทกำแพงแสนพัฒนา จำกัด) ทดสอบกับสารละลายยีสต์ 2 ชนิด ได้แก่ RR และ CT เพื่อเป็นตัวแทนของสีกลุ่มที่มีโครโมฟอร์ชนิดอะโซและแอนทราควิโนน ตามลำดับ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวโดยใส่แป้งมันสำปะหลังและปุ๋ย ในขวดรูปชมพู่ 125 มิลลิลิตร ชนิดละ 1 กรัม จำนวน 2 ขวด เติมน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ใส่ยีสต์ RR และ CT ที่มีความเข้มข้น (ข้อ 2.3.1) ที่เลือกไว้ โดยใช้ Syringe filter sterile-EO ปรับพีเอชให้เท่ากับ 8 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 เปอร์เซนต์ (โดยกรัม/ปริมาตร) แล้วดูดกลืนเชื้อที่เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 2.3.1 ใส่ลงไป 2 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างไปหาปริมาณสีและทำ dilution pour plate count ที่ระดับความเจือจาง  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  ทุก 24 ชั่วโมง

### 2.3.5 ความต้องการสารอาหารและแร่ธาตุของเชื้อทางการค้าด้วยการเพาะเลี้ยงแบบไม่เดิมอากาศ

ทำการทดลองด้วยวิธีการ เช่นเดียวกับข้อ 2.3.4 นำขวดที่เตรียมได้เข้าในตู้บ่มเชื้อ เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างไปหาปริมาณสี และทำ dilution pour plate count ที่ระดับความเจือจาง  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  ทุก 24 ชั่วโมง

## 2.4 การทดสอบการย่อยสลายน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมโดยใช้เชื้อทางการค้า

### 2.4.1 การศึกษาตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อม

นำตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมมาวัดค่าพีเอช และนำไปสแกนหาค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งเป็นความยาวคลื่นของสารละลายสีย้อมต่างๆ ในน้ำทิ้ง นำไปเขียนกราฟเพื่อเทียบสัดส่วนก่อนและหลังการย่อยสลายโดยเชื้อผงทางการค้า

### 2.4.2 การทดสอบการย่อยสลายน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อม

นำน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อม มาเติมเชื้อบริสุทธิ์ และสารอาหารได้แก่กลูโคสและสารสกัดจากยีสต์ในสัดส่วนเท่ากับอาหาร YG ปรับพีเอชของอาหารให้เท่ากับ 8 เพาะเลี้ยงแบบเติมอากาศเป็นเวลา 3 วัน เพื่อเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย จากนั้นตามด้วยการหยุดเติมอากาศ เพาะเลี้ยงต่อเพื่อให้แบคทีเรียย่อยสลายสีต่อไป

## 3. ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

### 3.1 การจำแนกชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อทางการค้า

ผงเชื้อจุลินทรีย์ทางการค้าถูกนำมาคัดแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์และตรวจสอบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าเชื้อชนิดนี้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อนสั้น ผลการทดสอบความต้องการสารอาหารทางชีวเคมีด้วยเทคนิค BioLog Microlog™ system พบว่าเชื้อที่แยกได้นี้เป็นสายพันธุ์ *Burkholderia glumae* (ค่าความน่าจะเป็นเท่ากับ 0.93) *B. glumae* จัดเป็นเชื้อในกลุ่ม obligate aerobe มีชื่อเดิมว่า *Ps. glumae* มีรายงานที่ *B. glumae* AU6208 ทำให้เกิดโรคเน่าของเมล็ดข้าวเปลือกและเป็นเชื้อฉวยโอกาส (opportunistic pathogen) ทำให้เกิดการติดเชื้อในปอด (Tsuchida และคณะ, 1996) อย่างไรก็ตาม *B. glumae* ATCC33617 มีรายงานว่าไม่สร้าง toxoflavin และไม่เป็นเชื้อก่อโรค (Devescovi และคณะ, 2007) เชื้อกลุ่ม *Pseudomonas* มีรายงานถึงการนำมาใช้กำจัดสีย้อมโครงสร้างอะไซ เช่น *Ps. luteola* (Chen, 2002 และ Chen และ Lin, 2007)

### 3.2 การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสีย้อมรีแอกทีฟชนิดต่างๆ

การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสีย้อมรีแอกทีฟ ด้วยวิธี point inoculation วัดบริเวณใสรอบโคโลนี และขนาดของโคโลนีบนผิวหน้าอาหารแข็ง ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 14 วัน พบว่าโคโลนีของเชื้อเจริญได้ดีและสีของโคโลนีเปลี่ยนไปตามสีที่ผสมในอาหาร โดยเฉพาะโคโลนีที่เลี้ยงบนอาหารที่ผสมสี CT อย่างไรก็ตามการเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีกลับเกิดค่อนข้างแคบถึงแม้จะติดตามการเจริญของเชื้อเป็นเวลานานถึง 14 วัน เพื่อสังเกตความสามารถในการย่อยสลายสีบนอาหารวุ้น โดยที่สีย้อมผ้า RB มีบริเวณใสมากกว่าสีย้อมผ้า RR CR และ CT ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ขนาดโคโลนีและบริเวณโซนในสโรวโคโลนีเชื้อ *Burkholderia glumae* บนผิวหน้าอาหารแข็งเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน

สีรีแอกทีฟ	เส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร)	โซนในสโรวโคโลนี (เซนติเมตร)
Remazol Navy Blue RGB	1.50	0.50
Cibacron Turquoise HGN	1.30	0.16
Remazol Red RGB	1.50	0.25
Cibacron Red C2G	1.40	0.20

### 3.3 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มความสามารถของเชื้อทางการค้าในการย่อยสลายสีย้อม

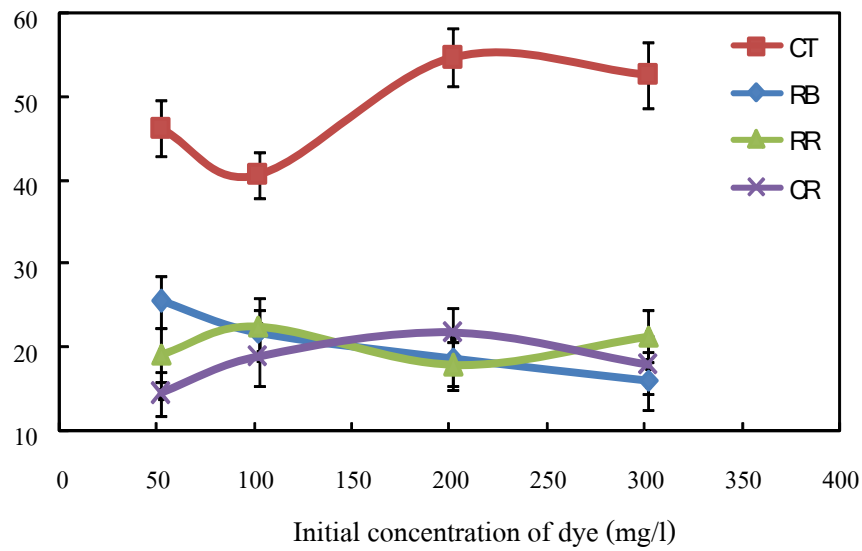
#### 3.3.1 ความเข้มข้นและพีเอชของสารละลายสีย้อม

จากการทดสอบความเข้มข้นเริ่มต้นและค่าพีเอชของสีย้อมที่มีผลต่อการย่อยสลายสี พบว่า RB และ CR ให้ผลการกำจัดสีดีที่สุดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 200 มิลลิกรัม/ลิตร ในขณะที่ RB และ RR ให้ผลการกำจัดสีได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 และ 100 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 2) ส่วนค่าความเป็นด่างอ่อนๆ (pH 7-8) (ภาพที่ 3) มีผลทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดสีของเชื้อ *B. glumae* สูงขึ้น อย่างไรก็ตามก็ตีจากข้อมูลที่ได้จากโรงงานฟอกย้อมพบว่าน้ำทิ้งที่ปล่อยออกจากโรงงานมักมีพีเอชเป็นด่างแก่ (8-10) เนื่องจากกรรมวิธีการย้อมผ้า และมีสีตกค้างออกมาในน้ำทิ้งที่ระดับความเข้มข้นประมาณ 200 มิลลิกรัม/ลิตร จึงเลือกค่าพีเอชของสารละลายสีที่ 8 และความเข้มข้นสีเริ่มต้นเท่ากับ 200 มิลลิกรัม/ลิตร มาทำการศึกษการย่อยสลายสีย้อมในการทดลองต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่าสี CT และ RB ซึ่งเป็นสีกลุ่มแอนทราควิโนนถูกกำจัดได้ง่ายกว่าสี RR และ CR ซึ่งเป็นสีกลุ่มอะโซ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Nigam (1996) ที่กล่าวว่าโครงสร้างของสีกลุ่มอะโซเป็นวงแอมดิคที่มีความซับซ้อนและที่สำคัญคือหมู่อะโซมีคุณสมบัติเป็น electron-withdraw ที่แข็งแรงทำให้ป้องกันการเข้าทำปฏิกิริยาจากเอนไซม์ออกซิเจนเนส ซึ่งระบบการเติมออกซิเจนปกติไม่สามารถย่อยสลายสีกลุ่มอะโซได้ดีเท่าที่ควร

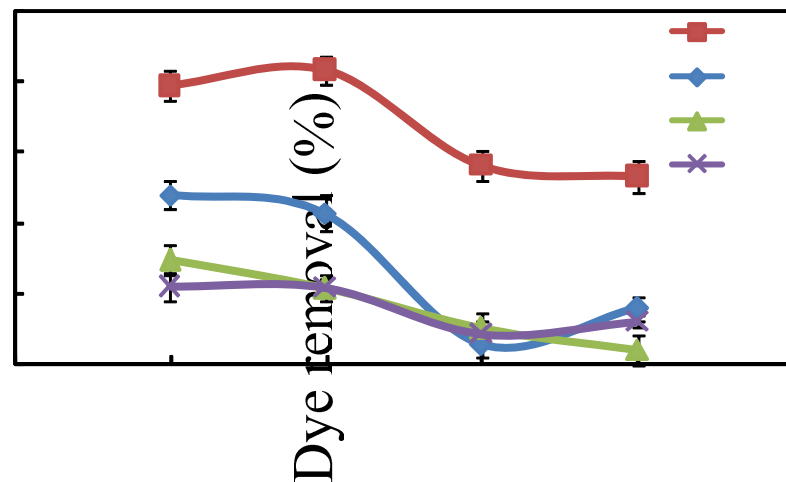
#### 3.3.2 การเติม/ไม่เติมอากาศ

เมื่อศึกษาการย่อยสลายสีด้วยกระบวนการบำบัดแบบเติมอากาศและไม่เติมอากาศด้วยการเพาะเลี้ยงในขวดพบว่าผลการเจริญของเชื้อเพิ่มมากขึ้นในระหว่างการบำบัดแบบเติมอากาศสำหรับทุกสี ส่วนประสิทธิภาพการกำจัดสีในสภาพเติมอากาศ (ภาพที่ 4) ของสี RB RR และ CR เท่ากับ 40.02, 18.80 และ 18.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับลำดับความกว้างของบริเวณโซนในสโรวโคโลนีบนอาหารแข็ง (ตารางที่ 2) อย่างไรก็ตามสี CT ซึ่งให้โซนใสแคบที่สุดกลับให้ประสิทธิภาพการกำจัดสีสูง (80.56 เปอร์เซ็นต์) ใกล้เคียงกับการบำบัดแบบไม่เติมอากาศ (83.43 เปอร์เซ็นต์) จากการสังเกตตะกอนของเชื้อที่เปลี่ยนเป็นสีฟ้า น้ำทะเลของสี CT และข้อมูลจากการทดลองข้างต้นทำให้สรุปได้ว่าสี CT มีการย่อยสลายได้ดีมากในสภาพมีอากาศ แต่ประสิทธิภาพการกำจัดสีแทบจะทั้งหมดนั้นเกิดขึ้นจากกระบวนการดูดซับของสีไปไว้ที่เซลล์ ซึ่งประสิทธิภาพการดูดซับสีจะสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้นในช่วงที่มีการเติมอากาศ Walker และ Weatherley (2000) ศึกษาการดูดซับสีโดยนำ

เซลล์ของแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ มาทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาใส่ลงในสารละลายสีกลุ่มแอนทราควิโนนที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 250 มิลลิกรัม/ลิตร พีเอช 7 แล้ววัดความเข้มข้นของสีที่เหลืออยู่ที่จุดสมดุล พบว่าประสิทธิภาพการกำจัดสีเท่ากับ 13, 19 และ 18 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเชื้อ *Bacillus gordonae*, *B. benzeovorans* และ *Ps. putida* ตามลำดับ ถึงแม้ว่า CT จะมีโครงสร้างจัดอยู่ในกลุ่มแอนทราควิโนนที่ย่อยสลายได้ง่ายกว่ากลุ่มอะโซ แต่การย่อยสลายที่เกิดขึ้นได้ยากของ CT น่าจะเกิดขึ้นจากหมู่แทนที่ซึ่งเป็น phthalocyanine macrocycle ทำให้ CT มีโครงสร้างซับซ้อนย่อยสลายยาก

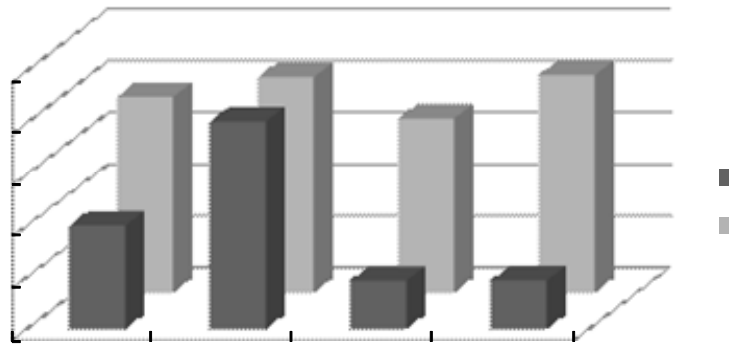


ภาพที่ 2 ผลของความเข้มข้นสีเริ่มต้นต่อประสิทธิภาพการขจัดสีรีแอกทีฟ 4 ชนิด ด้วยกิจกรรมการย่อยสลายของเชื้อ *Burkholderia glumae* ที่เพาะเลี้ยงแบบเดิมอากาศเป็นเวลา 7 วัน ที่พีเอชเท่ากับ 6.8



ภาพที่ 3 ผลของพีเอชต่อประสิทธิภาพการขจัดสีรีแอกทีฟ 4 ชนิด ด้วยกิจกรรมการย่อยสลายของเชื้อ *Burkholderia glumae* ที่เพาะเลี้ยงแบบเดิมอากาศเป็นเวลา 7 วัน ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีเท่ากับ 200 มิลลิกรัม/ลิตร





ภาพที่ 4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อม RB และ CT ในสภาวะที่มีอากาศนิ่งและไม่มีอากาศนิ่ง ด้วยกิจกรรมของเชื้อ *Burkholderia glumae* ในกระบวนการบำบัดแบบเติมอากาศและไม่เติมอากาศ

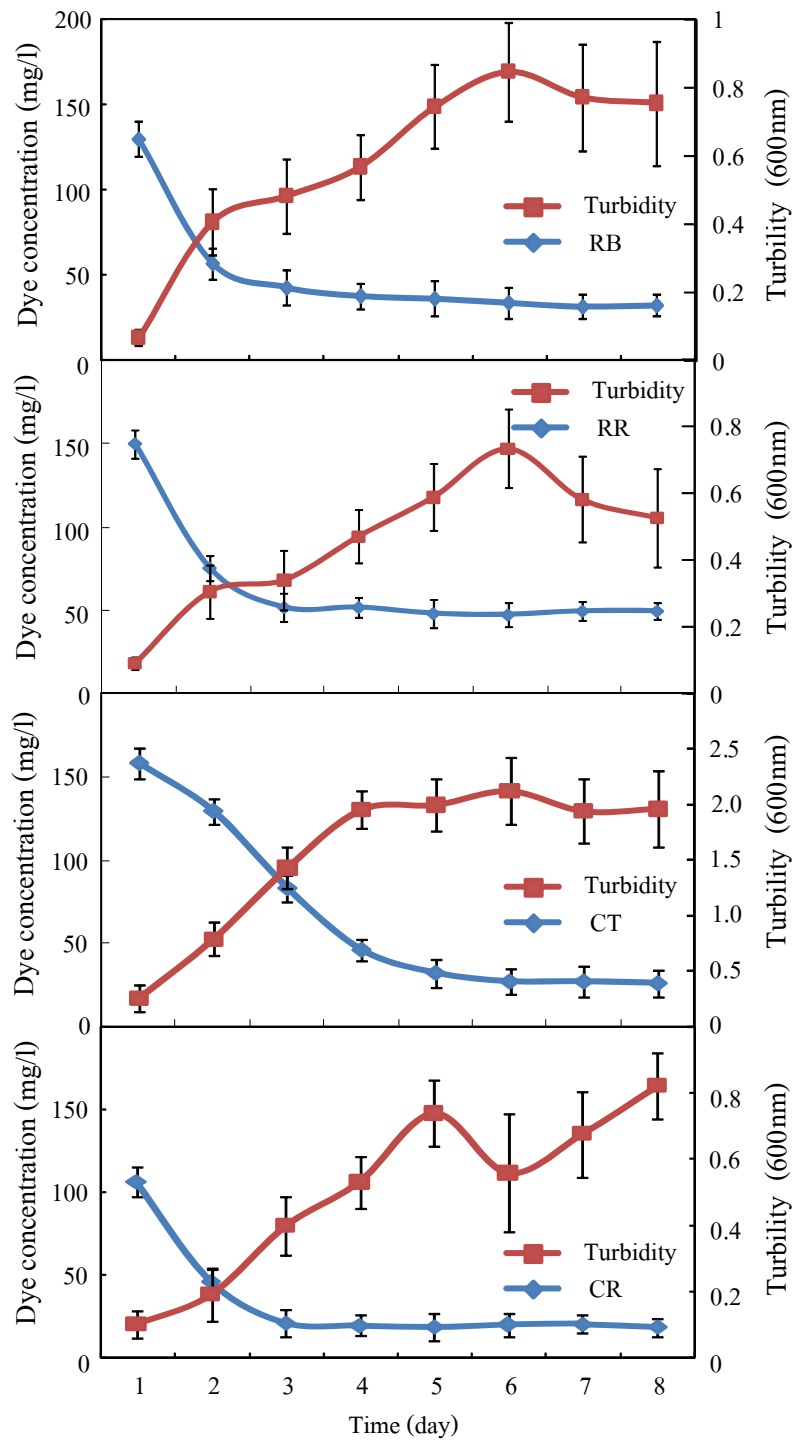
สำหรับสี RB นั้นการย่อยสลายจะเกิดได้ดีในสภาวะที่ไม่มีอากาศเติมมากกว่าการเติมอากาศ (ภาพที่ 4) โดยมีค่าประสิทธิภาพการกำจัดสีในแต่ละระบบเท่ากับ 75.94 และ 40.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Itoh (1998) ศึกษาการย่อยสลายสีย้อมฟลูออโรแอนโทราควิโนนในสภาพที่มีออกซิเจนด้วยกระบวนการ oxidative degradation โดยเชื้อ *Coriolus vesicolor* พบว่าเกิดโดยการเติมหมู่ออกซิเจนให้กับโครโมฟอร์โดยเอนไซม์ออกซิเจนเนสเป็นผลให้เกิดสารมัธยันตร์ lactone ซึ่งจะถูกรีดิวซ์โดยโครโมฟอร์บริเวณหมู่คาร์บอนและออกซิเจนต่อไปเป็นสาร phthalic acid เช่นเดียวกับกลไกการย่อยสลายกลุ่มแอนโทราควิโนนของ *Sphingomonas herbicidovorans* FL ถูกเสนอโดย Fan และคณะ (2008) ว่าเกิดกระบวนการย่อยสลายโดยการเติมหมู่ออกซิเจนโดยเอนไซม์ออกซิเจนเนส จากนั้นเกิดกระบวนการไฮดรอกซิเลชัน ตัดหมู่โครโมฟอร์ได้สารแอมโรแมติกที่มีหมู่แทนที่เกาะอยู่เช่น amino-hydroxyl-benzenesulfonic acid และ phthalic acid ซึ่งจะถูกรีดิวซ์โดยโครโมฟอร์บริเวณพันธะเอสเทอร์ระหว่างหมู่อัลคิลและวงเบนซีน (Dong-lei และคณะ, 2007) การย่อยสลายได้ในสภาพเติมหรือไม่เติมอากาศ อย่างไรก็ตามการเติมอากาศดูเหมือนว่าจะเหมาะสมในการย่อยสลายมากกว่า การทดสอบการย่อยสลายกลุ่มแอนโทราควิโนนโดยแบคทีเรีย *Rhodospseudomonas* ของ Dong และคณะ (2003) ซึ่งพบว่าสีถูกย่อยสลายไปถึง 93 เปอร์เซ็นต์ ที่พีเอชช่วง 6-9 และอุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส ในสภาพที่ไม่มีเติมอากาศ

สำหรับสี RR และ CR นั้นถูกย่อยสลายได้ยากเมื่อเพาะเลี้ยงในที่ที่มีอากาศ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 4) ประสิทธิภาพการกำจัดสีจะเกิดได้ดีในระหว่างการบำบัดแบบไม่เติมอากาศ (ภาพที่ 4 และ 5) โดยประสิทธิภาพการย่อยสลายของสี RR และ CR เพิ่มสูงถึง 67.62 และ 84.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การย่อยสลายของสี RR เกิดได้ยากกว่า CR เล็กน้อย เนื่องจากโครงสร้างของ RR เป็นหมู่อะโซติดกับไนลิซัลโฟน Zimmermann และคณะ (1982) เสนอกลไกการย่อยสลายกลุ่มอะโซ โดยแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการตัดพันธะของหมู่อะโซด้วยเอนไซม์ azoreductase utilizing NADH ในสภาพไม่มีอากาศหรือมีออกซิเจนปริมาณจำกัด (เช่นเพาะเลี้ยงในสภาพ static) ซึ่ง NADH จะทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน เป็นผลให้เกิดการสร้างผลิตภัณฑ์เป็นสารแอมโรแมติกเอมีนซึ่งจะถูกย่อยสลายในสภาพมีออกซิเจนด้วยเอนไซม์ประเภท non-specific เข้าสู่กระบวนการ hydroxylation และการเปิดวงแอมโรแมติก Dafale และคณะ (2008) สรุปกระบวนการย่อยสลายอะโซว่าการย่อยสลายจะเกิดอย่างสมบูรณ์

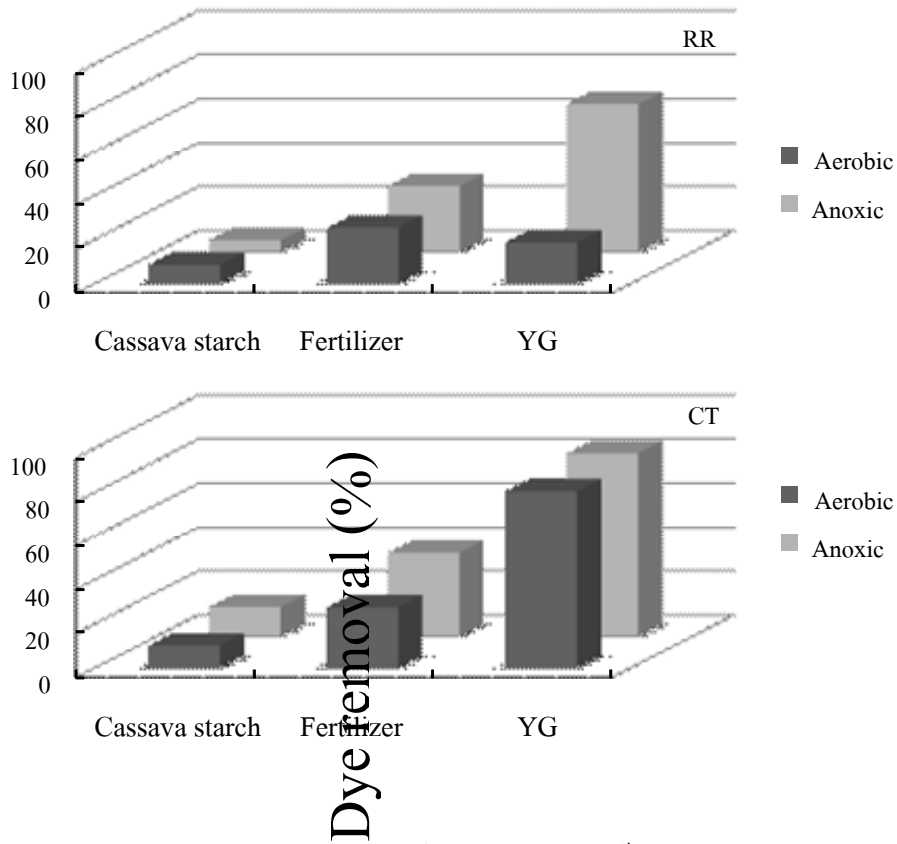
(Mineralization) ด้วยกระบวนการ reductive และ oxidative โดยสารประกอบแอมโรแมติกเอมีนซึ่งมีความเป็นพิษ และเป็นสารก่อมะเร็งที่ถูกสร้างขึ้นระหว่างกระบวนการแอนแอโรบัสสามารถถูกย่อยสลายต่อเป็นสารที่มีความเป็นพิษลดลงเช่นคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำและแอมโมเนียโดยกระบวนการแอโรบัส ดังนั้นการนำกระบวนการบำบัดน้ำทิ้งแบบ Anoxic – aerobic จึงเป็นทางเลือกในการกำจัดค่าซีโอดีและสีกลุ่มอะโซ Chen (2002) พบว่าการเติมออกซิเจนลงไประหว่างเพาะเลี้ยงเชื้อ *Ps. luteola* จะกีดการสร้างเอนไซม์ azoreductase ที่สร้างขึ้นภายในเซลล์ ซึ่งจะทำการย่อยสลายหูดชะงักลง ต่อจากนั้นเซลล์จะออกซิไดส์แหล่งพลังงานที่มีทั้งหมดด้วยกระบวนการไกลโคไลซิสและเข้าสู่วัฏจักรเครปส์เพื่อให้เกิดการสร้างพลังงาน ในทางตรงกันข้ามการบ่มในสภาพ static ซึ่งจะมีปริมาณออกซิเจนเพียงเล็กน้อยที่บริเวณผิวอาหาร บริเวณลึกลงไปจะเกิดการย่อยสลายในสภาพแอนแอโรบัส อย่างไรก็ตามก็ตีสภาพที่เป็น extreme anaerobe เช่นมีการเป่าพ่นไนโตรเจนลงไปเพื่อไล่ออกซิเจนออกไปทั้งหมดจะไม่เกิดการย่อยสลายสีได้ ปรากฏการณ์นี้ชี้ให้เห็นว่าเซลล์ต้องการออกซิเจนปริมาณเล็กน้อยเพื่อรักษาสภาพเซลล์และการย่อยสลายสี นอกจากนี้ยังพบว่าการย่อยสลายสีเกิดได้มากที่สุดเมื่อเซลล์เข้าสู่ช่วง stationary phase กลไกการย่อยสีจัดเป็น non-growth associated เขาจึงเสนอให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยกระบวนการเติมอากาศจนกระทั่งเชื้อมีความหนาแน่นของเซลล์มากที่สุด จากนั้นชักนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ azoreductase ด้วยการบ่มสภาพ static Chen และคณะ (2003) ศึกษากระบวนการเติมอากาศเพื่อเพาะเลี้ยง *Aeromonas hydrophila* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแอโรบัส ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสีกลุ่มอะโซความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 1.5 วัน จากนั้นหยุดเติมอากาศ พบว่าสีถูกกำจัดได้เกือบทั้งหมดอย่างรวดเร็วภายในเวลา 1 วันต่อมา โดยพบว่าค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ ควรมีค่าต่ำกว่า 0.45 มิลลิกรัม/ลิตร สำหรับการย่อยสี

### 3.3.3 สารอาหาร

ส่วนประกอบหลักในน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมทั่วไปเป็นสีย้อม ต่าง และเกลือ ถึงแม้ว่าโครงสร้างสีย้อมจะประกอบด้วยสารคาร์บอนแต่โครงสร้างสีมีความซับซ้อนย่อยสลายยากทำให้เชื้อเจริญได้ช้าและมีปริมาณเซลล์ต่ำ นอกจากนี้การย่อยสลายสีรีแอกทีฟเกิดโดยกระบวนการ co-metabolism ซึ่งต้องการแหล่งคาร์บอนสำหรับเป็น co-substrate ที่เหมาะสมอยู่ร่วมด้วยระหว่างการย่อยสีเพื่อช่วยกระตุ้นการสร้างเอนไซม์ เช่นการเติมเปปโตเนหรือกลูโคสในปริมาณที่เหมาะสม (Haug และคณะ, 1991) จากผลการทดสอบความต้องการสารอาหารของเชื้อ *B. glumae* ด้วยการเพาะเลี้ยงแบบเติมอากาศและไม่เติมอากาศ (ภาพที่ 6) พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ YG ให้ผลการย่อยสลายสีได้ดีที่สุดในขณะที่สารอาหารที่โรงงานฟอกย้อมนิยมใช้ในการหว่านลงบ่อบำบัดเพื่อเป็นสารอาหารและเพิ่มปริมาณของเชื้อผงทางการค้าได้แก่แป้งมันสำปะหลังและปุ๋ยสูตร 16-16-16 กลับให้ผลการย่อยไม่ดีเท่าที่ควร ถึงแม้จะพบว่าปุ๋ยช่วยในการย่อยสลายสีได้ดีกว่าสารอาหารประเภทแป้งมันสำปะหลัง นอกจากนี้พบว่าอาหารเลี้ยงแบบไม่เติมอากาศมีประสิทธิภาพการย่อยสลายสีใกล้เคียงกับแบบเติมอากาศโดยสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่เจริญได้ดีในสารอาหารทั้งแป้งและปุ๋ย สารอาหารทั้งสองชนิดมีผลทำให้เชื้อทางการค้ามีการเจริญที่ช้าและตายลงอย่างรวดเร็ว



ภาพที่ 5 การย่อยสลายสีรีแอกทีฟ 4 ชนิด และการเจริญของเชื้อ *Burkholderia glumae* ที่พีเอชเท่ากับ 8 ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีเท่ากับ 200 มิลลิกรัม/ลิตร ในอาหาร YG ที่เพาะเลี้ยงแบบไม่เติมอากาศ

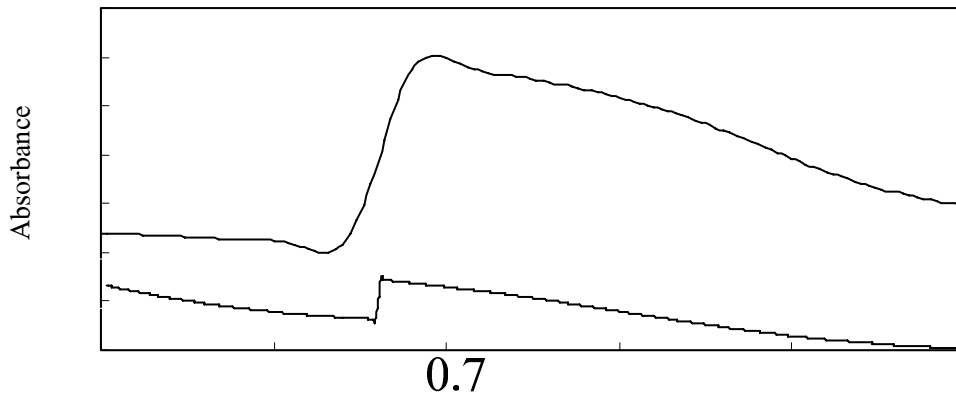


ภาพที่ 6 การย่อยสลายสีรีแอกทีฟ 2 ชนิด ในสารอาหารปุ๋ยสูตร 16-16-16, แป้งมันสำปะหลัง และอาหาร YG ด้วยกิจกรรมของเชื้อ *Burkholderia glumae* ในกระบวนการบำบัดแบบเดิมอากาศและไม่เดิมอากาศ

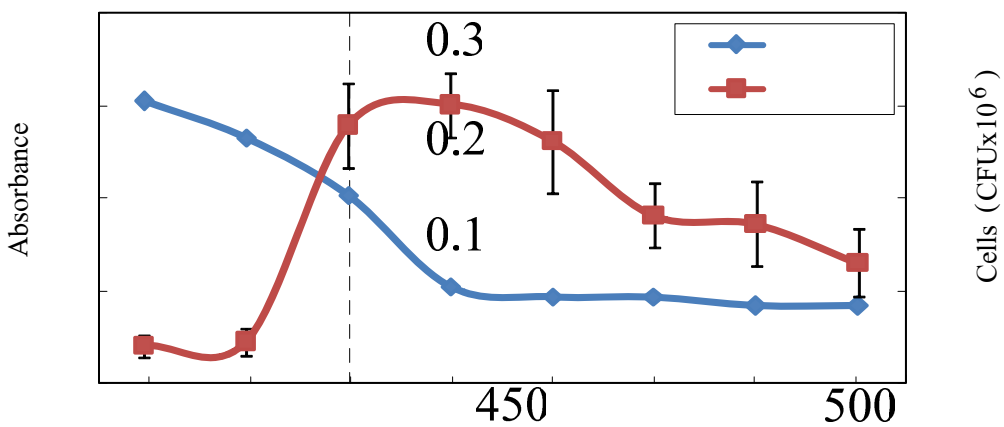
### 3.3 การทดสอบการย่อยสลายน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมโดยใช้เชื้อทางการค้า

จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อม โดยนำน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมมาแสมในช่วงความยาวคลื่นแสงที่ดูดกลืน พบว่าน้ำทิ้งประกอบด้วยสีผสมหลายชนิดส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มสีแดง (ภาพที่ 7) โดยมีค่า  $\lambda_{max}$  สูงสุดเท่ากับ 544 นาโนเมตร จากนั้นนำน้ำทิ้งมาเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์และสารอาหาร แล้วเพาะเลี้ยงแบบเดิมอากาศ 3 วัน เพื่อเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย และเพาะเลี้ยงต่อโดยไม่เดิมอากาศเพื่อให้แบคทีเรียย่อยสลายสี พบว่าน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมที่ผ่านขั้นตอนดังกล่าวสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลาย โดยมีความสามารถในการกำจัดสีในน้ำทิ้งได้ร้อยละ 76 (ภาพที่ 8) ซึ่งหลังจากการย่อยแล้วพีคของการดูดกลืนแสงลดลงอย่างเห็นได้ชัด และมีค่า  $\lambda_{max}$  สูงสุดเท่ากับ 531.8 นาโนเมตร (ภาพที่ 7)

จากผลการทดลองดังกล่าว การย่อยสลายสีในน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของระบบแอ็กทีเวเต้จัสต์ดีจีได้ด้วย การบำบัดน้ำเสียด้วยระบบเดิมอากาศ เพื่อเพิ่มปริมาณจำนวนเชื้อแบคทีเรีย จากนั้นตามด้วยการบำบัดแบบไม่เดิมอากาศ เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียย่อยสลายสี



ภาพที่ 7 ตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมที่สแกนค่าการดูดกลืนแสง ก่อน (กราฟเส้นบน) และหลัง (กราฟเส้นล่าง) การย่อยสลายของค้ำยเชื้อ *Burkholderia glumae* ในกระบวนการบำบัดแบบไม่เติมอากาศ



ภาพที่ 8 การกำจัดสีในน้ำทิ้งด้วยกิจกรรมของเชื้อ *Burkholderia glumae* ในกระบวนการบำบัดแบบเติมอากาศ/ไม่เติมอากาศ (วัดค่า  $\lambda_{max}$  ที่ 544 นาโนเมตร เป็นตัวแทนของสีย้อมในน้ำทิ้ง)

#### 4. บทสรุป

ปัญหาการกำจัดสีย้อมในน้ำทิ้งที่ไม่ได้ประสิทธิภาพเท่าที่ควรของโรงงานมีได้อยู่ที่เชื้อผงทางการค้า หากแต่อยู่ที่การจัดการระบบบำบัดน้ำทิ้งในระบบแอโรบิกเวตส์สแตจ ลักษณะการย่อยสลายสีของเชื้อ *B. glumae* ที่แยกได้จากเชื้อผงทางการค้าสามารถที่จะย่อยสีกลุ่มแอนทราควิโนนและอะโซได้หากมีการปรับปรุงระบบให้เหมาะสมสีกลุ่มแอนทราควิโนนจะถูกย่อยสลายได้ดีเมื่อใช้ระบบเติมอากาศแล้วตามด้วยระบบไม่เติมอากาศ ในทาง

กลับกันสีกลุ่มอะโซจะถูกย่อยสลายได้ดีเมื่อใช้ระบบไม่เติมอากาศก่อนแล้วจึงตามด้วยระบบเติมอากาศเพื่อชักนำให้มีการสร้างเอนไซม์และเกิดการย่อยสลายต่ออย่างสมบูรณ์ การเปิดเครื่องดีน้ำตลอดเวลาของโรงงานจะทำให้สีกลุ่มแอนทราควิโนนเช่นกลุ่มสีม่วงถูกย่อยสลายได้ปานกลางแต่สีย้อมกลุ่มอะโซได้แก่กลุ่มสีแดงจะย่อยสลายได้ต่ำ สีที่มีโครงสร้างซับซ้อนย่อยสลายยากมีแนวโน้มที่จะถูกดูดซับที่เซลล์จุลินทรีย์ ทำให้การกำจัดสีของสีกลุ่มนี้สัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณเซลล์ นอกจากนี้พีเอชของน้ำทิ้งควรอยู่ที่ประมาณ 8 ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีไม่ควรสูงเกินกว่า 200 มิลลิกรัม/ลิตร สารอาหารที่ใช้เติมลงไปเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อทางการค้าและเป็น co-substrate ของกระบวนการย่อยสลายสี ควรเลือกชนิดและปริมาณให้เหมาะสม แป้งและปุ๋ยสูตร 16-16-16 ไม่เหมาะสมในการนำมาใช้ โรงงานควรมีการทำวิจัยเพื่อหาสารอาหารทดแทน สำหรับน้ำทิ้งจากโรงงานที่มีสีตกค้างหลายชนิดผสมกันอยู่ทั้งกลุ่มแอนทราควิโนนและอะโซ ระบบการเติมอากาศที่เหมาะสมควรคำนึงถึงคุณลักษณะของเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณหัวเชื้อในช่วงต้นจากนั้นปรับสภาวะให้เหมาะสมกับการทำงานของลำดับเอนไซม์ที่จะย่อยสลายสีต่อไป เชื้อ *B. glumae* เป็นแบคทีเรียเอโรบส์ ดังนั้นควรมีการเพิ่มปริมาณเชื้อด้วยสภาวะเติมอากาศให้เชื้อเจริญมีปริมาณเซลล์สูงสุด ก่อนทำให้อยู่ในสภาวะไม่เติมอากาศเพื่อเกิดการย่อยสีกลุ่มแอนทราควิโนนและอะโซ นอกจากนี้ควรศึกษาหาช่วงระยะเวลาการเติมอากาศและหยุดเติมอากาศที่เหมาะสมเพื่อให้สีถูกกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

## 5. บรรณานุกรม

- วิมลรัตน์ ศรีจิรัสติน. 2550. เทคโนโลยีสิ่งทอเบื้องต้น. คราฟแมนเพรส จำกัด. กรุงเทพฯ. 95 หน้า.
- Bor-Yann Chen. 2002. **Understanding decolorization characteristics of reactive azo dyes by *Pseudomonas luteola* : Toxicity and Kinetics.** Process Biochem. 38, 437-46.
- Chang SJ, Chou C, Lin YC, Lin PJ, Ho JY, Hu TL. 2001. **Kinetic characteristics of bacterial azo-dye decolorization by *Pseudomonas luteola*.** Wat Res. 35, 2841–50.
- Chen JP, Lin SY. 2007. **Decolorization of azo dye by immobilized *Pseudomonas luteola* entrapped in alginate–silicate sol–gel beads.** Process Biochem. 42, 934–42.
- Chen KC, Wu YJ, Liou JD, Hwang JS. 2003. **Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains.** J Biotech. 101, 57-68.
- Chen YB. 2002. **Understanding decolorization characteristics of reactive azo dyes by *Pseudomonas luteola* : toxicity and kinetics.** Process Biochem. 38, 437-46.
- Dafale N, Wate S, Meshram S, Nandy T. 2008. **Kinetic study approach of remazole black –B use for the development of two-stage anoxic – oxic reactor for decolorization / biodegradation of azo dyes by activated bacterial consortium.** J Hazard Mat. In press.
- Devescovi G., Bigirimana J., Degrassi G., Cabrio L., LiPuma JJ., Kim J., Hwang I., Venturi V. 2007. **Involvement of a quorum-sensing-regulated lipase secreted by a clinical isolate of *Burkholderia glumae* in severe disease symptoms in rice.** Appl Environ Microbiol. 73, 4950-8.

- Dong X, Zhou J, Liu Y. 2003. **Peptone-induced biodecolorization of reactive brilliant blue (KN-R) by *Rhodocyclus gelatinosus* XL-1.** *Process Biochem.* 39, 89-94.
- Dong-lei W, Bao-lan H, Zheng P, Mahmood Q. 2007. **Anoxic biodegradation of dimethyl phthalate (DMP) by activated sludge cultures under nitrate-reducing conditions.** *J Envir Sci.*19, 1252-6.
- Duran N., Esposito E. 2000. **Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review.** *App Catalysis B: Env.* 28, 83-99.
- Fan L, Zhu S, Liu D, Ni J. 2008. **Decolorization mechanism of 1-amino-4-bromoanthraquinone-2-sulfonic acid using *Sphingomonas herbicidovorans* FL.** *Dyes and Pigments.* 78, 34-8.
- Field JA, Stems AJM, Kato M, Schraa G. 1995. **Enhanced biodegradation of aromatic pollutants in co-cultures of anaerobic and aerobic bacterial consortia.** *Antonie van Leeuwenhoek,* 67, 47-57.
- Haug W, Schmidt A, Nortemann B, Hempel DC, Stolz A, Knackmuss HJ. 1991. **Mineralization of the sulfonated azo dye mordant yellow 3 by 6-aminonaphthalene-2-sulfonate-degrading bacterial consortium.** *Appl Environ Microbiol.* 57, 3144-9.
- Itoh K. 1998. **Oxidative biodegradation of an anthraquinone dye, pigment violet 12, by *Coriolor vesicolor*.** *Bull Environ Contam Toxicol.* 60, 786-90.
- Jo-Shu Chang, Chien Chou, Yu-Chih Lin, Ping-Jei Lin, Jin-Yen Ho, Tai Lee Hu. 2001. **Kinetic characteristic of bacterial azo-dye decolorization by *Pseudomonas luteola*.** *Wat Res.* 35, 2841-50.
- Jyh-Ping Chen, Yung-Sheng Lin. 2007. **Decolorization of azo dye by immobilized *Pseudomonas luteola* entrapped in alginate-silicate sol-gel beads.** *Process Biochem.* 42, 934-42.
- Lucas SM, Amaral C, Sampaio A, Peres AJ, Dias AA. 2006. **Biodegradation of the diazo dye reactive black 5 by a wild isolate of *Candida oleophila*.** *Enz Microb Tech.* 39, 51-5.
- Nigam P, Banat IM, Singh D, Merchant R. 1996. **Microbial process for the decolourization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes.** *Process Biochem.* 31, 435-42.
- Product catalog. 2008. **Classic dyestuffs,** Inc. USA. 87 pp.
- Tsushima, S., Naito, H., Koitabashi, M. 1996. **Population dynamics of *Pseudomonas glumae*, the causal agent of bacterial grain rot of rice, on leaf sheaths of rice plants in relation to disease development in the field.** *Ann Phytopathol Soc Jpn.* 62, 108-113.
- Walker GM, Weatherley LR. 2000. **Biodegradation and biosorption of acid anthraquinone dye.** *Env Pollut.* 108, 219-23.
- Zimmermann T, Kulla HG, Leisinger T. 1982. **Properties of purified orange II azoreductase, the enzyme initiating azo dye degradation by *Pseudomonas* KF46.** *Eur J Biochem.* 129, 197-203.

## 6. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม โครงการโครงการ  
โครงการอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาตรี ประจำปี 2550 และขอขอบคุณบริษัท กำแพงแสนพัฒนา จำกัด ที่ให้  
คำปรึกษา คำแนะนำและให้ความอนุเคราะห์สั้ย่อมประเภทรีแอกทีฟและน้ำทิ้งจากโรงงาน