การคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า

สิริกัญญา อุ่นใจ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากร
การเกษตรและสิ่งแวดล้อม
โครงการบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2547

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

โครงการบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรการเกษตรและสิ่งแวดล้อม

ชื่อเรื่อง

การคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า

โดย

สิริกัญญา อุ่นใจ

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐปน ชื่นบาล)

วันที่ 23 เดือน มี.ย. พ.ศ. 2547

กรรมการที่ปรึกษา .....

(อาจารย์น้ำเพ็ชร วินิจฉัยกุล)

วันที่ 23 เดือน มิ.ย. พ.ศ. 2547

กรรมการที่ปรึกษา .....

(รองศาสตราจารย์บรรพต ตันติเสรี)

วันที่ 23 เดือน มิ.ย. พ.ศ. 2547

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพมณี โทปุญญานนท์)

วันที่ 23 เดือน มิ.ย. พ.ศ. 2547

โครงการบัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทรงวุฒิ เพ็ชรประดับ)

รองประธานกรรมการโครงการบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 28 เดือน มิ.ย. พ.ศ. 47

ชื่อเรื่อง การคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า

ชื่อผู้เขียน นางสาวสิริกัญญา อุ่นใจ

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรการเกษตรและสิ่งแวดล้อม

ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐปน ชื่นบาล

บทคัดย่อ

การคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มจากน้ำ ดิน และอาหารที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่ความเข้มข้นสูงเป็นองค์ประกอบในกระบวนการผลิตจากแหล่งต่าง ๆ โดยใช้อาหารสำหรับการคัดแยกแบคทีเรียทนเค็ม (Halophilic agar) ในการคัดแยกขั้นต้นสามารถคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มได้ทั้งหมด 34 ไอโซเลท และนำเชื้อแบคทีเรียทนเค็มดังกล่าวไปเลี้ยงในอาหารเหลว (Halophilic broth) ที่ประกอบด้วยเกลือความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เป็นเวลา 7 วัน แล้วตรวจวัดความหนาแน่นของเซลล์ของแบคทีเรียทนเค็มแต่ละชนิดเพื่อหาแบคทีเรีย-ทนเค็มที่สามารถเจริญได้ดีที่สุดและทนทานต่อความเค็มที่สามารถเจริญได้ดีในช่วงความเข้มข้นเกลือสูง ได้จำนวน 8 ไอโซเลทและทำการทดสอบคุณสมบัติการย่อยสีโดยสังเกตการเกิดวงใส พบว่ามีแบคทีเรียทนเค็ม 3 ไอโซเลท จากทั้งหมด 34 ไอโซเลท ที่ให้คุณสมบัตินี้ ในการทดลองในครั้งนี้จะทำการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียโรงงานย้อมผ้า จ.ลำพูน โดยอาศัยแบคทีเรียที่มีลักษณะทนเค็ม เนื่องด้วยน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้ามีลักษณะเป็นน้ำเสียรวม คือ เป็นน้ำเสียจากการใช้สีย้อมหลายชนิด และมีการทิ้งน้ำเสียรวมกันและในขั้นตอนการย้อมสีนั้นจะต้องมีการเติมเกลือเป็นสารช่วยย้อมลงไปในน้ำสีเพื่อวัตถุประสงค์ให้สีย้อมมีการติดทนทาน ดังนั้นน้ำเสียรวมจึงมีปริมาณความเข้มข้นเกลือสูงทำให้ยากต่อการจัดการโดยระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพแบบใช้แบคทีเรียทั่วไป ดังนั้นจึงควรใช้แบคทีเรียที่มีลักษณะทนเค็มมาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัด จากการตรวจวัดเบื้องต้นของน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน มีคุณสมบัติ ดังนี้ มีปริมาณค่า FCOD = 1,807 มิลลิกรัมต่อลิตร , pH = 7.4 - 7.9 และปริมาณความเข้มข้นของเกลือ = 1.2 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ในการทดสอบประสิทธิภาพนั้นได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ออกเป็น 2 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มมีคุณลักษณะดังนี้ คือ กลุ่มที่ 1 แบคทีเรียทนเค็มที่เกิดลักษณะวงใสบนอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye (แบคทีเรียทนเค็มรหัส F_1P_1, S_1P_1 และ W_3P_2) และกลุ่มที่ 2 แบคทีเรียทนเค็มที่เจริญ

ได้ดี ในช่วงของความเข้มข้นเกลือสูง (แบคทีเรียทนเค็มรหัส S_8P_3, W_2P_2 และ W_3P_7) ผลการนำแบคทีเรียทนเค็มทั้งสองกลุ่มมาทดสอบในน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าที่มีการทำ Pre - treatment จะมีค่า FCOD = 880 มิลลิกรัมต่อลิตร, pH 7.0, ปริมาณความเข้มข้นของเกลือ 1.2 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ในสภาพเติมอากาศ โดยการเขย่าความเร็วรอบ 155 rpm เป็นเวลา 21 วัน พบว่า มีแบคทีเรียทนเค็มไอโซเลทที่สามารถให้ประสิทธิภาพการบำบัดดีที่สุด คือ แบคทีเรียทนเค็มไอโซเลท S_1P_1 สามารถกำจัดสารอินทรีย์ได้เท่ากับ 83 เปอร์เซ็นต์และสามารถลดปริมาณสีย้อมในน้ำเสียได้เท่ากับ 89 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำผลการทดสอบประสิทธิ-ภาพของแบคทีเรีย -ทนเค็มทั้ง 2 กลุ่ม (6 ไอโซเลท) มาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์โดยวิธีการ CRD พบว่าแบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ไอโซเลทให้ผลประสิทธิภาพการบำบัดมีความแตกต่างกันทางสถิติ และการศึกษาสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียทนเค็ม (S_1P_1) นำมาทำการศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยาระบุว่าเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน ทดสอบทางด้านชีวเคมี พบว่าแบคทีเรีย (S_1P_1) จัดอยู่ในสายพันธุ์ *Chryseomonas luteola*

Title	Screening of Halotolerant Bacteria for Wastewater Treatment from Textile Finishing Industry
Author	Miss Sirikanya Ounjai
Degree of	Master of Science in Agricultural Resources and Environmental Management
Advisory Committee Chairperson	Associate Professor Dr.Tapana Cheuanbarn

ABSTRACT

In this study, halotolerant bacteria were screened from water, soil, and food using strong saline solution in production process by halophilic agar. From the screening step, 34 bacterial isolates were produced and then cultured in halophilic broth that contained 0, 5, 10, 15, 20 and 25% salt (w/v) for a 7-day period. Afterwards, cell density of each type of halotolerant bacteria was measured and a total of 8 bacterial isolates were identified as having the best growth rates and resistance to a strong saline solution. When later tested in their ability to disintegrate color based on the clear zone they produced, 3 bacterial isolates were identified from an initial number of 34 bacterial isolates. In this particular experiment which was conducted in Lamphun province, the efficiency of the bacterial isolates to treat wastewater from textile finishing industry, was tested. The wastewater from textile finishing industry contained a collection of wastewater from various types of color dyes and from other sources. During the dyeing process, alkaline substance was added to the solution to make the it more permanent. The overall wastewater thus contained a high volume of saline making it difficult to undergo biological treatment with ordinary bacterial isolates. In the analysis of the wastewater management from a finishing batik textile industry in Lamphun province, the results showed that it contained 1,807 mg/l FCOD with pH of 7.4-7.9 and concentration volume of saline at 1.2% (w/v). In the efficiency test, the screening produced 2 groups of halotolerant bacterial isolates, which later showed specific properties. Group 1 consisted of halotolerant bacterial isolates that showed clear zone on the halophilic agar containing basic dye (halotolerant bacteria with codes F_1P_1, S_1P_1 and W_3P_2). Group 2, meanwhile, had halotolerant bacterial isolates that grew well in a strong saline solution (halotolerant bacteria

with codes S_8P_3, W_2P_2 and W_3P_7). When the two groups of bacterial isolates were used to treat wastewater from textile finishing industry that was pre-treated already (containing 880 mg/l FCOD, pH of 7.0, alkaline concentration of 1.2% (w/v) with a volume of 500 ml in a normal atmosphere through centrifugal speed of 155 rpm for 21 days), results showed that S_1P_1 bacterial isolate was the most efficient. It was also able to treat organic materials (83%) and reduce the amount of dyes in wastewater (89%). When the efficiency results of the two groups (6 isolates) were analyzed using CRD ($P < .05$), it was found that the treatment efficiency of 6 bacterial isolates were significantly different. Morphological study of S_1P_1 bacterial isolate later showed that it was Gram negative and had a rod shape. Further biochemical tests showed that this bacterial isolate was a strain of *Chryseomonas luteola*.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลงได้ด้วยความร่วมมือและความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายฝ่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ฐปน ชื่นบาล ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่ได้สละเวลาให้คำปรึกษาในการทำวิจัย ชี้นำแนวทางวิธีคิด การแก้ไขปัญหา ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จสมบูรณ์ รวมทั้งรองศาสตราจารย์บรรพต ตันติเสรี และ อาจารย์น้ำเพ็ชร วินิจฉัยกุล กรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาในงานวิจัย คอยติดตามการทำงาน ให้กำลังใจและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคุณจันทร์นภา ศูนย์จันทร์ ที่ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือในการทำงานวิจัยในครั้งนี้มาเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีในห้องปฏิบัติการ ในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงได้

ท้ายที่สุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อสวัสดิ์ คุณแม่สุวิดา อุ่นใจ ซึ่งเป็นที่สุดของผู้ให้เป็นผู้มีพระคุณหาที่เปรียบมิได้ ท่านเป็นทั้งพ่อ – แม่ ครู และเพื่อน ที่คอยฟูมฟักทะนุถนอม คอยให้กำลังใจปลุกปลอบขวัญยามท้อแท้ ขอขอบพระคุณพี่น้อง และญาติพี่น้องทุกท่านที่เคารพรักซึ่งคอยสนับสนุน ให้กำลังใจในการศึกษาจนสำเร็จข้าพเจ้ามิอาจลืมผู้มีพระคุณเหล่านี้จนท้ายที่สุดของชีวิต

สิริกัญญา อุ่นใจ

มิถุนายน 2547

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(5)
สารบัญ	(8)
สารบัญตาราง	(11)
สารบัญภาพ	(12)
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	3
วัตถุประสงค์	3
ขอบเขตการศึกษา	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	
แบคทีเรียชอบเค็ม	5
แบคทีเรียที่ชอบความเค็มจัด	6
แบคทีเรียที่ชอบความเค็มปานกลาง	11
น้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าและฟอกย้อม	12
แหล่งน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมย้อมผ้าและฟอกย้อม	12
ประเภทของสิ่งสกปรกเจือปนในน้ำเสียใน อุตสาหกรรมย้อมผ้าและฟอกย้อม	13
ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะสมบัติของน้ำเสีย อุตสาหกรรมย้อมผ้า	21
ลักษณะของน้ำเสียจากการย้อมผ้า	22
ผลกระทบของการทิ้งน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า ลงสู่แหล่งน้ำ	22
การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า	23
วิธีการบำบัดทางกายภาพและทางเคมี	25

หน้า

วิธีการบำบัดทางชีวภาพ 28

การศึกษาการใช้จุลินทรีย์และแบคทีเรียทนเค็ม เพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียโรงงานย้อมผ้า 43

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ 46

อุปกรณ์ 46

วิธีการ 49

บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิจารณ์ 53

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างน้ำเสีย ดิน และอาหารที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่มีความเข้มข้นสูงเป็นองค์ประกอบในกระบวนการผลิต 53

การทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทนเค็มแต่ละไอโซเลทที่คัดแยกได้เมื่อทำการทดสอบที่ช่วงระดับความเค็ม 0 - 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) 56

การทดสอบการลดสีโดยลักษณะการเกิดวงใส (Clear zone) บนผิวหน้าอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye 61

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของโรงงานย้อมผ้าบาติกโดยเชื้อแบคทีเรียทนเค็ม 63

การจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดและลดลงของปริมาณสีที่ดีที่สุด 81

การศึกษาช่วงการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มไอโซเลท S_1P_1 (*Chryseomonas luteola*) 85

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 89

สรุปผลการทดลอง 89

ข้อเสนอแนะ 91

เอกสารอ้างอิง 92

หน้า

ภาคผนวก 102

ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ 103

ภาคผนวก ข วิธีการตรวจสอบคุณสมบัติ รูปร่าง ลักษณะของแบคทีเรีย 106

ภาคผนวก ค สีย้อม อาหาร และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 108

ภาคผนวก ง ประวัติผู้วิจัย 112

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ชนิดของจุลินทรีย์ที่ชอบความเค็มจัดประเภทโปรคาริโอท	10
2	ลักษณะของน้ำเสียจากการย้อมผ้า	22
3	การย่อยสลายสีในน้ำทิ้งโดยใช้เซลล์แบคทีเรียผสม	30
4	การย่อยสลายสีในน้ำทิ้งโดยใช้เซลล์แบคทีเรียชนิดเดียว	31
5	เชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำเสีย ดิน และอาหารที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่มีความเข้มข้นสูงเป็นองค์ประกอบในกระบวนการผลิต	55
6	ผลการทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทนเค็ม 34 ไอโซเลทที่ช่วงระดับความเค็ม 0 - 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v)	59
7	ประสิทธิภาพการลด Filtration chemical oxygen demand (FCOD) ของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลทที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน	67
8	ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS - มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่มีอยู่หลังจากเลี้ยงแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า-บาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน	70
9	ปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS - มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่มีอยู่หลังจากเลี้ยงแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า-บาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน	74
10	ปริมาณความเข้มข้นของสีในน้ำเสียโรงงาย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ไอโซเลท ในระยะเวลา 21 วัน โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดย Spectrophotometer ที่ความยาว-คลื่นแสง 605 นาโนเมตร	80
11	การทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียทนเค็มรหัส S_1P_1	84
12	ปริมาณน้ำตัวอย่างและรีเอเจนท์ที่เหมาะสมสำหรับหลอดย่อยสลายขนาดต่าง ๆ	105

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1	ขั้นตอนการสลายตัวของพันธะอะโซซึ่งเป็นกลไกการลดสี	28
2	กลไกในการกำจัดสีอะโซโดยแบคทีเรีย	32
3	การเก็บตัวอย่างดินที่บริเวณลึกลงไปจากผิวหน้าดิน 15 เซนติเมตร	54
4	ตัวอย่างน้ำจากบริษัทสันติภาพ (ฮั่วเพ้ง 1958) จำกัด จ.เชียงใหม่	54
5	การทำเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยการ Cross streak plate	57
6	ลักษณะการเจริญของเชื้อในอาหาร Halophilic broth ที่มีความ-เข้มข้นเกลือระดับ 0 - 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v)	58
7	การเปรียบเทียบแบคทีเรียทนเค็มที่เกิดการลดสีบนผิวหน้าอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye (ขวา) กับแบคทีเรีย-ทนเค็มที่ไม่เกิดการลดสี (ซ้าย)	62
8	ลักษณะการเกิดวงใสของแบคทีเรียทนเค็มบนผิวหน้า Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye	62
9	การย่อยสลายสารอินทรีย์ (FCOD - มิลลิกรัมต่อลิตร) ของแบคทีเรียทนเค็ม 6 สายพันธุ์ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน	66
10	เปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการลด FCOD ของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน	66
11	ปริมาณการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในนำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน	69
12	ปริมาณของแข็งทั้งหมดของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลทที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน	69

ภาพ หน้า

13 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน 73
14 ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน 73
15 การสแกนหาช่วงความยาวคลื่นแสงตั้งแต่ช่วงความยาวคลื่นแสง 530 - 880 นาโนเมตร โดย Spectrophotometer เพื่อหาช่วงความยาวคลื่นแสงที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่มากที่สุดสำหรับใช้ในการวัดปริมาณสี 78
16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสีในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติกของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน 78
17 ปริมาณสีในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติกของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน 79
18 ลักษณะโคโลนีของ *Chryseomonas luteola* บนอาหารแข็ง (HA) ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง 82
19 ลักษณะเชื้อแบคทีเรียทนเค็มรหัส S_1P_1 (*Chryseomonas luteola*) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบกำลังขยาย 1,000 เท่า 82
20 ชุดทดลองสำหรับการทดสอบลักษณะทางชีวเคมี api© 20 E 83
21 ช่วงระยะเวลาการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มแบคทีเรียไอโซเลท S_1P_1 (*Chryseomonas luteola*) 86
22 กล้าเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่นำมาทดสอบการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน 87
23 การทดสอบความสามารถการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียทนเค็มในน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน 87
24 น้ำเสียของบ่อกักเก็บ จากโรงงานย้อมผ้าบาติกที่มีการทิ้งน้ำเสียรวม จ.ลำพูน 88

บทที่ 1

บทนำ

เครื่องนุ่งห่มเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่ง ในปัจจัยสี่ของการดำรงชีวิตของมนุษย์ อุตสาหกรรมเครื่องนุ่งห่มซึ่งเป็นอุตสาหกรรมขั้นปลายของอุตสาหกรรมสิ่งทอขั้นต้น และขั้นกลางได้ขยายตัวอย่างรวดเร็ว คุณภาพของวัตถุดิบ เช่น เส้นใย สารเคมี สีย้อม รวมทั้งสารตกแต่งที่สำเร็จเป็นผลิตภัณฑ์ผ้าเหล่านี้ จึงต้องมีการปรับปรุงแก้ไขให้ได้ดีมีคุณภาพเป็นที่นิยมแก่ผู้บริโภค ดังนั้นการก่อตั้ง และการขยายโรงงานทอผ้า และโรงงานฟอกย้อมผ้า และการขยายตัวของอุตสาหกรรมสิ่งทอที่เป็นหัตถกรรมในชุมชนก็มีการขยายตัวเป็นจำนวนมาก ทำให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ เนื่องจากกรรมวิธีการผลิตมีการใช้น้ำ สีย้อม กรด ด่าง สารเคมี สารตกแต่งเป็นจำนวนพอสมควร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ให้ดียิ่งขึ้นทำให้เกิดน้ำเสีย และกากของเสียเป็นจำนวนมากออกสู่สิ่งแวดล้อม ดังนั้นเพื่อรักษาสภาพแวดล้อมให้ดีจึงจำเป็นต้องมีการกำจัดสารพิษเหล่านี้ให้เหลือน้อยที่สุด หรือ ในกรณีน้ำทิ้งต้องให้ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมฉบับที่ 2 (พ.ศ. 2539) ออกตามความในพระราช-บัญญัติโรงงาน พ.ศ. 2535 เรื่องกำหนดคุณลักษณะของน้ำทิ้ง ที่ระบายออกจากโรงงาน โดยตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 2 พ.ศ. 2539 ส่วนหนึ่ง กำหนดคุณลักษณะ ของน้ำทิ้งที่ระบายออกจากโรงงานคือให้มีค่าบีโอดี (Biochemical oxygen demand, BOD) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เวลา 5 วันไม่มากกว่า 60 มิลลิกรัมต่อลิตร สารแขวนลอย (Suspended solids) ไม่มากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นกรดด่าง (pH) 5.5 - 5.9 ส่วนสีที่เจือปนในน้ำทิ้งมีหลายสี เช่น สีน้ำเงิน ส้ม แดง น้ำตาลแดง น้ำเงิน ม่วง เขียว ฟ้า เป็นต้น ซึ่งน้ำก่อนการบำบัดจะมีสีเข้มกว่าน้ำหลังการบำบัด ซึ่งสีจางลงมากน้อยขึ้นอยู่กับวิธีหรือเทคนิค การบำบัดเหล่านั้น ว่าจะกำจัดสี ได้มากน้อยเพียงใด และให้คุณภาพน้ำออกจากการบำบัดอยู่ในเกณฑ์

อุตสาหกรรมย้อมผ้ามีการใช้สารเคมี สีซึ่งสีแต่ละชนิดมีคุณสมบัติการใช้และมีผลต่อสิ่งแวดล้อมแตกต่างกัน โดยสีย้อม และสีปิกเมนต์ ซึ่งเป็นสีที่ไม่ละลายน้ำ แต่สีย้อมส่วนใหญ่จะละลายน้ำได้การละลายน้ำได้ของสีย่อมมีความสำคัญต่อการกำจัดจากน้ำเสีย สีที่ละลายน้ำไม่ได้การกำจัดสามารถทำได้ง่าย แต่ถ้าสีที่ละลายน้ำได้ การกำจัดจะทำได้ค่อนข้างยุ่งยาก และสีย้อมเป็นสารที่มีสีเข้มทำให้น้ำมีสีเป็นที่น่ารังเกียจของผู้พบเห็น ดังนั้นอุตสาหกรรมสิ่งทอย้อมผ้าจึงจำเป็นต้องมีการบำบัดน้ำเสีย โดยปกติการบำบัดจะทำได้โดยหลายวิธีการ ได้แก่ โคแอกกูเลชั่น

ด้วยสารเคมี การดูดติดผิว โอโซนเนชั่น เทคโนโลยีการใช้แผ่นเมมเบรน ไฟฟ้าเคมี และการบำบัดทางชีวภาพ

อย่างไรก็ตามวิธีต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้นมีการลงทุนที่สูงดังนั้นวิธีการทางชีววิทยาโดยการบำบัดโดยการใช้แบคทีเรียที่มีการคัดแยกสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีความเหมาะสมต่อลักษณะน้ำทิ้งที่ต้องการบำบัด เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีการลงทุนการบำบัดที่ต่ำกว่าวิธีอื่น ๆ ที่ได้กล่าวมาข้างต้น และการคัดแยกสายพันธุ์แบคทีเรียทนเค็ม เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการบำบัด น้ำเสียจากการย้อมผ้าในน้ำเสียย้อมผ้าที่มีองค์ประกอบของสารช่วยย้อมประเภทเกลือเป็นองค์ประกอบนั้นทำให้ระบบบำบัดด้วยวิธีการทางชีววิทยามีประสิทธิภาพสูงขึ้น โดยแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกสายพันธุ์มาได้นั้นมีความสามารถในการลดค่า BOD, COD ของแข็งทั้งหมด และของแข็งแขวนลอย จากน้ำเสียจากการย้อมผ้าอย่างมีประสิทธิภาพ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

อุตสาหกรรมการสิ่งทอที่เป็นหัตถกรรมในชุมชน ซึ่งเป็นโรงงานขนาดเล็กมีการขยายตัวทั่วไปตามภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย และยังจัดเป็นธุรกิจ SMEs ประเภทหนึ่ง และเนื่องจากโรงงานบางโรงงานมีขนาดเล็กและบางโรงงานไม่ได้มีการจดทะเบียนอุตสาหกรรม ทำให้น้ำเสียไม่ได้รับการบำบัดอย่างถูกต้อง และน้ำเสียจากการย้อมผ้าเป็นน้ำเสียที่โดยปกติจะมีองค์ประกอบของทั้งสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ที่ยากต่อการบำบัดโดยทางชีววิธี ในระบบบำบัดน้ำเสียทั่วไป และถ้าให้โรงงานขนาดเล็กทำระบบบำบัดให้มีกระบวนการอันได้แก่ โคแอกกูเลชั่นด้วย-สารเคมี การดูดติดผิว โอโซนเนชั่น เทคโนโลยีการใช้แผ่นเมมเบรน ไฟฟ้าเคมี และการบำบัดทางชีวภาพ ซึ่งจะเป็นผลทำให้มีการลงทุนต้นทุนในการบำบัดที่สูงและต้องมีผู้เชี่ยวชาญในการควบคุมดูแลซึ่งโรงงานขนาดเล็กไม่สามารถทำได้

ดังนั้นการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าด้วยกระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพโดยการใช้แบคทีเรียที่มีการคัดแยกสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีความเหมาะสมต่อลักษณะน้ำเสียที่ต้องการบำบัดจึงเป็นทางเลือกที่สามารถนำไปปฏิบัติได้ และมีประสิทธิภาพที่ดีรวมทั้งเป็นกระบวนการที่ต้นทุนต่ำ เมื่อเทียบกับวิธีการข้างต้นที่กล่าวมา โดยในน้ำเสียในโรงงานย้อมผ้าในที่นี้มีองค์-ประกอบของสารช่วยย้อมประเภทเกลือ ซึ่งมีคุณสมบัติให้สีย้อมผ้าติดทนนานทำให้น้ำเสียเป็นน้ำเสียที่มีองค์ประกอบพิเศษที่จุลินทรีย์ทั่วไปในระบบบำบัดรวมไม่สามารถทำการบำบัดอย่างมีประสิทธิภาพ

การศึกษาครั้งนี้จึงมีการประยุกต์ใช้แบคทีเรียทนเค็มในการบำบัดน้ำเสียย้อมผ้า ซึ่งเป็นแนวทางเลือกใหม่ สำหรับกระบวนการบำบัดน้ำเสียจากการย้อมผ้าเพื่อให้คุณสมบัติน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้วมีคุณสมบัติดีขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างดิน น้ำ และอาหารบางชนิด
2. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานย้อมผ้าโดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้

ขอบเขตการศึกษา

การศึกษาการคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มเพื่อประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า ในครั้งนี้ มีขอบเขตการศึกษา ดังนี้

1. ศึกษาการคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างดิน ตัวอย่างน้ำ และตัวอย่างอาหารที่มีความเค็มเช่น ปลาเค็ม ปลาร้า น้ำบูดู

2. ศึกษาในการใช้แบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ในการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าโดยใช้พารามิเตอร์ในการตรวจวัดประสิทธิภาพการบำบัด คือ FCOD (Filtration chemical oxygen demand) ของแข็งแขวนลอย (Suspended solids, SS) ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solids, TS) และปริมาณสีที่ลดลงโดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 605 นาโนเมตร (OD 605)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้แบคทีเรียทนเค็ม
2. สามารถนำแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า
3. สามารถนำแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีเกลือเป็นองค์ประกอบในน้ำเสีย

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

1. แบคทีเรียชอบเค็ม (Halophilic bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มนี้ต้องการเกลือในการเจริญ โดยแบคทีเรียประเภทนี้จะแบ่งได้ตามลักษณะความเข้มข้นของเกลือที่ใช้ในการเจริญ ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 พวกชอบเกลือเล็กน้อย (Slightly halophilic bacteria) เป็นพวกที่เจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือ 0.5 - 3 เปอร์เซ็นต์ แยกจากปลาและอาหารทะเล กลุ่มที่สอง พวกชอบเกลือปานกลาง (Moderate halophilic bacteria) เจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือ 3 - 15 เปอร์เซ็นต์ มักแยกได้จากปลาเค็ม เนื้อเค็ม ผักดอง และกลุ่มที่สาม พวกชอบเกลือสูง (Extreme halophilic bacteria) เป็นพวกเจริญได้ดีในที่มีเกลือเข้มข้นสูง 15 - 30 เปอร์เซ็นต์

นงลักษณ์ (2541) ได้แบ่งแบคทีเรียพวกชอบเค็ม (Halophilic bacteria) เป็น 3 กลุ่ม ตามความเข้มข้นของเกลือที่แบคทีเรียเจริญได้ดังนี้ 3 กลุ่มดังนี้ กลุ่มที่ 1 นอนฮาโลไฟท์ (Non-halophiles) เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 2 - 5 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 สไลท์ฮาโลไฟล์ (Slight halophiles) เจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือ 5 - 20 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 3 มอเดอเรท-ฮาโลไฟท์ (Moderate halophiles) เจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือ 20 - 30 เปอร์เซ็นต์ และการแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียชอบเค็มอาจจะแตกต่างกันเช่น

บัญญัติ (2525) ได้แบ่งแบคทีเรียในกลุ่มนี้เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ 1 คือ ออบลิเกทฮาโลไฟท์ (Obligate halophiles) เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 15 - 30 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 2 คือ มอเดอเรทฮาโลไฟล์ (Moderate halophiles) เจริญในอาหารที่มีเกลือ 1 - 20 เปอร์เซ็นต์

มัทนา (2538) ได้แบ่งแบคทีเรียที่ชอบเกลือเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 สไลท์ฮาโลไฟล์ เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 0.5 - 3 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 มอเดอเรทฮาโลไฟล์ เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 3 - 15 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 3 เอ็กทรีมฮาโลไฟล์ เจริญในอาหารที่มีเกลือ 15 - 30 เปอร์เซ็นต์

ลัดดาวัลย์ (2536) ได้ทำการจำแนกแบคทีเรียที่ชอบเกลือไว้โดยอาศัยความเข้มข้นของเกลือโดยดูที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ โดยสามารถแบ่ง 4 กลุ่ม ได้ดังนี้ กลุ่มที่ 1 นอนฮาโลไฟท์ สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่เลี้ยงที่มีเกลือโซเดียมอยู่ 0.2 โมลาร์ แต่สำหรับพวกแบคทีเรียทนเกลือสามารถทนความเข้มข้นของเกลือได้สูงกว่านี้ กลุ่มที่ 2 สไลท์-ฮาโลไฟท์ (Marine bacteria) สามารถเจริญได้ดีที่สุดในช่วงของเกลือโซเดียม 0.2 - 0.5 โมลาร์ กลุ่มที่ 3 มอเดอเรทฮาโลไฟท์ สามารถเจริญได้ดีที่สุดในช่วงของเกลือโซเดียม 0.5 - 2.5 โมลาร์ และกลุ่มที่ 4 เอ็กทรีมฮาโลไฟท์ สามารถเจริญได้ดีที่ช่วงเกลือโซเดียมที่มีในอาหารในปริมาณ 2.5 - 5.2 โมลาร์ ในช่วงที่อิ่มตัวไปด้วยเกลือโซเดียม

1.1 แบคทีเรียที่ชอบความเค็มจัด (Extreme halophilic bacteria)

แบคทีเรียที่ชอบความเค็มจัด จัดเป็นพวก Chemoorganotroph ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน และอิเลคตรอนได้พลังงานจากการออกซิเดชั่นสารอินทรีย์ในสภาพที่มีอากาศ ซึ่งอาจจัดอยู่ในกลุ่ม Heterotroph เนื่องจากไม่สามารถสังเคราะห์อาหารเองได้ต้องอาศัยสารอินทรีย์จากสิ่งมีชีวิตอื่นต้องการเกลือที่ความเข้มข้น 17 – 23 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเจริญและการดำรงชีวิต นอกจากนี้ยังเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน หรือคล้ายจาน (Halobacterium) จนถึงรูปร่างทรงกลม (Halococcus) โคโลนีสีแดงส้ม เนื่องจากประกอบด้วยแคโรทีนอยด์เพื่อปกป้องแสงแดด ในสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงเซลล์จะสามารถทนต่อการสูญเสียน้ำได้โดยการรักษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมคลอไรด์ภายในเซลล์ให้สูงเพื่อรักษาแรงดันออสโมติก ซึ่งเยื่อหุ้ม-เซลล์ และไรโบโซมจะสามารถคงสภาพได้และเอนไซม์จะมีความว่องไวที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์ หรือโซเดียมคลอไรด์สูง ส่วนมากพบในทะเลสาบน้ำเค็มจัด เช่น ทะเลเดดซี โรงงานผลิตเกลือ ปลาเค็ม เป็นต้น

Halobacterium มีรูปร่างของเซลล์เป็นแบบท่อนขนาด 0.6 – 1.0 ไมครอน โดยมากมักอยู่เดี่ยวๆ มีการเคลื่อนที่โดยใช้แฟลเจลลาที่ขั้วเซลล์ หรือบางชนิดอาจไม่เคลื่อนที่ ติดสีย้อมแกรมลบ ต้องการออกซิเจนในการเจริญ สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 – 50 องศาเซลเซียส และ pH 7.2 – 7.4 แต่ที่ช่วง pH 5.5 – 8.0 ผนังเซลล์จะไม่สามารถพบกรดไดอะมิโนฟีมิลิก หรือกรดมิวรามิก ผนังเซลล์ของ Halobacterium เป็นโปรตีนหน่วยย่อยซึ่งเชื่อมต่อกันเฉพาะในสภาพที่มีเกลือเท่านั้น ดังนั้นแบคทีเรียกลุ่มนี้จึงมีรูปร่างแบบท่อนในสภาวะที่มีเกลือโซเดียม-คลอไรด์ 3.5 โมลาร์ แต่เมื่อความเข้มข้นของเกลือลดลงเซลล์จะมีรูปร่างหลายแบบ และที่ความ

เข้มข้นของเกลือเท่ากับ 1.5 โมลาร์ เซลล์จะมีรูปร่างกลม เนื่องจากการสูญเสียผนังเซลล์ แบคทีเรียพวกนี้จึงต้องการเกลือที่ความเข้มข้น 10 – 20 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเจริญแต่ถ้าความ-เข้มข้นของเกลือมีค่าต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ เซลล์จะสลายสำหรับในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง เซลล์จะพยายามต้านทานการสูญเสียน้ำด้วยการปรับสภาพให้ภายในเซลล์มีความเข้มข้นของเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์สูงขึ้น เพื่อทำให้ไรโบโซมและไซโทพลาสมิกเมมเบรนคงสภาพอยู่ได้ รวมทั้งทำให้เอนไซม์สามารถทำงานได้ด้วย ดังนั้นแบคทีเรียเหล่านี้จึงพบในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ขณะที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียกลุ่ม Halococcus ประกอบด้วย Heteropolysacharide ที่สลับซับซ้อนทำให้สามารถทนทานได้แม้อยู่ในสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำ Halobacterium เป็นแบคทีเรียกลุ่มแอโรบิก แต่สามารถสร้าง ATP ได้โดยการหมักกรดอะมิโนอาร์จินีน ทำให้สามารถ ดำรงชีวิตแบบแอนแอโรบิกได้ แต่วิธีการสร้าง ATP เฉพาะช่วงที่ออกซิเจนต่ำรงควัตถุสีม่วงที่เรียกว่า Bacteriorhodopsin จะเกิดขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อเซลล์ที่มีรงควัตถุนี้ได้รับแสงสีของรงควัตถุดังกล่าวจะซีดจางลง และเกิดการเคลื่อนที่ของโปรตอน (H^+) ออกนอกเซลล์ ทำให้เกิดแรงขับเคลื่อนโปรตอนที่เรียกว่า Proton motive force และมีการสร้าง ATP เกิดขึ้นได้

กลุ่มของแบคทีเรียที่ชอบเค็มจัดและมีรูปร่างเซลล์เป็นแบบท่อน ได้แก่ *Halobacterium salinarium*, *H. crutirubrum*, *H. halobium*, *H. trapanicum* ส่วนกลุ่มที่มีรูปร่างเซลล์แบบกลม (Cocci) ได้แก่ *Micrococcus litoralis*, *M. morrhuae*, *M. radiodurans* นอกจากนี้ยังพบอีกว่า H. cutirubrum สามารถต้านทานต่อรังสี Ultraviolet และ Ionizing raditions ได้เหมือนกับ *M. radiadurans*

1.1.1 ปัจจัยที่จำเป็นสำหรับการเจริญของแบคทีเรียที่ชอบความเค็มจัด

1.1.1.1 ไอออนิค

เป็นที่ทราบกันมาเป็นระยะเวลาหลายปีแล้วเกี่ยวกับความต้องการเกลือโซเดียม-คลอไรด์ของจุลินทรีย์ชอบเค็มชนิดต่าง ๆ โดยความต้องการเกลือโซเดียมเป็นสิ่งที่จำเพาะเจาะจงสำหรับจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้และเกลือโซเดียมคลอไรด์ก็ไม่สามารถถูกแทนที่ได้โดยเกลือชนิดอื่นและแบคทีเรียกลุ่มนี้จะไม่สามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือน้อยกว่า 3 โมลาร์ ข้อจำกัดเกี่ยวกับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์จะมีแนวโน้มลดลงอีกจนถึง 1.5 โมลาร์ เมื่ออยู่ในสภาวะที่

มีเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์ แต่ไม่สามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 1.0 โมลาร์ ในสภาวะที่อิ่มตัวด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์ และความต้องการคลอไรด์จะปรากฏขึ้นเมื่อเกลือโซเดียมรูปอื่น ๆ ไม่สามารถใช้สำหรับการเจริญได้

โพแทสเซียมยังคงมีความจำเป็นสำหรับแบคทีเรียกลุ่มนี้มากที่สุดเช่นกันที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมเท่ากับ 50 – 100 ppm เป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญมากที่สุด แต่อย่างไร ก็ตามรูบิเดียมสามารถใช้แทนโพแทสเซียมได้ที่ระดับความเข้มข้น 10 – 100 เท่าของความต้องการโพแทสเซียมในสภาพที่มีการเจริญที่วิกฤต ซึ่งสภาพดังกล่าวจะทำให้โคโลนีของแบคทีเรียมีสีซีดจาง ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าโพแทสเซียมจำเป็นสำหรับการสร้างรงควัตถุของจุลินทรีย์ดังกล่าว

แมกนีเซียมก็จัดเป็นไอออนอีกชนิดหนึ่งที่มีความจำเป็นสำหรับการเจริญ โดยระดับความเข้มข้นของแมกนีเซียมที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ คือ 0.1 – 0.5 โมลาร์ ซึ่งที่ระดับความเข้มข้นนี้ทำให้เซลล์ของแบคทีเรียมีลักษณะรูปท่อนปกติ และที่ระดับความเข้มข้นของแมกนีเซียมไอออนที่ค่อนข้างต่ำเซลล์แบคทีเรียจะมีลักษณะทรงกลมซึ่งเป็นลักษณะที่แสดงถึงการตอบสนองต่อภาวะขาดแคลนแมกนีเซียมไอออน แต่รูปร่างของเซลล์จะกลับคืนสู่สภาพเดิมเมื่อถูกย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของแมกนีเซียมไอออนที่เหมาะสม การเพาะเลี้ยงในสภาพเขย่าที่ประกอบด้วยไอออนของเหล็กความเข้มข้น 10 ppm จะทำให้ผลิตผลของเซลล์เพิ่มขึ้น และการเจริญจะดียิ่งขึ้นเมื่อความเข้มของเกลือโซเดียมมีค่าเกินกว่าระดับต่ำสุดของระดับที่ต้องการ และสภาวะที่มีแมงกานีสในปริมาณเพียงเล็กน้อย (0 – 0.5 ppm) จะช่วยกระตุ้นการเจริญและเพิ่มการสร้างรงควัตถุ

1.1.1.2 อุณหภูมิ

แบคทีเรียชอบเค็มสีแดงเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 37 - 45 องศาเซลเซียส และจากรายงานของ Gibbons and Payne (1961) ที่ได้ศึกษาลักษณะการเจริญ ของแบคทีเรียชอบเค็ม 5 ชนิด ที่เพาะเลี้ยงในสภาพเติมอากาศที่อุณหภูมิ 30 – 55 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แบคทีเรียชอบเค็มดังกล่าวมีอัตราการเจริญสูงสุดแต่ในการเพาะเลี้ยงบางชุดมีค่าความขุ่นสูงสุดที่ระดับอุณหภูมิต่ำกว่านี้เพียงเล็กน้อย และภายใต้สภาวะเดียวกันนี้ *Sarcina litolalis* ไม่สามารถเจริญได้ที่ระดับอุณหภูมิ

50 องศาเซลเซียส รวมทั้งแบคทีเรียรูปท่อนสีแดงอีก 3 ชนิดไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส แต่แบคทีเรียรูปท่อนที่ไม่มีสีสามารถเจริญได้

นอกจากนี้อัตราและปริมาณการเจริญยังขึ้นกับอุณหภูมิและความเข้มข้นของเกลือด้วย จากการตรวจวัดการเจริญด้วยการวัดความขุ่น พบว่า ที่อุณหภูมิสูงและความเข้มข้นของเกลือตั้งแต่ 20 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปจะให้อัตราการเจริญสูงกว่า และในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานวิทยา และเป็นสิ่งที่ชี้ให้เห็นว่าการวัดความขุ่นอาจเป็นวิธีที่ไม่เหมาะสำหรับการตรวจวัดค่าการ เจริญในสภาวะที่แตกต่างกัน

1.1.1.3 ออกซิเจน

ปลา และผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่จมอยู่ในสารละลายเกลือมักไม่เกิดสีแดงของโคโลนีของจุลินทรีย์ชอบเค็ม แต่ส่วนที่โผล่ขึ้นมากลับปรากฏสีแสดงให้เห็นถึงความต้องการออกซิเจนของจุลินทรีย์ชอบเค็ม และในการศึกษาก่อนนี้พบว่าการเจริญของแบคทีเรียชอบเค็มเกิดขึ้นบนอาหารแข็ง และไม่ปรากฏการเจริญในอาหารเหลว แต่การเติมอากาศในอาหารเหลวทำให้เกิดการเจริญอย่างรวดเร็ว และได้จำนวนเซลล์ในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการสำหรับการศึกษาทางด้านเคมีและชีวเคมี แต่อย่างไรก็ตามยังคงไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับความต้องการออกซิเจนที่แท้จริงของจุลินทรีย์ในกลุ่มชอบเค็ม เช่นเดียวกับข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยต่าง ๆ ที่ต้องการสำหรับการเจริญยังคงมีความขัดแย้งกัน เช่น จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญ สามารถเจริญได้ในสภาพอุณหภูมิสูงและเต็มไปด้วยสารละลายเกลือ ซึ่งส่งผลให้ความสามารถการละลายของออกซิเจนมีค่าต่ำกว่าสภาวะปกติ ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นสิ่งจำกัดระดับการกวน และความแรงของปั๊มอีกด้วย นั่นหมายถึงการจำกัดประสิทธิภาพในการเติมอากาศนั่นเอง

สิ่งที่น่าสนใจอีกอย่างหนึ่ง คือ ส่วนห่อหุ้มของ Red halophilic rods และการดำรงอยู่ของผนังเซลล์ของ Red halophilic rods ส่วนห่อหุ้มของจุลินทรีย์กลุ่มนี้ไม่มี DAP และกรดมิวรามิก ซึ่งเป็นสิ่งที่สามารถนำมาพิจารณาถึงการคงสภาพอยู่ได้ของผนังเซลล์ได้ จากข้อมูลที่ได้ศึกษาในอดีตระบุว่าผนังเซลล์สามารถนำมาศึกษาได้โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน และพบว่าที่ความเข้มข้นของเกลือต่ำกว่า 1.6 โมลาร์ ทำให้ผนังเซลล์เริ่มแตกตัวด้วย ลักษณะทางกายภาพและเคมีของผนังเซลล์ทำให้สามารถอธิบายถึงการคงสภาพอยู่ได้ของผนังเซลล์ได้มากยิ่งขึ้น และจุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกับ Eubacteria ที่ผ่านมาการรายงานเกี่ยวกับ Anaerobic halophilic bacteria นั้นมีอยู่น้อยมาก แต่ยังพอมีรายงานเกี่ยวกับ Strict anaerobe non –

motile rod ว่าไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่ำกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมต่อการเจริญมีค่าเท่ากับ 12 – 15 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีรายงานที่กล่าวถึง Facultatively anaerobic halophile ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่เจริญในสภาวะที่ก๊าซละลายในน้ำเกลือได้ต่ำ แต่ยังไม่มีการนำเสนอข้อมูลมากนัก

อย่างไรก็ตามได้มีรายงานถึงการแยกเชื้อ Anaerobic bacteria หลายชนิดจากตะกอนใต้ทะเลเดดซี ซึ่งเชื้อเหล่านี้จะทำหน้าที่เป็น Lactose fermenter methane producers , Denitrifiers sulphate reducers และ Cellulose decomposers แต่ข้อมูลต่าง ๆ เหล่านี้ยังมีอยู่น้อยมาก และการปรากฏของเชื้อเหล่านี้ก็มีระยะเวลาที่ไม่ยาวนานมากนัก

ในขณะเดียวกันก็พบว่ามีการรายงานถึงแบคทีเรียในกลุ่ม Non – sporing rod ที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์อย่างน้อยที่สุด 15 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพไร้อากาศ แต่ไม่ปรากฏว่ามีการศึกษาหรือเสนอข้อมูลเพิ่มเติมในระยะเวลาต่อมา

ตาราง 1 จุลินทรีย์ที่ชอบเค็มจัดประเภทโปรคาริโอท

Prokaryotic genera include extreme halophilic species		
Halobacteria	Methanogens	Bacteria
Halobacterium	Methanohalobium	Acetohalobium
Haloferax		Actinopolyspora
Haloarcula		Ectothiorhodospira
Halococcus		
Natronobacterium		
Natronococcus		

ที่มา: Ventosa and Nieto (1995)

1.2 แบคทีเรียที่ชอบความเค็มปานกลาง (Moderate halophilic bacteria)

แบคทีเรียที่ชอบความเค็มปานกลางไม่สามารถเจริญได้โดยปราศจากการเติมเกลือ ความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมต่อการเจริญมีค่าอยู่ระหว่าง 3 – 5 เปอร์เซ็นต์ มีการศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ชอบเค็มปานกลางในกลุ่ม Denitrification อย่างกว้างขวางในประเทศญี่ปุ่น แต่รายงานต่าง ๆ มักมุ่งเน้นถึงการศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาของ *Pseudomonas* strain No. 101 และ *Micrococcus* sp. No. 203 ถึงแม้จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะถูกศึกษาโดยหลายคนในสภาพของแบคทีเรียทนเค็มและแบคทีเรียชอบเค็ม แต่สามารถเจริญได้ดีที่ความเข้มข้นของเกลือ 10 เปอร์เซ็นต์ หรือบางทีอาจถูกศึกษาในสภาพมอเดอเรทฮาโลไฟท์ด้วย

1.2.1 ปัจจัยที่จำเป็นสำหรับการเจริญของแบคทีเรียที่ชอบความเค็มปานกลาง

1.2.1.1 ไอออนิค

แบคทีเรียที่ชอบความเค็มปานกลาง มีความต้องการเกลือโซเดียมคลอไรด์ แบบเจาะจง *Micrococcus halodentrificans* ไม่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นเกลือ 1.75 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่านี้ ความเข้มข้นของเกลือที่ต่ำที่สุดที่สามารถเจริญได้ คือ 4.5 เปอร์เซ็นต์ แต่เจริญได้ดีที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 23 เปอร์เซ็นต์ แต่จะไม่สามารถเจริญได้ถ้ามีเกลือ พวก NaBr, $NaNO_3$, LiCI และ KCl การอยู่รอดของเชื้อขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเกลือที่ใช้

Vibrio costicolus เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในสภาพที่มีเกลือหลายประเภทถ้าในกรณีของโซเดียมคลอไรด์ ต้องการความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่ำสุดในการเจริญที่ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 7 – 8 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นของเกลือสูงสุดอยู่ที่ 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนความเข้มข้นของ Na_2SO_4 (Sodium sulphate) ต่ำสุด คือ 1.4 เปอร์เซ็นต์ แต่ช่วงที่เหมาะสม คือ 8.7 เปอร์เซ็นต์ แต่ความเข้มข้นของเกลือสูงสุดที่สามารถเจริญได้ คือ 17.5 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าสามารถเจริญใน Sodium molybdate, Sodium phosphate และ Sodium bromide แต่ไม่สามารถเจริญได้ใน Sodium iodide, Potassium nitrate หรือ Sodium nitrate

2. น้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าและฟอกย้อม

ปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากอุตสาหกรรมฟอกย้อมส่วนใหญ่เกิดจากการทิ้งน้ำเสีย น้ำเสียจากการฟอกย้อมมีแหล่งกำเนิดในเกือบทุกขั้นตอนของการฟอกย้อม ตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมผ้า ขั้นตอนการเตรียมสี และขั้นตอนการตกแต่งสำเร็จ โดยเฉพาะในกระบวนการชำระล้างทำความสะอาดของแต่ละขั้นตอนจะมีการใช้น้ำในอัตราที่สูงมาก ซึ่งสิ่งที่สามารถพบได้ในน้ำเสียเสมอ ได้แก่ เศษเส้นใย เศษผ้า สารเคมี กรดด่าง ไขมัน สบู่ สีย้อม และตัวทำละลาย ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณสารมลพิษในน้ำเสียมีปริมาณสูง และเป็นปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม

สภาพการเกิดและการระบายน้ำเสียจะเริ่มจากอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในกระบวนการผลิต ซึ่งเป็นแหล่งกำเนิดที่ถ่ายน้ำเสียลงในรางระบายน้ำภายในโรงงาน หลังจากนั้นน้ำเสียจะไหลเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานก่อนระบายทิ้งออกสู่แหล่งน้ำสาธารณะต่อไป

2.1 แหล่งน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมย้อมผ้าและฟอกย้อม

แหล่งน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมย้อมผ้าและฟอกย้อม มีที่มาจากแหล่งต่าง ๆ ที่สำคัญ 5 แหล่ง คือ

2.1.1 น้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต

ได้แก่ น้ำใช้ในการดำเนินการฟอกย้อม น้ำใช้ในส่วนนี้อาจจะมีการระเหยไปบ้างในระหว่างขั้นตอนการผลิต แต่ส่วนใหญ่จะถูกปล่อยออกมาเป็นน้ำเสียภายหลังการผลิต น้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิตนี้ยังอาจแบ่งได้เป็น 2 ประเภท ใหญ่ คือ

- น้ำที่ใช้ในขั้นตอนการฟอกย้อม น้ำในส่วนนี้จะปริมาณไม่มากนัก แต่มีความเข้มข้นของสิ่งสกปรกเจือปนที่ค่อนข้างสูง
- น้ำที่ใช้ในการซักล้างภายหลังการฟอกย้อม น้ำในส่วนนี้จะมีปริมาณมาก แต่มีความเข้มข้นของสิ่งสกปรกเจือปนโดยส่วนรวมแล้ว ต่ำกว่าน้ำเสียในประเภทแรก

2.1.2 น้ำที่ใช้ในหม้อไอน้ำ

ในกระบวนการฟอกย้อมมักจะมีการอาศัยไอน้ำ เป็นตัวให้ความร้อนแก่น้ำที่ใช้ในกระบวนการและเป็นตัวให้ความร้อนในตู้อบไอน้ำ ถ้าไอน้ำที่ใช้ถูกปล่อยให้เย็นลงและกลั่นตัวในท่อไอน้ำก็จะได้น้ำที่สะอาดนำกลับมาใช้ใหม่ได้ แต่ถ้าไอน้ำถูกส่งเข้าไปให้ความร้อนแก่

สารละลายสีย้อมโดยตรง ก็จะเป็นการเพิ่มปริมาณของสารละลายสีย้อม และจะถูกรวบรวมเป็นน้ำเสียที่สกปรกที่สุด

2.1.3 น้ำที่ใช้ในการหล่อเย็น

กระบวนการฟอกย้อมมีบ่อยครั้งที่ทางโรงงาน จำเป็นต้องลดอุณหภูมิของสารละลายสีย้อมลงในเวลาอันสั้น ซึ่งจะทำได้ก็โดยอาศัยการใช้น้ำหล่อเย็น น้ำหล่อเย็นนี้ส่วนใหญ่จะเป็นน้ำสะอาดสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้

2.1.4 น้ำที่ใช้ในการล้างเครื่องจักรและทำความสะอาดโรงงาน

น้ำส่วนนี้นับเป็นส่วนประกอบที่สำคัญส่วนหนึ่งของน้ำเสียจาก โรงงานอุตสาหกรรมฟอกย้อมและบางกรณีเป็นน้ำเสียที่มีความสกปรกสูงมากด้วย เช่น น้ำล้างถังเตรียมสีย้อม เป็นต้น

2.1.5 น้ำจากแหล่งอื่น ๆ

นอกจากน้ำเสียจากแหล่งต่าง ๆดังกล่าวข้างต้นแล้วโรงงานอุตสาหกรรมฟอกย้อมยังอาจมีน้ำเสียจากแหล่งอื่น ๆ อีก น้ำใช้ของคนงาน หรือ น้ำฝน เป็นต้น

2.2 ประเภทของสิ่งสกปรกเจือปนในน้ำเสียในอุตสาหกรรมย้อมผ้าและฟอกย้อม

สารเคมีที่ใช้ในอุตสาหกรรมย้อมผ้าและฟอกย้อมนั้น มีทั้งสารเคมีอนินทรีย์และสารอินทรีย์ ตัวอย่างของสารอนินทรีย์ เช่น ด่างและกรดอนินทรีย์ ได้แก่ โซเดียมซิลิเกต ($2Na_2OSiO_2$) โซเดียมซัลไฟด์ (Na_2S) แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) โซเดียมคลอไรด์ ($NaCl$) โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_3) และสารฟอกขาวธรรมดา ส่วนสารอินทรีย์นั้นมีการใช้อย่างกว้างขวาง ซึ่งประกอบด้วย กรดอินทรีย์ เช่น กรดฟอร์มิค ($HCOOH$) กรดอะซิติก (CH_3COOH) กรดไขมัน พวกสบู่ แป้ง สารอินทรีย์ที่ใช้แทนแป้ง ผงซักฟอก สารที่ทำให้นุ่ม สีย้อม สารนำพา และสารเคมีอื่น ๆ อีก เช่น สารที่ป้องกันการซึมของน้ำ สารกันเชื้อรา และสารกันไฟ ซึ่งล้วนแต่นำมาใช้ให้เป็นประโยชน์ต่อผ้าระหว่างกระบวนการตกแต่งสำเร็จทั้งสิ้น

สารเคมีบางตัวอาจมีค่าบีโอดีสูง ซึ่งในขณะเดียวกันสารเคมีอื่น ๆ ที่มีค่าบีโอดีต่ำ และมีคุณสมบัติคล้ายกันก็สามารถนำมาใช้ทดแทนกันได้ จึงนิยมใช้สารเคมีที่มีค่าบีโอดีต่ำ เช่น การใช้

Carboxylmethyl cellulose แทนแป้ง ซึ่งมีประโยชน์และไม่เป็นอันตราย หรือหาทางขจัดออกไปได้ง่ายโดยวิธีทางเคมีหรือทางฟิสิกส์ แต่ทั้งนี้อาจจะมีสารเคมีบางตัวที่ใช้ทดแทนแล้วทำให้เกิดผลต่อเนื่อง ซึ่งเป็นผลเสียหายต่อสัตว์น้ำหรือการใช้น้ำในอนาคต และทำให้ต้องสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมากขึ้น

เมื่อนำน้ำไปใช้ไปผ่านกระบวนการผลิตในขั้นตอนต่าง ๆ ซึ่งในแต่ละขั้นตอนนั้นจะมีการใช้สารเคมีหลายชนิดและปริมาณต่าง ๆ กัน หลังจากน้ำใช้ผ่านเข้าไปในกระบวนการผลิตแล้วจะกลายเป็นน้ำเสียซึ่งจะต้องนำไปปรับปรุงให้มีคุณภาพที่เหมาะสมก่อนที่จะปล่อยสู่แหล่งน้ำสาธารณะ โดยน้ำเสียที่ได้จากกระบวนการฟอกย้อมนั้นมีสิ่งสกปรกเจือปนอยู่มากมายหลายประเภท ซึ่งอาจจะจำแนกออกเป็นประเภทที่สำคัญ ๆ ได้ดังนี้ คือ

2.2.1 สีย้อม

ในการย้อมเส้นใยจะมีการดูดซึมสีย้อม จากสารละลายสีย้อมเพียงบางส่วนเท่านั้น สีย้อมที่เหลือจะคงอยู่ในสารละลายสีย้อม และจะถูกปล่อยออกมากับน้ำเสียในที่สุด ปริมาณสีย้อมที่ยังคงเหลืออยู่ในสารละลายสีย้อมจะแตกต่างกันไปตั้งแต่ 5 - 50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับประเภทของสีย้อมที่ใช้

ปรีชา (2543) ได้จำแนกสีย้อมออกเป็นชนิดต่าง ๆ ตามเกณฑ์ดังนี้

2.2.1.1 จำแนกตามลักษณะทางกายภาพ

สีย้อมจำแนกตามลักษณะทางกายภาพ ได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. สีย้อม (Dyes) หมายถึง สีย้อมที่ละลายน้ำได้
2. ปิกเมนต์ (Pigments) หมายถึง สีย้อมที่ไม่ละลายน้ำ

เนื่องจากปิกเมนต์ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นในขั้นตอนการย้อมจะต้องทำให้ปิกเมนต์กระจายตัว (Disperse) หรือแขวนลอยในเรซินเสียก่อนจึงจะสามารถย้อมสีให้ติดเส้นใยได้ ดังนั้นเมื่อปิกเมนต์กระจายตัวอยู่ในรูปสารละลาย จึงเป็นการยากที่จะบอกว่าสีตัวใดเป็นสีย้อม (Dyes) และตัวใดเป็น ปิกเมนต์ (Pigments) การจำแนกด้วยวิธีนี้จึงอาจทำให้เกิดความสับสนได้

2.2.1.2 จำแนกตามวิธีการใช้

สีย้อมจำแนกตามวิธีการใช้สามารถจำแนกได้ 13 ชนิด ดังนี้

1. สีเบสิค (Basic dyes)

เป็นเกลือของเบสอินทรีย์ ละลายน้ำได้ ย้อมติดเส้นใยเซลลูโลสได้เล็กน้อยหรือไม่ติดเลย เมื่อละลายน้ำจะแตกตัวให้ไอออนบวกบางครั้งจึงเรียกสีชนิดนี้ว่า สีแคทไอออน ถ้าย้อมเส้นใยเซลลูโลส เส้นใยต้องย้อมด้วยสารประกอบที่สามารถก่อรูปเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำกับตัวสีได้ก่อนเพื่อให้ทำหน้าที่เป็นเสมือนหนึ่งสะพานเชื่อมระหว่างตัวสีกับเส้นใย สารประกอบนี้เรียกว่า สารช่วยติด (Mordant) สีในกลุ่มนี้มีสีสดใสแต่ไม่ทนแสง

2. สีแอซิด (Acid dyes)

เป็นสีที่เกิดจากสารประกอบอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ส่วนใหญ่เป็นเกลือของกรดกำมะถันเมื่อละลายน้ำแล้วจะแตกตัวเป็นไอออนที่มีประจุลบ บางครั้งจึงเรียกว่าสีแอนไอออน สีย้อมนี้ย้อมติดเส้นใยโปรตีนได้ในน้ำย้อมที่เป็นกรดเจือจาง ใช้ย้อมเซลลูโลสซึ่งไม่ใช่เซลลูโลสบริสุทธิ์ เช่น ปอ ป่าน และใยโพลีเอไมด์ได้

3. สีมอแดนท์และพรีเมตัลไลซ์ (Mordant and premetallized dyes)

สีแอซิดหลายตัวสามารถก่อรูปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะหลายชนิดได้ เช่น โครเมียม ละลองสีที่ก่อรูปบนหรือในเส้นใยภายหลังเมื่อย้อมทับด้วยเกลือของโลหะแล้วจะมีความคงทนต่อกระบวนการใช้น้ำได้ดีกว่าที่ไม่ย้อมทับ สารประกอบเชิงซ้อนที่ก่อรูปใหม่นี้ ไม่ละลายน้ำสามารถย้อมตัวสีก่อน พร้อมกันหรือภายหลังการย้อมด้วยเกลือของโลหะได้ทุกวิธีการพัฒนาตัวสีทำนองเดียวกันนี้อาจทำได้กับสีไดเรกท์ ตามทฤษฎีเชื่อกันว่าโครงสร้างของเส้นใยสามารถรวมตัวกับไอออนของโลหะก่อรูปเป็นสารประกอบใหม่ภายใน ทำให้สีคงทนดีขึ้น ตัวสีเหล่านี้เรียกว่า สีไดเรกท์ ส่วนที่เรียกว่า สีมอร์แดนท์ จะต้องเป็นกลุ่มสีซึ่งใช้ย้อมเฉพาะเส้นใยโปรตีน

4. สีไดเรกท์ (Direct dyes)

เป็นสารสังเคราะห์ชนิดแรกที่ดูดติดใยฝ้ายได้โดยไม่ต้องใช้สารช่วยติด บางครั้งจึงเรียกว่า สีย้อมฝ้าย ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอะโซ (Azo) มีน้ำหนักโมเลกุลสูง

มีหมู่ซัลโฟนิก ซึ่งทำให้ตัวสีละลายน้ำได้ สีย้อมชนิดนี้ใช้ย้อมใยเซลลูโลสซึ่งไม่ต้องการความคงทนต่อการซักล้างมากนัก

5. สีดีสเพอร์ส (Disperse dyes)

เป็นสีย้อมที่ไม่ละลายน้ำ แต่เป็นละอองละเอียดลอยตัวอยู่ในน้ำเมื่อมีสารกระจายตัว (Dispersing agent) ที่เหมาะสมใช้ย้อมในน้ำย้อมธรรมดาโดยไม่ต้องใช้สารเคมีอย่างอื่นช่วยอีก นอกจากสารพา (Carrier) ให้ตัวสีเข้าไปใกล้เส้นใยเท่านั้น เหมาะสำหรับย้อมใยอาซิเตด และใยสังเคราะห์

6. สีอะโซอิค (Azoic dyes)

เป็นสารประกอบอะโซที่ไม่ละลายน้ำก่อรูปเป็นสีบนเส้นใยได้โดยการย้อมด้วยสารประกอบฟีนอลซึ่งละลายน้ำได้ก่อนแล้วจึงนำไปย้อมทับอีกครั้งด้วยเกลือไดอาโซ-เนียม เกลือนี้จะทำปฏิกริยากับสารฟีนอลเกิดเป็นสารประกอบอะโซที่ให้สีบนเส้นใย สีกลุ่มนี้นิยมใช้ย้อมใยเซลลูโลสเท่านั้น

7. สีแว๊ท (Vat dyes)

เป็นสีที่ไม่ละลายน้ำ ต้องใช้สารรีดิวซ์ที่เหมาะสมมาทำให้ละลายจึงติดใยเซลลูโลสได้สีในกลุ่มนี้เกิดจากสารประกอบอินดิโก หรือ Anthraquinone ทั้งหมด เป็นสีที่มีความคงทนดีที่สุดในบรรดาสีที่ใช้ย้อมใยเซลลูโลส นอกจากนี้ยังสามารถใช้ย้อมใยโปรตีนได้ด้วย

8. สีกำมะถัน (Sulphur or sulphide dyes)

เป็นสีที่เตรียมได้จากหลอมละลายกำมะถันหรือโซเดียมซัลไฟด์กับกรดอามิโน และสารประกอบไนโตรอื่น ๆ ซึ่งเป็น Cyclic hydrocarbon เช่นเบนซิน หรือ แนพ-ทาลีน สีชนิดนี้จะติดใยเซลลูโลสได้ดีเมื่อละลายอยู่ในน้ำซึ่งมีสภาพเป็นด่างและมีสารรีดิวซ์ สารรีดิวซ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ โซเดียมซัลไฟท์

9. สีออกซิไดซ์ (Oxidation colorants)

เป็นสีที่เกิดจากการออกซิไดซ์โดยเกลืออะนิลีนโครงสร้างที่ให้สีหรือวิธีที่สารยึดติดกับใยเซลลูโลสนั้นยังไม่เป็นที่ทราบกันนัก แต่สีชนิดนี้เมื่อย้อมแล้วจะมีความคงทนมาก

10. สีโอเนียม (Onium dyes)

เป็นสีปิกเมนต์ ที่ได้รับการปรับปรุงให้มีกลุ่มเคมีที่ละลายน้ำได้ มีความคงทนต่อสารเคมีและแสง วิธีการย้อมจะดำเนินการแบบเดียวกับสีแว๊ทที่ละลายน้ำได้โดยสีดูดซึมเข้าไปในเนื้อผ้าแล้วเปลี่ยนกลับมาเป็นตัวสีที่ไม่ละลายน้ำอีกครั้ง ปกตินิยมใช้พิมพ์มากกว่าย้อม

11. สีโลหะ (Mineral colorant)

เป็นสารประกอบอนินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำ ใช้ย้อมใยเซลลูโลสให้สีต่าง ๆ กันเมื่อย้อมแล้วต้องทำให้สารนี้ตกตะกอนภายในเส้นใย

12. ปิกเมนต์ที่ใช้กับเรซิน (Pigment - resin binder system)

กระบวนการย้อมแบบนี้ใช้กับเส้นใยได้ทุกชนิดเหมาะสำหรับย้อมผ้าทั้งผืนเท่านั้นมีลักษณะคล้ายกับการพิมพ์หรือการเขียนสี โดยอัดผ้าด้วยปิกเมนต์ผสมเรซินเคลือบติดผิวผ้าเป็นแผ่นบาง ๆ อบให้แห้ง แล้วนำไปอบด้วยความร้อนสูงให้เรซินรวมตัวเป็นโมเลกุลใหญ่ใช้ย้อมผ้าตัดเสื้อและผ้าตกแต่งเครื่องเรือน ความคงทนต่อการขัดสีดีมากแต่เรซินมักทำให้ผิวสัมผัสของผ้าแข็งกระด้าง

13. สีรีแอกตีฟ (Reactive dyes)

เป็นสีที่ละลายน้ำได้ สามารถย้อมติดใยเซลลูโลสได้ดีที่สุด มีคุณสมบัติเป็นแอนไอออนเมื่ออยู่ในน้ำย้อมซึ่งเป็นด่าง โมเลกุลของสีจะทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซี่ในเซลลูโลสและเชื่อมโยงติดกันโดยพันธะโควาเลนท์กลายเป็นสารประกอบเคมีชนิดใหม่กับเซลลูโลส คุณสมบัติการละลายและดูดติดเส้นใยของตัวสีทำให้สีเข้าไปอยู่ภายในเส้นใย เมื่อเกิดปฏิกิริยาตัวสีจะยึดติดเส้นใยทำให้มีความคงทนต่อการซักล้าง

2.2.1.3 จำแนกตามโครงสร้างเคมี

การจำแนกสีแบบนี้ใช้โครงสร้างเคมีของตัวสีเป็นหลักอีกประการหนึ่ง ตัวสีซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีในการแบ่งสีตามลักษณะการย้อมบางตัวจะอยู่ในกลุ่มเคมีหนึ่ง อีกกลุ่มหนึ่งอาจทำให้เกิดความสับสนขึ้นได้แต่สามารถจดจำได้จะทำให้ใช้ตัวสีได้ถูกต้องยิ่งขึ้น การจำแนกสีย้อมตามโครงสร้างเคมีสามารถแบ่งได้เป็น 11 ประเภท ดังนี้

1. Azo colorants
2. Phenylmethane dyes
3. Xanthene dyes
4. Indigoid dyes
5. Polycyclicquinone dyes
6. Sulphur fusion dyes
7. Amine oxidation colorants
8. Phthalocyanine colorants
9. Onium dyes
10. Reactive dyes
11. Pigments

2.2.2 สารเคมีที่ใช้ช่วยในกระบวนการฟอกย้อมรวมทั้งสารเคมีที่ใช้ในการตกแต่งสำเร็จ

สารช่วยย้อมถือเป็นสิ่งจำเป็นในกระบวนการย้อมเนื่องจากเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาให้สีซึมเข้าไปภายในเส้นใยได้เร็วขึ้น และทำให้สีติดทนทานสม่ำเสมอสารช่วยย้อมที่สำคัญและใช้มากมีอยู่ 7 ชนิด ดังนี้

2.2.2.1 กรด

ใช้สำหรับย้อมใยโปรตีนและไนลอนด้วยสีแอซิดทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายสีทำให้ประจุไฟฟ้าลบในเส้นใยน้อยลงและเพิ่มประจุไฟฟ้าบวก แอนไอออนจึงสามารถเข้าไปติดภายในเส้นใยได้ตัวสีที่ดูดซึมน้อยต้องเพิ่มกรดให้มากขึ้น ทำให้ตัวสีซึมกระจายตัวจาก

ส่วนที่ติดสีมากไปยังส่วนที่ติดสีน้อยทำให้ย้อมได้สีสม่ำเสมอ สีประเภทนี้ต้องการกรดแก่เพื่อสามารถซึมเข้าไปภายในเส้นใยได้มากขึ้น

2.2.2.2 ด่าง

ใช้สำหรับช่วยย้อมใยเซลลูโลสด้วยสีอะโซอิค แว๊ท กำมะถัน รีแอกตีฟ สีแว๊ท และสีกำมะถันต้องย้อมที่เป็นด่างแก่และมีสารรีดิวว์รวมอยู่ด้วย สีอะโซอิคละลายในด่างแก่ (โซดาไฟ) ส่วนสีรีแอกตีฟใช้ด่างอ่อน (โซเดียมคาร์บอเนต) ทำหน้าที่ให้โมเลกุลของสีทำปฏิกิริยายึดติดกับโมโลกุลของใยเซลลูโลสได้ดียิ่งขึ้น

2.2.2.3 เกลือ

ใช้สำหรับช่วยย้อมใยขนสัตว์ด้วยสีแอซิดหรือสีแว๊ท

2.2.2.4 สารที่ทำให้สีสม่ำเสมอ

เป็นสารที่ช่วยลดคุณสมบัติการดูดติดเส้นใยของสีให้ช้าลงทำให้สีติดเส้นใยสม่ำเสมอ สารประกอบที่มีคุณสมบัติเช่นนี้เรียกว่า Surface active levelling agent ปฏิกิริยาของสารนี้แบ่งออกเป็น 2 ขั้น สารประเภทนี้เป็นสารที่ดูดติดเส้นใยได้ง่าย ในขั้นต้นจึงแข่งขันกันซึมเข้าไปภายในเส้นใยดังจะเห็นได้จากการย้อมขนสัตว์หรือไนลอนที่สีดูดติดเส้นใยได้เร็วมาก ขณะเดียวกันสารเคมีนี้จะไปเพิ่มพลังงานให้แก่สีย้อมเพื่อรักษาสภาพเดิมของตัวสีไว้ไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำรวมตัวกันเป็นสารประกอบสมบูรณ์ชนิดใหม่จึงทำให้สีรวมกับเส้นใยได้ช้าลง

2.2.2.5 สารพา (Carriers)

เป็นสารที่มีคุณสมบัติทำให้สารย้อมสีเข้มได้แม้ใช้กระบวนการย้อมปกติ โดยมากใช้เป็นสารช่วยในการย้อมใยโพลีเอสเตอร์ ทำหน้าที่ได้โดยดูดติดอยู่ที่ผิวเส้นใยก่อน เมื่อสีเข้าไปติดตัวสีจะละลายเส้นใยจะดูดสีไว้ได้มากขึ้น ระดับการติดสีจะเพิ่มขึ้น

2.2.2.6 สารละลายอินทรีย์

ใช้เป็นสารช่วยย้อมขนสัตว์และไนลอนในกรณีที่สีย้อมละลายน้ำได้น้อย จะทำให้การย้อมได้ผลดีขึ้น รวดเร็วขึ้น และเส้นใยจะมีลักษณะดีกว่าการย้อมตามปกติ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารละลายอินทรีย์สามารถก่อเป็นเยื่อบาง ๆ ภายในเส้นใยได้อย่างรวดเร็ว ทำให้สีซึมผ่านเข้าไปติดเส้นใยได้เร็วขึ้น

2.2.2.7 สารรีดิวซ์

ใช้กับสีที่ไม่ละลายน้ำโดยจะทำให้โมเลกุลของสีมีขนาดเล็กลงจนสามารถซึมผ่านเข้าไปในช่องว่างของเส้นใยได้ สารรีดิวซ์โดยส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบโซเดียมและสารตัวอื่นช่วยให้ละลายน้ำได้ดีขึ้น เมื่อย้อมเรียบร้อยแล้วต้องทำให้ตัวสีนั้นกลับเป็นตัวสีที่ไม่ละลายน้ำตามเดิม

2.2.3 สิ่งสกปรกเจือปนในเส้นใย

วัสดุสิ่งทอที่ถูกนำมาผ่านกระบวนการฟอกย้อมล้วนแต่มีสิ่งสกปรกเจือปนมาบ้างไม่มากก็น้อย โดยทั่วไปเส้นใยธรรมชาติจะมีสิ่งสกปรกเจือปนสูงกว่าเส้นใยสังเคราะห์ เพราะนอกจากจะมีสิ่งสกปรกเจือปนที่ติดมาในระหว่างการผลิตแล้ว ยังมีสิ่งสกปรกเจือปนที่ติดมากับธรรมชาติซึ่งมีปริมาณค่อนข้างมาก เช่น เส้นใยขนแกะมีสิ่งสกปรกเจือปนที่ติดมากับธรรมชาติที่ต้องขจัดออกไปในขั้นตอนการเตรียมผ้าถึง 10 เปอร์เซ็นต์ สิ่งสกปรกเจือปนเหล่านี้มีทั้งที่เป็นสารขี้ผึ้ง ไขมัน และโปรตีน ตลอดจนสารประกอบโลหะต่าง ๆ นอกจากนี้ ในกระบวนการผลิตก็ยังมีการเติมสารเคมีต่าง ๆ ลงไปในเส้นใยด้วย เช่น สารพวกหล่อลื่น และแป้งที่ใช้ในการลงแป้งเส้นด้ายยืน เป็นต้น สิ่งสกปรกเจือปนเหล่านี้จะถูกขจัดออกจากเส้นใยในขั้นตอนการเตรียมผ้าก่อนการฟอกย้อม และจะหลุดติดมาในน้ำเสียจากขั้นตอนการเตรียมผ้า

2.2.4 เส้นใย

ในน้ำเสียจากกระบวนการฟอกย้อม มีองค์ประกอบอันหนึ่งที่จะหลีกเลี่ยงไม่ได้ คือ เส้นใยที่หลุดออกมา เศษเส้นใยนี้หากมีปริมาณมากก็อาจจะทำให้เกิดปัญหาการอุดตันของน้ำเสียในเครื่องย้อมได้ นอกจากนี้ในกรณีของเส้นใยโพลีเอสเตอร์ยังมีสารโอลิโกเมอร์ (Oligomer) ที่อาจหลุดออกมาจากเส้นใยและปะปนในน้ำเสียด้วย

2.2.5 สิ่งสกปรกเจือปนอื่น ๆ

นอกจากสิ่งสกปรกเจือปนต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นแล้ว น้ำเสียจากกระบวนการฟอก-ย้อมยังอาจมีสิ่งสกปรกเจือปนชนิดอื่น ๆ อีก เช่น สารเคมีพิเศษที่ใช้ในการขจัดรอยเปื้อนบนผ้าซึ่งมักจะมีสารประกอบพวก Chlorinated benzene พวกสารเคมีที่ใช้ในการล้างเครื่องเหล่านี้เป็นต้น ซึ่งสารเคมีบางตัวก็จะมีผลอย่างมากต่อลักษณะของน้ำเสียในภายหลัง

จากที่กล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าสิ่งสกปรกเจือปนในน้ำเสีย จากกระบวนการฟอก-ย้อม มีความหลากหลายอย่างยิ่งในแง่ขององค์ประกอบทางเคมี แต่น้ำเสียจากอุตสาหกรรมประเภทนี้ก็ยังมีข้อดีอยู่บ้างตรงที่สารส่วนใหญ่เป็นสารที่ง่ายต่อการบำบัด และมีค่าความเป็นพิษต่ำ

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะสมบัติของน้ำเสีย

น้ำเสียจากอุตสาหกรรมฟอกย้อมกล่าวได้ว่าเป็นน้ำเสียที่มีความหลากหลายเป็นอย่างยิ่งในแง่ของส่วนประกอบของสิ่งสกปรกเจือปนในน้ำเสีย ซึ่งแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ คือ

2.3.1 กระบวนการฟอกย้อมผลิตภัณฑ์

กระบวนการฟอกย้อมผลิตภัณฑ์แบ่งออกเป็น 3 กระบวนการใหญ่ ๆ ดังนี้

2.3.1.1 กระบวนการฟอกย้อมเส้นด้าย กระบวนการนี้เริ่มจากนำด้ายดิบไปผ่านกระบวนการเตรียมแล้วจึงทำการย้อมสี

2.3.1.2 กระบวนการฟอกย้อมผ้าทอกระบวนการนี้เริ่มต้น จากการลอก-แป้ง การทำความสะอาด การชุบมัน และฟอกขาว แล้วจึงนำมาย้อมสีก่อนการตกแต่งสำเร็จ

กระบวนการฟอกย้อมผ้าถัก

กระบวนการฟอกย้อมผ้าถักจะมีลักษณะคล้ายคลึงกับการฟอกย้อมผ้าทอ แตกต่างกันที่การฟอกย้อมผ้าถักจะไม่มีขั้นตอนการลอกแป้ง

2.3.2 ชนิดของสารลงแป้งบนผ้าทอ

ชนิดของสารลงแป้งบนผ้าทอมีผลอย่างมากต่อลักษณะของน้ำเสีย โดยเฉพาะแป้งที่ใช้กับผ้าฝ้าย ส่วนใหญ่จะเป็นแป้งธรรมชาติซึ่งมีค่าบีโอดีสูง

2.3.3 ชนิดความสกปรกของเส้นใย

โดยทั่วไปน้ำเสียจากการฟอกย้อมเส้นใยธรรมชาติจะมีความสกปรกมากกว่าเส้น-ใยสังเคราะห์ เนื่องจากสิ่งสกปรกเจือปนติดมามากกว่า

2.3.4 ชนิดสีย้อมและกรรมวิธีการย้อม

เส้นใยแต่ละชนิดจะมีสีย้อมให้เลือกใช้ได้หลายประเภท แต่ละประเภทก็มีกรรม-วิธีการย้อม และมีความจำเป็นต้องใช้สารเคมีในการช่วยย้อมที่แตกต่างกันไป นอกจากนี้ใน

การย้อมสีย้อมแต่ละประเภทก็ยังมีกรรมวิธีการย้อมให้เลือกได้หลายวิธี และแต่ละวิธีก็มีการใช้สารเคมีที่แตกต่างกัน

2.4 ลักษณะของน้ำเสียจากการย้อมผ้า

จันทิดา และวิราภรณ์ (2544) ได้กล่าวว่า ลักษณะของน้ำเสียจากการย้อมผ้าค่อนข้างยุ่งยากที่จะอธิบายเจาะจงลงไป เนื่องจากการย้อมผ้าขึ้นอยู่กับชนิดของสีที่ใช้ ความเข้มของสี และกรรมวิธีต่าง ๆ ที่แตกต่างกันไป แต่โดยทั่วไปแล้วจะมี pH ค่อนข้างสูง ส่วนค่าบีโอดีและตะกอนแขวนลอยของโรงงานสิ่งทอในประเทศไทย ได้แสดงในตาราง 2

ตาราง 2 ลักษณะของน้ำเสียจากการย้อมผ้า

พารามิเตอร์	จำนวนข้อมูล		พิสัย	ค่าเฉลี่ย
	ที่ได้มา	ที่นำมาใช้		(มิลลิกรัม./ลิตร)
บีโอดี	155	126	60 - 900	230
ตะกอนแขวนลอย	111	86	0 - 500	160

ที่มา: ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2532 อ้างโดย จันทิรา และวิราภรณ์ (2544)

2.5 ผลกระทบของการทิ้งน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าลงสู่แหล่งน้ำ

จันทิดา และวิราภรณ์ (2544) กล่าวว่าน้ำเสียจากการปล่อยทิ้งของโรงงานย้อมผ้าลงสู่แหล่งน้ำโดยไม่ได้ผ่านการบำบัดอย่างถูกต้องเมื่อถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำจะมีผลกระทบต่อแหล่งน้ำนั้นมลสารที่ก่อให้เกิดมลพิษทางน้ำมีดังนี้

2.5.1 น้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้ามักมีปริมาณสารอินทรีย์สูง ดังนั้นจุลินทรีย์ประเภทแอโรบิกแบคทีเรียจะย่อยสลายสารอินทรีย์จากการใช้ออกซิเจนซึ่งทำให้ปริมาณออกซิเจน

ในน้ำลดลง เมื่อออกซิเจนในน้ำมีน้อย การย่อยสลายสารอินทรีย์จะเปลี่ยนเป็นประเภทไร้ออกซิเจน โดยจุลินทรีย์ประเภทแอนโรบิคแบคทีเรีย ซึ่งใช้ออกซิเจนที่มีอยู่ในรูปสารประกอบอื่น ๆ เช่น อนุมูลไนเตรต และอนุมูลซัลเฟต ทำให้เกิดปฏิกิริยามีก๊าซไนโตรเจน และก๊าซไฮโดรเจน-ซัลไฟท์ เกิดขึ้น ซึ่งก๊าซไนโตรเจนที่ได้ลอยขึ้นสู่ผิวน้ำและอาจทำให้เกิดการฟุ้งกระจายของตะกอน ทำให้น้ำขุ่น ส่วนก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟท์นั้นมีกลิ่นเหม็นทำให้แหล่งน้ำมีสภาพไม่น่าดู

2.5.2 สารแขวนลอย

น้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้านอกจากมีสารอินทรีย์แล้วยังมีสารแขวนลอยในปริมาณสูง สารแขวนลอยเหล่านี้จะทำให้น้ำขุ่น และจะบดบังแสงอาทิตย์ที่ส่องมายังแหล่งน้ำ ทำให้พืชที่อยู่ในบริเวณลึกลงไปได้รับแสงน้อย การสังเคราะห์แสงลดลงทำให้ปริมาณออกซิเจนน้อยลง และทำให้เกิดผลกระทบต่อแหล่งน้ำ เช่นเดียวกับสารอินทรีย์

2.5.3 ผงซักฟอก

ผงซักฟอกเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้การถ่ายเทก๊าซออกซิเจนจากอากาศไปยังผิวน้ำลดลงเนื่องจากผงซักฟอกจะก่อตัวเป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ อยู่ที่ผิวน้ำซึ่งมีผลกระทบต่อเนื่องถึงสิ่งมีชีวิตในน้ำ และปฏิกิริยาการย่อยสลายทางชีววิทยาที่ต้องใช้ออกซิเจนละลายน้ำ

2.5.4 สี

สีย้อมผ้าบางชนิดเป็นสารประกอบอะโซ (Azo compound) โดยกลุ่มอะโซบางตัวสามารถเกิดการแตกตัวให้สารประกอบแอมมีน ซึ่งสารประกอบนี้บางตัวเป็นอันตราย และอาจเป็นสารก่อมะเร็ง นอกจากนี้น้ำเสียที่มีสีเข้มก่อให้เกิดความรู้สึกน่ารังเกียจต่อผู้พบเห็นและยังขัด-ขวางการเดินทางของแสงลงสู่แหล่งน้ำซึ่งจะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศน์ของแหล่งน้ำนั้นด้วย

3. การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า

น้ำเสียจากอุตสาหกรรมการย้อมผ้า จะพบว่าจะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเนื่องมาจากการขยาย-ตัวของตลาดอุตสาหกรรมสิ่งทอ โดยสังเกตจากปริมาณการสั่งซื้อสีที่มีการเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนเจ็ดหมื่นตันต่อปี ทำให้มีความตระหนักและความพยายามในการหาวิธีการบำบัดน้ำเสียที่เหลือจากอุตสาหกรรมการย้อมผ้า เพราะสีที่เหลือจากการย้อมเป็นสิ่งที่สร้างปัญหา โดยพบว่าในกระบวนการย้อมผ้า สีที่มีปริมาณมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ มีการหลุดออกมากับน้ำเสีย ถึงแม้การที่สีย้อมมี

จำนวนน้อยที่ออกมากับน้ำเสียก็ยังสร้างปัญหา เนื่องจากส่วนมากสีที่ใช้ย้อมจะเป็นสีที่สามารถละลายน้ำ มีส่วนประกอบของพวกกลุ่ม Hydroxyl ดังนั้นจึงมีความสามารถในการละลายน้ำสูง ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวมีผลต่อการโปร่งแสง การส่องผ่านของแสงสว่างลงสู่ใต้ผิวน้ำทำให้เกิดมลภาวะทางน้ำ รวมทั้งก่อให้เกิดทัศนอุดจาด รวมทั้งสีบางชนิดถ้ามีการแตกตัวของอนุภาคจะทำให้ได้สารที่มีความเป็นพิษส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

Banat, et al. (1996) มีการศึกษาพบว่า สีที่มีการปล่อยออกมากับน้ำเสียจะมีปริมาณโดยทั่วไปประมาณเท่ากับ 1.56 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่จากการทดสอบพบว่าแม้ว่าปริมาณ สีเพียง 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็สามารถสร้างทัศนอุดจาดในการมองเห็นภายในแหล่งน้ำได้

ดังนั้นจึงมีแนวความคิดและการศึกษาเพื่อหาเทคโนโลยีที่นำมาใช้ในการแก้ปัญหานี้ โดยในการนำเทคโนโลยีมาใช้ต้องมีข้อคำนึงถึง คือ ความเป็นไปได้ในการปฏิบัติและการหาแหล่งที่รองรับในการบำบัดน้ำเสีย โดยจะพบว่าเทคโนโลยีที่นำมาใช้มีทั้งทางกายภาพเคมี และชีวภาพ สีบางส่วนในน้ำเสียสามารถกำจัดออกได้แต่ยังมีสีที่ไม่สามารถกำจัดออกได้และมีการนำน้ำกลับเข้ามาใช้ในระบบการผลิตใหม่ โดยการนำน้ำกลับมาใช้ใหม่หรือใช้ซ้ำอีกเท่าที่จะทำได้ และต้องมีการเลือกสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการเตรียมควรเลือกใช้ให้เหมาะสม คือ เลือกชนิดที่สามารถใช้ซ้ำได้อีก โดยไม่ทำให้เกิดปัญหาขึ้นเช่นเกิดเป็นจุดบนผ้า (Spotting) เป็นต้น

ขั้นตอนสำคัญที่ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าเป็นขั้นตอนที่สามารถจะนำสารเคมีและสีย้อมกลับมาใช้ใหม่หรือใช้ซ้ำได้อีกอย่างได้ผล ได้แก่ การใช้น้ำสีย้อมจากอ่างย้อมซ้ำอีกจากขั้นตอนดังกล่าวข้างต้น แม้ว่าเทคโนโลยีที่รู้จักแพร่หลายมานานหลายปี และเป็นวิธีการที่สามารถลดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้อย่างมาก เพราะนอกจากจะเป็นการลดสารเคมี เกลือ ด่าง และสีแล้ว ยังเป็นการลดค่า ซีโอดี และบีโอดี ในน้ำที่จะบำบัดอีกด้วย หากแต่วิธีการเหล่านี้ก็ไม่เป็นที่นิยมใช้กันเพราะที่ผ่านการย้อมมาแล้วทำให้เกิดปัญหา คือ คุณภาพผลิตภัณฑ์ การใช้น้ำย้อมสีซ้ำจะต้องมีการปรับความเข้มข้นของสีย้อมและปริมาณสารเคมี จึงทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มสีไปจากเดิม เนื่องจากสิ่งสกปรกบนผ้าที่ย้อมในครั้งแรกจะลงไปอยู่ในอ่างย้อมทำให้การควบคุมคุณภาพสีทำได้ยากขึ้น โดยเฉพาะการย้อมให้ได้ความเข้มสีที่เหมือนเดิม ดังนั้นหากต้องการผลิตภัณฑ์คุณภาพสูงวิธีการนี้จะมีความยุ่งยากมาก และมีสีย้อมบางประเภทเท่านั้นที่สามารถนำ น้ำย้อมจากอ่างย้อมมาย้อมซ้ำ ได้แก่ สีซัลเฟอร์ สีแว้ท และสีดิสเพิร์ส ดังนั้นการนำกลับมาใช้ใหม่จะต้องมีการพิจารณาให้มีความเหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียอาจมีการใช้หลาย ๆ

วิธีเข้าร่วมกัน เช่น การกำจัดสีบางส่วนออกก่อนไม่ว่าจะใช้ทางกายภาพเคมี หรือ ทางชีวภาพ เนื่องจากการปรับปรุงคุณภาพก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดทำให้ประสิทธิภาพดีขึ้น และน้ำเสียที่หลังจากกระบวนการบำบัดแล้วมีคุณภาพตามมาตรฐานกำหนด สามารถปล่อยออกสู่สภาพแวดล้อมโดยไม่ก่อให้เกิดปัญหาต่อสภาพแวดล้อม

โดยปกติการบำบัดจะทำได้หลายวิธี โดยจะแบ่งออกเป็นวิธีการใหญ่ ๆ ได้ 2 วิธี คือ

3.1 วิธีการบำบัดทางกายภาพและทางเคมี

ซึ่งสามารถแบ่งได้ 5 วิธีดังต่อไปนี้

3.1.2 โคแอกกูเลชั่นด้วยสารเคมี (Chemical coagulation)

โคแอกกูเลชั่นหรือการสร้างตะกอนเคมี ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนใหญ่ ๆ คือ ขั้นตอนการเติมสารเคมีพวกสารสร้างตะกอน (Coagulant) ซึ่งได้แก่ สารส้ม ปูนขาว เกลือของเหล็ก และสารโพลีอีเล็กโทรไลต์ เป็นต้น และเมื่อผสมกับน้ำเสียที่มีตะกอนแขวนลอยเล็ก ๆ ขั้นตอนที่สองคือการกวนอย่างช้า ๆ เพื่อให้เกิดสภาพรวมตะกอน (Flocculation) ซึ่งได้มีการเกาะกันระหว่างตะกอนแขวนลอยเล็กๆกับการสร้างตะกอน จนได้ตะกอนที่มีขนาดใหญ่ขึ้นจนสามารถตกตะกอนได้ สาเหตุที่ต้องทำการกวนช้า ๆ เพราะไม่ให้สภาพการเกาะตัวกันเกิดการแตกหลุดจากกันของตะกอนเล็ก ๆ เหล่านั้น การหาปริมาณสารเคมีที่ต้องการใช้จำเป็นต้องมีการทดลอง ซึ่งนิยมเรียกว่า จาร์เทสต์ (Jar test) โดยในการทดลองจะมีทั้งกระบวนการกวนเร็ว 100 รอบต่อนาที ประมาณ 1 นาที ตามด้วยการกวนช้า 20 - 70 รอบต่อนาที ประมาณ 20 นาที ในกระบวนการกำจัดสีย้อมด้วยโคแอกกูเลชั่นนั้น มีสารเคมีสร้างตะกอนให้เลือกหลายชนิด การนำสารสร้างตะกอนชนิดใดไปใช้นั้นขึ้นอยู่กับความเหมาะสม โดยดูปัจจัยด้านประสิทธิภาพ ค่าใช้จ่าย วัตถุประสงค์ และอื่น ๆ

3.1.2 การดูดติดผิว (Adsorption)

การดูดติดผิวเป็นความสามารถของสารบางชนิดในการดึงโมเลกุลหรือคอลลอยด์ซึ่งอยู่ในของเหลวหรือก๊าซให้มาจับและติดบนผิวโมเลกุลหรือคอลลอยด์ เรียกว่า สารถูกดูด (Adsorbate) ส่วนของแข็งที่มีผิวเป็นที่เกาะจับเรียกว่า สารดูดติด (Adsorbent) และเรียกกลไกตั้งแต่มีโมเลกุลหรือคอลลอยด์เคลื่อนที่ไปเกาะติดกับพื้นที่ของอีกสารหนึ่งว่า การดูดติดผิว

(Adsorbtion) การเกาะจับโมเลกุลบนผิวของสาร อาจเกิดขึ้นด้วยแรงกายภาพ เช่น แรงแวนเดอร์วาล (Van der waals) หรือด้วยแรงทางเคมีหรือทั้งสองอย่างรวม

โดยทั่วไปกระบวนการดูดติดผิวในกระบวนการกำจัดสีและกลิ่นในน้ำประปาและกระบวนการกำจัดสีในน้ำเสียจะนิยมใช้แอคติเวทเต็ดคาร์บอนซึ่งมีพื้นที่ผิวจำเพาะสูงทำให้มีความสามารถในการดูดติดผิวสูงตามไปด้วย

3.1.3 โอโซนเนชัน

โอโซนเนชันเป็นการกำจัดสีในน้ำเสียโดยใช้โอโซน (O_3) เป็นตัวออกซิไดซิง - เอเจนต์ไปทำปฏิกิริยากับสีที่อยู่ในน้ำทิ้งเช่นเดียวกับการใช้คลอรีน แต่โอโซนมีความสามารถในการออกซิไดซิงสูงกว่าคลอรีนเกือบ 1 เท่า การผลิตโอโซนกระทำได้โดยผ่านอากาศแห้งหรือออกซิเจนบริสุทธิ์ไประหว่างขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว ที่มีความต่างศักย์ประมาณ 15,000 - 20,000 โวลท์ อะตอมของออกซิเจนจะถูกบังคับให้จับตัวกันใหม่กลายเป็นโอโซน (O_3) อากาศแห้ง 1 ลูกบาศ์ท-เมตร สามารถผลิตโอโซนได้ไม่เกิน 30 กรัม หรือเท่ากับ 1.4 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ถ้าใช้ออกซิเจนบริสุทธิ์แทนอากาศแห้งอาจได้โอโซนเพิ่มเป็น 60 - 90 กรัมต่อลูกบาศ์ทเมตร โอโซนสามารถทำให้ของเหลวได้แต่นิยมใช้ในรูปก๊าซมากว่าโอโซนเป็นก๊าซพิษที่ก่อให้เกิดความระคายเคืองรุนแรง คนสามารถทนโอโซนได้ถึง 0.1 PPM โดยปริมาตรโดยไม่เป็นอันตราย แต่ถ้าให้คนดมโอโซนเข้มข้นประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ (ที่ผลิตได้โดยตรงจากเครื่อง) จะถึงแก่ความตายภายใน 1 นาที

3.1.4 เทคโนโลยีการใช้แผ่นเมมเบรน

เทคโนโลยีของการใช้แผ่นเมมเบรนประกอบด้วยวิธีอุลตราฟิลเตรชันและรีเวอร์สออสโมซิส วิธีอุลตราฟิลเตรชันมีหลักการทำงานของระบบคือใช้แผ่นเยื่อกระดาษ (Membrane) แบบ Porous พวกเซลลูโลสอะซิเตต หรือโพลีเมอร์สังเคราะห์ต่าง ๆ และอัดน้ำเข้าไปด้วยแรงดันไม่เกิน 1,034 กิโลนิวตัน/ตารางเมตร เยื่อกรองจะทำหน้าที่แยกสารปนเปื้อนทั้งแบบละลายน้ำและตะกอนเล็กที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 500 ถึง 500,000 และขนาดตั้งแต่ 2×10^{-6} ถึง 1×10^{-2} มิลลิเมตร ได้สำหรับวิธีรีเวอร์สออสโมซิส สามารถแยกสารปนเปื้อนที่มีขนาดตั้งแต่ 4×10^{-7} ถึง 6×10^{-5} มิลลิเมตร ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าวิธีอุลตราฟิลเตรชัน นิยมใช้ในการแยกเกลือที่ละลายน้ำได้ด้วยการกรองแผ่นเยื่อกรองแบบเยื่อกึ่งซึมผ่านได้ (Semipermeable membrane) ที่ความดันตั้งแต่ความดันบรรยากาศจนถึง 6,900 กิโลนิวตัน/ตารางเมตร ระบบนี้

ประกอบด้วยแผ่นกรอง ตัวถัง และเครื่องสูบน้ำที่ให้ความดันสูง พวกเยื่อกรองที่นิยมใช้กันมาก ได้แก่ เซลลูโลสอะซิเตต และไนลอน

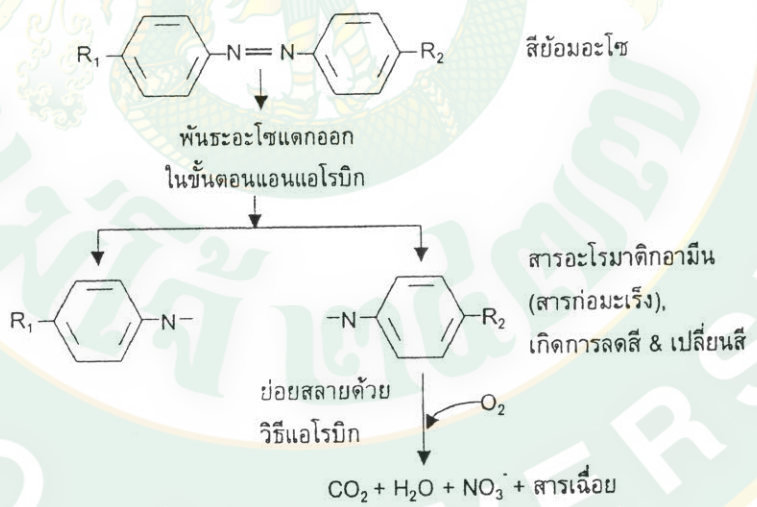
วิธีการที่กล่าวมามีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมจากน้ำเสียของอุตสาหกรรมฟอกย้อม ในปัจจุบันนี้วิธีที่ได้รับการนำมาใช้อย่างจริงจัง ได้แก่ วิธีอุลตราฟิลเตรชัน ซึ่งเป็นเทคโนโลยีในการนำวัสดุกลับมาใช้ใหม่ ซึ่งพบว่าสามารถนำ PVA โซดาไฟ สีย้อมอินดิโก และน้ำกลับมาใช้ได้อย่างประสบความสำเร็จ แม้ว่ากระบวนการนี้จะปรากฏให้เห็นว่าสามารถกำจัดสีย้อม และสารที่เติมได้ทุกประเภท แต่ก็ยังไม่มีการนำมาใช้ในทางปฏิบัติเนื่องจากความยุ่งยากในการแยกสีผสม (สีผสมโดยส่วนใหญ่เป็นกรณีของน้ำจากขั้นตอนการย้อม และการตกแต่งสำเร็จ)

3.1.5 ไฟฟ้าเคมี

วิธีไฟฟ้าเคมีหรืออิเล็คโตรเคมิคัล เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพดีวิธีหนึ่งแต่ใช้กันน้อยมากในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมฟอกย้อม เดิมทีการบำบัดด้วยวิธีนี้ถูกใช้เพื่อกำจัดโลหะหนักจากน้ำเสียอุตสาหกรรม ต่อมาได้มีการปรับปรุงเพื่อนำมากำจัด บีโอดี, ซีโอดี, สารแขวนลอย และสีในน้ำทิ้ง ลักษณะการทำงานมีองค์ประกอบหลัก คือ แหล่งจ่ายไฟฟ้ากระแสตรง (DC power source) ขั้วไฟฟ้าอย่างน้อย 2 ขั้ว (Electrode) และสารละลายนำไฟฟ้า (Electrolyte solution) เมื่อทำการผ่านกระแสไฟฟ้าสู่เซลไฟฟ้าเคมีที่ผ่านแผ่นแม่เหล็ก (Fe) เป็นขั้วไฟฟ้าพบว่าขั้วบวก (Anode) จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเหล็ก ซึ่งทำให้แผ่นเหล็กเกิดการสึกกร่อนและละลายออกมาในรูปของเฟอรัสอิออน (Fe^{2+}) ที่ละลายอยู่ในน้ำ เมื่อเวลาผ่านไปปริมาณของ Fe^{2+} จะเพิ่มปริมาณมากขึ้น ในขณะเดียวกันที่ขั้วลบ (Cathode) จะเกิดปฏิกิริยารีดักชั่นของน้ำ ซึ่งน้ำจะเกิดการแตกตัวให้ก๊าซไฮโดรเจน (H^2) และไฮดรอกไซด์อิออน (OH) เมื่อเวลาผ่านไปน้ำจะมีสภาพเป็นด่าง และทำให้เกิดตกตะกอนของเฟอรัสอิออนและเฟอริกอิออนซึ่งจะดูดติดและช่วยตกตะกอนของโลหะหนักสีย้อมหรือสิ่งปนเปื้อนต่าง ๆ ในน้ำเสียและพบว่าการกำจัดโดยทางกายภาพและทางเคมีนั้นเป็นกระบวนการที่ใช้การลงทุนที่สูงมาก ในการจัดการถึงแม้ว่าจะสามารถกำจัดสีออกจากน้ำเสียได้แต่ก็ยังเกิดปัญหาของการสะสมของของเสียที่เกิดจากการใช้กระบวนเหล่านี้ เช่น กระบวนการโคแอกกูเลชันโดยใช้สารเคมีทำให้ตะกอนออกมาในปริมาณมาก ซึ่งต้องหาแนวทางในการกำจัดตะกอนไม่เช่นนั้นจะก่อให้เกิดปัญหาขึ้นอีก และในการทำการบำบัด Robinson, et al. (2001) ได้ทำการศึกษาพบว่าการบำบัดน้ำเสียที่ต้องการกำจัดสีออกนั้นถ้ามีการจัดการระบบบำบัดทีมีขนาดใหญ่จะทำให้สามารถกำจัดสีได้อย่างมีประสิทธิภาพและสามารถลดต้นทุนของการดำเนินการและการดูแลควบคุมได้

3.2 การบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ

การกำจัดน้ำเสียทางชีวภาพ เป็นการกำจัดสีออกด้วยกระบวนการวิธีการใช้แบคทีเรียซึ่งเป็นทางเลือกที่สามารถกำจัดสีได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีข้อได้เปรียบกว่าวิธีการกำจัดสีทางกายภาพและทางเคมี โดยเฉพาะการใช้แบคทีเรียที่มีความสามารถในการใช้สีเข้าไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมในเซลล์ ในสภาพการบำบัดที่มีอากาศและไม่ใช้อากาศ แต่พบว่าการบำบัดโดยใช้แบคทีเรียในสภาพที่ไม่มีอากาศนั้นแบคทีเรียสามารถลด Electrophilic azo bond ภายในโมเลกุลของสีได้เป็นอย่างดี โดยที่แบคทีเรียสามารถผลิตเอนไซม์ที่มีลักษณะเฉพาะ คือ Cytoplasmic azo reductases โดยการย่อยสลายพันธะอะโซในโมเลกุลของสีที่แขวนลอยอยู่ใน น้ำเสียกลายเป็นสาร Aromatic amine แต่สารที่ย่อยออกมาจะเป็นสารที่มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่สารกลุ่มนี้ถ้ามีการใช้แบคทีเรียที่เจริญภายใต้สภาพที่มีอากาศมีออกซิเจนจะมีการใช้สารประกอบ พวก Amino ใน Aromatic amine เปลี่ยนจากสารที่มีพิษกลายเป็นสารประกอบที่ไม่เป็นพิษ



ภาพ 1 ขั้นตอนการสลายตัวของพันธะอะโซซึ่งเป็นกลไกการลดสี (Hamburger, 1987; Chinwetkitvanich, 2000; Panswad and Luangdilok, 2000)

Lourenco, et al. (2001) ได้ทำการศึกษาพบว่า การใช้ระบบบำบัดแบบ Sequential anaerobic - arobic ซึ่งเป็นการกำจัดน้ำเสียอย่างมีประสิทธิภาพ โดยที่สาร Amine จะสามารถเปลี่ยนแปลงภายใต้สภาพที่มีออกซิเจน โดยกระบวนการ Hydrolylation pathway มีผลต่อการทำลายวงแหวนของ Amine

การที่เซลล์ของแบคทีเรียสามารถลดปริมาณสีได้เนื่องจากเซลล์ของแบคทีเรียที่คัดแยกมาใช้เพื่อการบำบัดสามารถสร้างเอนไซม์ออกมาเพื่อใช้ในการลดสีแต่ถ้าจะทำเอนไซม์บริสุทธิ์เพื่อใช้ในการบำบัดนั้นจะมีเรื่องต้นทุนเข้ามาเกี่ยวข้องเนื่องจากจะต้องมีต้นทุนมากในการทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์และมีความยุ่งยากในการควบคุมดูแล การใช้เอนไซม์ไม่ให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมรวมทั้งเอนไซม์ยังมีความว่องไวต่อการเสื่อมสภาพได้ง่ายเมื่อนำมาใช้งานจริงจึงไม่สามารถให้ประสิทธิภาพที่ดี

3.2.1 การใช้เซลล์แบคทีเรียผสม (Mixed bacterial culture)

จากการใช้แบคทีเรียผสมในการกำจัดสีที่โครงสร้างพันธะอะโซนั้นมีข้อดีคือเซลล์แบคทีเรีย จะมีกิจกรรมในการย่อยสลายสีในระดับสูง เนื่องจากมีการทำงานร่วมกันของเซลล์แบคทีเรียหลาย ๆ ชนิด เช่นตัวอย่างงานวิจัยที่แสดงให้เห็นดังตาราง 3

3.2.2 การใช้เซลล์แบคทีเรียชนิดเดียว (Single bacterial culture)

จากการใช้แบคทีเรียชนิดเดียว ในการกำจัดสีที่โครงสร้างพันธะอะโซ เมื่อมีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับการกำจัดสีที่โดยแบคทีเรียผสมจะเห็นได้ว่าการได้มาของข้อมูลจากการทดลองและวิธีการต่าง ๆ ที่จะนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้นั้นง่ายกว่า เช่นสามารถมีการบ่งบอกถึงกลไกทางชีวเคมีและระดับไคเนติกส์ของการกำจัดสีในแต่ละชนิดแบคทีเรียได้ดังแสดงในตาราง 4

ตาราง 3 การย่อยสลายสีในน้ำทิ้งโดยใช้เซลล์แบคทีเรียผสม Pearce, et al. (2003)

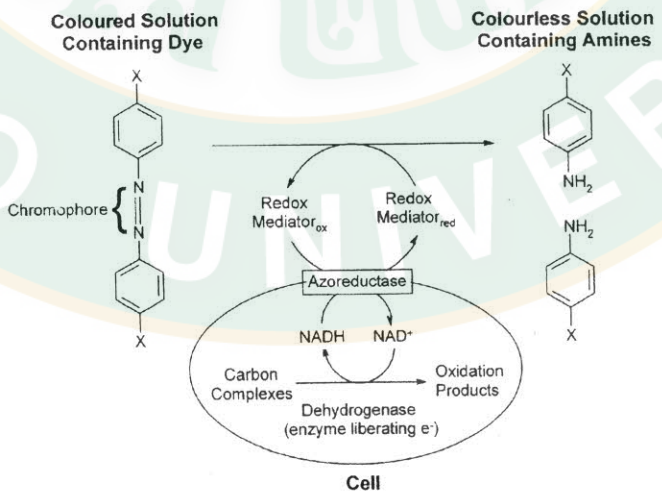
ชนิดของสีและน้ำทิ้ง	ชนิดของสิ่งมีชีวิต	ข้อสังเกต
Azo dye Wuhrmann, et al. (1998)	*Bacillus cereus*, *Sphaerotilus natan*, *Arthobacter sp.* , Activated sludge	มีการกำจัดสีภายใต้สภาวะแอนแอโรบิกด้วยเอนไซม์
C.I. Acid orange 6 C.I. Basic Violet 1 C.I. Basic Violet 3 Micheals, et al. (1986)	Field-collected และ Labotary culture	มีการกำจัดสีภายใต้สภาวะแอโรบิก
Reactive dyes Carliell, et al. (1994)	Aerobic sludge	มีการกำจัดสี Reactive dyes
Remazol Black B Oxspring, et al. (1996)	*Alcaligenes faecalis*, *Commomonas acidovorans*	กลุ่มแบคทีเรียที่ถูกตรึงบนเม็ดกรวดหินสามารถกำจัดสีได้ 95% ภายในเวลา 48 ชั่วโมง
Orange G, Amido Black10B, Direct Red 4BS และ Congo Red Rajaguru, et al. (2001)	*Pseudomonas* 4 สายพันธุ์	Orange G ถูกกำจัดได้ 60.9 mg /l ต่อวันส่วน Amido Black10B, Direct Red 4BS Congo Redถูกกำจัดได้ 571.3, 112.5, 134.9 mg /l ต่อวัน
C.I. Orange 7 Bras, et al. (2001)	Methanogenic culture หลายชนิด	มีการกำจัดสีได้ถึง 94%
Acid Orange 7 Coughlin, et al. (2002)	*Sphinogomonas sp.* สายพันธุ์ 1CX และสายพันธุ์ SAD41	มีการกำจัดสีได้มากกว่า 90% ภายหลังการเลี้ยงได้1ชม.

ตาราง 4 การย่อยสลายสีในน้ำทิ้งโดยใช้เซลล์แบคทีเรียชนิดเดียว Pearce, et al. (2003)

ชนิดของสีและน้ำทิ้งสี	ชนิดสิ่งมีชีวิต	ข้อสังเกต
p-Aminoazobenzene (PAAB) Horitsu, et al. (1977)	*Bacillus subtilis*	มีการกำจัดสี p-Aminoazobenzene ภายใต้สภาวะแอโรบิก
Acid Direct และ Basic dye Yatome, et al. (1981)	*Pseudomonas pseudomalli*	สามารถกำจัดสีอะโซได้
C.I. Acid Orange 12 Ogawa, et al. (1986)	*Pseudomonas cepacia* 13 NA	มีการกำจัดสีได้ถึง 90% ภายหลังการเลี้ยงได้ 68 ชม.
Amaranth, Orange 2, Tartrazine Bragger, et al. (1997)	*Bacteriodes fragilis*	มีการกำจัดสี Amaranth, Orange 2, Tartrazine ได้ถึง 80%, 50%, 20% ตามลำดับภายหลังการเลี้ยงได้ 8 ชม.
4-carboxy-4'-sulphoazobenzene (CSAB) Blumel, et al. (1998)	*Hydrodenophaga palleronii* strain 5	CSAB ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 0.35 mM ถูกกำจัดภายหลังการเลี้ยงได้ 40 นาที ภายใต้สภาวะแอนแอโรบิก Triphenylmetane ถูกกำจัดได้ 98%ภายหลังการเลี้ยงได้ 30 นาทีและน้ำทิ้งสีและ น้ำย้อมสีถูกกำจัดได้ 56 %

3.2.3 กลไกการกำจัดสีอะโซโดยแบคทีเรีย

กลไกการกำจัดสีอะโซโดยแบคทีเรียอย่างง่าย คือ การที่แบคทีเรียนั้นดูดซับสีเข้าสู่ชีวมวลเซลล์ของตัวแบคทีเรียนั้นเอง แต่การกำจัดสีด้วยกระบวนการนี้มีความคล้ายคลึงกับกระบวนการทางกายภาพ คือ จะไม่มีความคงตัวในการกำจัดสีในระยะยาวเพราะว่าเมื่อเวลาผ่านไปภายในตัวเซลล์แบคทีเรียจะอิ่มตัวไปด้วยสี ด้วยเหตุนี้จึงมีการพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างสีย้อมอะโซและแบคทีเรียในทางการบำบัดแบบชีววิทยาด้วยกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพภายใต้สภาวะแอโรบิคและแอนแอโรบิคซึ่งการกำจัดสีอะโซส่วนใหญ่แบคทีเรียที่เจริญภายใต้สภาวะแอนแอโรบิคจะมีความสามารถกำจัดได้ดีกว่าเนื่องจากแบคทีเรียที่เจริญภายใต้สภาวะแอโรบิคจะมีออกซิเจนที่เป็นตัวยับยั้งให้เอนไซม์ Azoreductase ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ดี จากภาพ 2 จะแสดงให้เห็นถึงกลไกในการกำจัดสีอะโซ ซึ่งจะเกิดขึ้นที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย โดยที่ NADH (Nicotinamide adenine dinucleotide) ที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึมสังเคราะห์พลังงานภายในเซลล์แบคทีเรียจะไปช่วยให้เอนไซม์ Azoreductase ทำปฏิกิริยามีการส่งผ่านอิเล็กตรอนจากภายในเซลล์ไปสู่บริเวณ Chormophore (N=N) หรือพันธะอะโซในโมเลกุลของสี ซึ่งมีผลทำให้พันธะขาดออกจากกันกลายเป็นสารประกอบจำพวกอะโรมาติกเอมีน ด้วยเหตุนี้ทำให้ความเข้มสีลดลงหรือเจือจางลงนั่นเองจาก ที่กล่าวในข้างต้นว่าออกซิเจนจะมีผลยับยั้งให้เอนไซม์ Azoreductase ไม่ให้ทำงานได้ดีนั้น เนื่องมาจากสาเหตุที่ออกซิเจนจะไปรับอิเล็กตรอนอิสระที่ปลดปล่อยจากในเซลล์แมนที่จะมีการส่งผ่านอิเล็กตรอนด้วย Redox mediator กับบริเวณพันธะอะโซ (N=N) จึงเป็นเหตุทำให้การกำจัดสีลดลงได้ไม่ดีเท่ากับสภาวะแอนแอโรบิค



ภาพ 2 แสดงกลไกในการกำจัดสีอะโซโดยแบคทีเรีย Keck, et al. (1997)

3.2.4 องค์ประกอบที่ส่งผลต่อการกำจัดสีอะโซ

ประสิทธิภาพของระบบบำบัดทางชีวภาพนั้น จะต้องมีการดูแลควบคุมน้ำก่อนที่เข้าระบบบำบัดให้มีความเหมาะสมก่อนโดยมีองค์ประกอบของพารามิเตอร์ที่ต้องคำนึงถึงหลาย ๆ ด้าน เช่น ระดับของออกซิเจนในการเติมอากาศ อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง และพลังงานศักย์ในปฏิกิริยารีดอกซ์ของระบบซึ่งถ้ามีการจัดการควบคุมให้มีความเหมาะสมก็จะทำให้การลดลงของสีมีระดับที่สูงหรือมีประสิทธิภาพที่ดีที่สุด ความสามารถของแบคทีเรียที่สามารถลดสีได้นั้นชนิดของสีก็มีผลต่อการลดลง น้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้ายังมีส่วนประกอบของสารอินทรีย์ เกลือ สารประกอบพวก Sulphul รวมทั้งสารที่มีความเป็นพิษรวมทั้งสี ซึ่งสารที่กล่าวมานั้นอาจจะส่งผลกระทบต่อการยับยั้งกระบวนการลดลงของสีองค์ประกอบที่ใช้เป็นเหตุผลในการควบคุมที่ทำให้การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า มีดังต่อไปนี้

3.2.4.1 ออกซิเจน

เป็นองค์ประกอบที่สำคัญมากเนื่องจากผลของออกซิเจนมีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและการลดลงของสี ช่วงที่เซลล์เจริญนั้นปริมาณออกซิเจนจะมีผลยับยั้งให้เอนไซม์ Azoreductase มีความสามารถในการทำงานที่ลดลงไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควรเนื่องจากออกซิเจนจะไปรับอิเล็กตรอนอิสระที่ปลดปล่อยจากในเซลล์แบบที่จะมีการส่งผ่านอิเล็กตรอนด้วย Redox mediator กับบริเวณพันธะอะโซ (N=N) ทำให้การกำจัดสีลดลงได้ไม่ดี ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า โดยส่วนมากจะมีกระบวนการบำบัดสองขั้นตอน คือ จะมีส่วนของระบบแบบแอโรบิคภายหลังที่ผ่านระบบแบบแอนแอโรบิคเนื่องจากระบบที่ไม่ใช้ออกซิเจนสามารถลดสีได้ และระบบใช้ออกซิเจนสามารถเปลี่ยนรูปสารที่ได้หลังระบบไม่ใช้ออกซิเจนจากสารที่เป็นพิษเป็นสารที่ไม่มีพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้

สภาพของแบบไม่ใช้ออกซิเจนนั้นไม่ได้มีส่วนส่งเสริมในการลดลงของโมเลกุลของสี โดยสังเกตภายหลังการลดลงของพันธะอะโซแต่สภาพที่มีออกซิเจนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลของสีมีปฏิกิริยาต่อโมเลกุลของอะโซ ดังเช่นตัวอย่างที่ทำการศึกษาโดย Meyer (1981) ผลการศึกษาพบว่าสารประกอบอะโรมาติคสามารถลดลงโดยการเป็นสารตัวกลางที่เมื่อมีออกซิเจนเข้าไปร่วมจะทำให้เกิดการลดลงโดยผ่านปฏิกิริยา Hydroxylation และทำให้วงของอะโรมาติคเปิดโดยอาศัยสภาพที่มีออกซิเจน แสดงให้เห็นว่าออกซิเจนมีผลต่อโมเลกุลของสี ดังนั้นเพื่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียนั้นควรจะมีสองส่วนในกระบวนการ รวมทั้งแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์จะมีความสามารถในการย่อยสีในสภาพที่ต่างกันโดยมีออกซิเจนเป็นตัวแปรดังนั้น

ควรมีการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียให้มีความเหมาะสมและในการเลือกระบบบำบัดนั้นมีข้อเสนอแนะว่าระบบบำบัดที่ให้ประสิทธิภาพในการบำบัดที่ดี คือ ระบบบำบัดแบบ Sequential anaerobic/areobic treatment

3.2.4.2 อุณหภูมิ

มีระบบบำบัดหลายแบบที่มีการเพิ่มอัตราการลดลงของสีโดยอาศัยการเพิ่มอุณหภูมิ ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่ง โดยระดับอุณหภูมิที่ต้องการสูงสุดในอัตราการลดลงของสีนั้นจะสอดคล้องกับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ คือ อยู่ในช่วงประมาณ 35 - 45 องศาเซลเซียส ถ้ามีการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงมากเกินไปอัตราการลดลงของสีก็จะลดลงตาม อันเป็นผลเนื่องมาจากเซลล์ของแบคทีเรียมีการเสื่อมสภาพไม่สามารถผลิตเอนไซม์ Azoreductase ได้

3.2.4.3 pH

การที่ค่า pH มีการลดลงเล็กน้อยจาก pH 7.0 ก็จะมีผลต่อการลดลงของสีถ้ามีการลดลงของ pH อย่างมากโดยสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นสูงจะมีผลโดยตรงต่อการลดลงของปริมาณสีในระบบบำบัด พบว่าในสภาพของน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าโดยส่วนใหญ่จะมีสภาพน้ำเสียเป็นลักษณะ Buffer ซึ่งเป็นผลดีส่งเสริมการลดลงของสีโดยอาศัยแบคทีเรีย จะมีการลดลงของพันธะของอะโซ เมื่อค่าของ pH เพิ่มขึ้น มีการศึกษาโดย Chang, et al. (2000) พบว่าระดับของ pH ที่เหมาะสมที่แบคทีเรียมีการเจริญและกำจัดสีได้ดีจะอยู่ในช่วง pH 7.0 - 9.0

3.2.4.4 ความเข้มข้นของสี

ความเข้มข้นของสีที่เข้าไปในระบบบำบัดมีผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีออก และสีที่กำจัดออกมายังรวมกันกับส่วนประกอบต่าง ๆ ในน้ำเสียซึ่งบางครั้งอาจจะก่อให้เกิดสารที่มีความเป็นพิษ และถ้าความเข้มข้นสูงจะทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการบำบัดมากขึ้น โดยมีการศึกษาของ Sani, et al. (1999) พบว่าแบคทีเรียสามารถกำจัดสีได้ดีจะพิจารณาจากไคเนติกของเอนไซม์ Azoreductase และจากการใช้ความเข้มข้นของสับเสรต (ความเข้มข้นของสี) ที่ระดับต่าง ๆ ปรากฏว่าความเข้มข้นเริ่มต้นของสีที่แบคทีเรียสามารถกำจัดได้ง่ายจะอยู่ที่ 1 - 10 μm และการกำจัดสีจะมีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 30 μm

3.2.4.5 โครงสร้างของสี

สีบางชนิดมีการต่อต้านการกำจัดออกโดยแบคทีเรีย สีที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยจะมีอัตราการลดลงของสีได้มากกว่าสีที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ สีอะโซที่มีส่วนประกอบของกลุ่ม Hydroxyl หรือกลุ่ม Amino จะมีการลดลงของปริมาณสีได้ดีกว่าสีที่มีส่วนประกอบของกลุ่ม Methyl methoxy sulpho หรือ Nitro (Nigam, et al., 1996)

จากการศึกษาของ Hu, et al. (2001) พบว่า โครงสร้างสีที่มีส่วนประกอบด้วยพันธะอะโซเดี่ยว (Monoazo) นั้นแบคทีเรียสามารถกำจัดพันธะอะโซได้ดีรวดเร็วกว่าสีที่มีองค์ประกอบของพันธะอะโซสองแห่ง (Diazo) และสามแห่ง (Triazo) ในโมเลกุลของสียังพบว่าการที่แบคทีเรียมีการสร้างเอนไซม์ขึ้นมาเฉพาะเจาะจงต่อโครงสร้างของสีด้วยเช่น Orange I azoreductase มีความเฉพาะ เจาะจงในการลดลงของสีกลุ่ม Orange I โดยเอนไซม์จะเข้าไปมีผลต่อโครงสร้างของสีในกลุ่ม Hydroxy ในตำแหน่ง Para ส่วน Orange II azoreductase นั้นจะมีความสามารถเฉพาะเจาะจงต่อสีพวก Orange II ซึ่งเอนไซม์จะเข้าไปมีผลต่อกลุ่ม Hydroxy ตรงตำแหน่ง Ortho

ลักษณะน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าโดยส่วนใหญ่จะเป็นการทิ้งน้ำเสียรวมทำให้องค์-ประกอบของน้ำเสียประกอบด้วยน้ำที่ใช้ในขั้นตอนการฟอกย้อม น้ำที่ใช้ในการซักล้าง น้ำที่ใช้ในการล้างเครื่องจักร น้ำจากการทำความสะอาดโรงงาน และน้ำเสียจากกระบวนการผลิต ซึ่งจะเป็นน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของสิ่งสกปรกเจือปนที่ค่อนข้างสูงมีส่วนของสีที่ใช้ในกระบวนการย้อม สารช่วยย้อม สารตกแต่งสำเร็จรูป และสารเคมีพื้นฐาน ได้แก่ กรด ด่าง บัฟเฟอร์ สารฟอกขาว และเกลือ ซึ่งเกลือเป็นสารที่ก่อให้เกิดผลกระทบและความยุ่งยากในการบำบัดน้ำเสียในกระบวนการทางชีวภาพ โดยปัญหาหลักที่เกิดขึ้นสามารถสรุปได้ดังนี้

- จุลินทรีย์ทั่วไปไม่สามารถบำบัดน้ำเสียที่มีค่าความเค็มมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) โซเดียม-คลอไรด์ Wong (1992)
- จุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไปมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอิออน พบว่า การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเกลืออย่างรวดเร็ว 0.5 - 2 เปอร์เซ็นต์ทำให้ยับยั้งประสิทธิภาพของระบบบำบัดอย่างมีนัยสำคัญ ก่อให้เกิดของแข็งแขวนลอยในน้ำออกเพิ่มมากขึ้นและสูญเสียของแข็งระเหย (Volatile solid) ในถังปฏิกิริยา จึงจำเป็นต้องปรับสภาพจุลินทรีย์ให้

คุ้นเคยกับน้ำเสียที่มีความเค็ม Kincannon and Gaudy (1968) และต้องมีถังปรับสภาพน้ำเสียให้มีความ เข้มข้นของเกลือคงที่ก่อนบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็ม Stover and Obayashi (1991)

- การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของเกลือมีแนวโน้มที่จะยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึมและจลศาสตร์การย่อยสลายภายในเซลล์ Mahmoud and Davis (1970) ศึกษาการลดลงของอัตราการย่อยสลายจำเพาะของสาร Aliphatic ketones (Acetone propanone butanone) พบว่าปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมด (TOC) ต่อของแข็งแขวนลอยในถังเติมอากาศ (MLVSS) ต่อชั่วโมง ลดลงจาก 0.3 mg/l TOC/ mg MLVSS / h เหลือเพียง 0.12 mg/l TOC/ mg MLVSS / h เมื่อเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของเกลือ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ผลจากการลดลงของอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ในถังปฏิกิริยาดังกล่าว ทำให้ต้องปฏิบัติงานที่ค่า F/M เมื่อบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็ม Stover and Obayashi (1991)

- น้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มมักมีปริมาณสารแขวนลอยสูง มีหลายรายงานยืนยันว่า มีปริมาณสารแขวนลอยในน้ำออกสูงเกิน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร Wong (1992) โดยเกลือสามารถชักนำให้เกิดเซลล์แตก เป็นสาเหตุให้น้ำออกมีปริมาณสารแขวนลอยสูงขึ้น และประชากรโปรโตซัวและจุลินทรีย์ชนิดเส้นใย (Filamentous microorganism) มีจำนวนลดลง ทำให้เกิดฟล็อคได้ไม่ดีเท่าที่ควร Woodlard and Irvine (1994)

น้ำเสียที่มีความเค็มสูงเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความยุ่งยากต่อการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการบำบัดแบบธรรมดา เนื่องจากเกลือความเข้มข้นสูงจะไปรบกวนและก่อให้เกิดความผิดปกติของกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์จุลินทรีย์และเป็นสาเหตุของการเกิดพลาสโมไลซีส (Plasmolysis) รวมทั้งการสูญเสียศักยภาพทางด้านการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายมลสารด้วย Kargi and Dincer (1996) ดังนั้นการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มสูงด้วยกระบวนการทางชีววิทยาที่อาศัยจุลินทรีย์ธรรมดาทั่วไป จึงมีประสิทธิภาพในการกำจัด COD (Chemical oxygen demand) ที่ค่อนข้างต่ำผลของเกลือต่อประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการทางชีววิทยาได้มีการศึกษาและรายงานไว้หลายฉบับ Kinner, et al. (1982) ได้ทำการศึกษาถึงผลของเกลือต่อประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียแบบแผ่นหมุนชีวภาพ (Rotating biodisc contractor) ในการบำบัดน้ำเสียชุมชนที่มีการปนเปื้อนของน้ำทะเล และพบว่าระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของระบบแผ่นหมุนชีวภาพ (Rotating biodisc contractor) แต่อย่างใด

ขณะที่ Kargi and Dincer (1996) ที่ทำการศึกษาผลของเกลือต่อประสิทธิภาพการบำบัดด้วยกระบวนการทางชีววิทยาของน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยกระบวนการ Fed – batch operation พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือในน้ำเสียทำให้ประสิทธิภาพ และอัตราการกำจัด COD ลดลง

Kincannon and Guady (1968) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือในน้ำเสีย ส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อจุลินทรีย์ และประสิทธิภาพในการกำจัด BOD ลดลงประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการเติมสารละลายเกลือ (NaCl) ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ให้กับตะกอนจากน้ำจืด อย่างไรก็ตามเมื่อสภาพการบำบัดปกติของระบบตะกอนเร่งถูกเปลี่ยนแปลงให้มีความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการให้สารอาหารอาหารของจุลินทรีย์ พบว่าประสิทธิภาพของการกำจัด BOD ลดลงกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเกลืออย่างกะทันหันทำให้เกิดการปลดปล่อยสารอินทรีย์บางอย่างออกนอกเซลล์เป็นผลให้ปริมาณ Soluble COD ในน้ำเพิ่มมากขึ้น และพบว่ามีปริมาณตะกอนแขวนลอยเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ตะกอนที่เกิดขึ้นในสภาพที่มีความเค็มสูงจะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนต่ำขณะเดียวกันก็มีปริมาณไขมันและอาร์เอนเอสูง และการเพิ่มความเข้มข้นของเกลืออย่างรวดเร็วจะให้ผลร้ายมากกว่าการเพิ่มขึ้นทีละน้อย

Lawton and Eggert (1957) พบว่า น้ำเสียที่มีความเข้มข้นของเกลือเกินกว่า 20 กรัมต่อลิตร ให้ประสิทธิภาพในการกำจัด BOD ต่ำที่สุด ผลของความเค็มต่อกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่มีการเติมอากาศที่ศึกษาโดย Stewart, et al. (1962) พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัด BOD จะลดลงชั่วคราวเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเกลืออย่างรุนแรงในสภาวะที่ Organic และ Hydraulic loadings สูง

Ludzack and Noran (1965) ได้ทำการศึกษาถึงความเข้มข้นของเกลือต่อกระบวนการ Activated sludge พบว่าความเข้มข้นของเกลือที่มากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้ความสามารถในการลดค่า BOD และประสิทธิภาพในการเกิดฟล็อคลดลง แต่การเกิด Nitrification ตอบสนองในทางตรงกันข้าม การบำบัดน้ำเสียที่อุดมไปด้วย Haloginate organic ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือที่แตกต่างกันพบว่าประสิทธิภาพในการกำจัด BOD ลดลง เมื่อความเข้มข้นของเกลือในน้ำเสียเพิ่มมากขึ้น (Belkin, et al., 1993)

Woodlard and Irvine (1994) ศึกษาการบำบัดน้ำเสีย Hypersaline ด้วยจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียชอบเค็มในระบบ SBR และ Biofilm reactor พบว่าที่ระดับความเค็ม 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าประสิทธิภาพการกำจัด Phenol เท่ากับ 99 เปอร์เซ็นต์ (S_o = 100 มิลลิกรัมต่อลิตร)

Kargi and Uygur (1996) ได้ทดสอบเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เพื่อการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มด้วยระบบ Aerated percolate unit พบว่าจุลินทรีย์กลุ่ม Halobacter ที่ได้จากตะกอนเร่งมีประสิทธิภาพในการกำจัด COD สูงที่สุด นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของเกลือต่อประสิทธิภาพของระบบดังที่กล่าวมาแล้วในตอนต้น จากการศึกษาจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบธรรมดาชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์เหล่านี้ไม่สามารถดำรงชีพอยู่รอดได้ในสภาพที่มีความเค็มสูง ในการกำจัดสารอินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับน้ำเสียที่มีความเค็มสูงโดยปราศจากการทำให้เจือจางจำเป็นต้องอาศัยจุลินทรีย์ชนิดพิเศษ ในสภาพธรรมชาติที่มีความเค็มจัด เช่น Great salt lake และบ่อตากเกลือมักจะมีความหลากหลายในจำนวนชนิดของจุลินทรีย์ทนเค็มสูง ซึ่งจุลินทรีย์ทนเค็มและจุลินทรีย์ชอบเค็มเหล่านี้มีเมตาบอลิซึมที่หลากหลายคล้ายกับปฏิกิริยาสำคัญต่าง ๆ ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบธรรมดา

นอกจากนี้ยังพบว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น ๆ เช่น Non – halophilic และ Marine bacteria ในแหล่งดังกล่าวด้วย แบคทีเรียทนเค็มเหล่านี้สามารถทนทานต่อแรงดันออสโมติกของสภาพแวดล้อมที่มีความเค็มสูงได้โดยการสะสมสารละลายบางอย่างไว้ในไซโตพลาสซึม Moderate halophile สะสมไอออนบวกอนินทรีย์หลายชนิด เช่น K^+ และ Na^+ และสารอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น กรดอะมิโน บีเทน และกลีเซอรอล เพื่อการควบคุมแรงดันออสโมซิสภายในเซลล์ Javor (1989) ขณะที่ Extreme halophile จะเลือกสะสมโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) แต่ไม่จำเป็นสำหรับการปรับแรงดันออสโมติกแต่อย่างใด จุลินทรีย์ทนเค็มทั้ง 2 กลุ่ม มีความต้องการ Na^+ อย่างจำเพาะสำหรับการดูดซับธาตุอาหาร และควบคุมระดับ pH ของไซโตพลาสซึม

อย่างไรก็ตามเอนไซม์ของจุลินทรีย์ในกลุ่ม Halophilic ยังสามารถทำงานในสภาพที่มีความเค็มสูงได้ด้วยเนื่องจากมี Unique adaptation ในโครงสร้างพื้นฐานของโปรตีน โดยทั่วไปโปรตีนดังกล่าวจะมี Acidic amino acids เกินพอ และต้องการไอออนบวกเพื่อเติมช่องว่างที่มีประจุลบและเพิ่มประสิทธิภาพของปฏิกิริยา Hydrophobic interaction และผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะคงสภาพอยู่ได้ด้วยกลไกที่คล้าย ๆ กัน Kushner and Kamekura (1988)

Kubo, et al. (2001) ได้ทดลองคัดแยกตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างดินและน้ำ ซึ่งพบว่าเป็นเชื้อ *Staphyolcoccus* sp. และ *Bacillus cereus* เจริญได้ดีในอาหารที่เกลือเข้มข้น 0 – 15 เปอร์เซ็นต์ ได้นำเชื้อที่คัดแยกได้ไปบำบัดน้ำเสียที่มีปริมาณเกลือสูงจากโรงงานบ๊วยดอง พบว่าสามารถลดค่า COD ได้ 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดลองเลี้ยงในฟลาสก์ และสามารถลดค่า COD ได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปเลี้ยงในถังทดลองขนาดปริมาตร 1 ลูกบาศก์เมตร โดยใช้เวลาในการทดลอง 7 วัน ที่อุณหภูมิ 23 – 27 องศาเซลเซียส

Dincer and Kargi (2001) ได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพการกำจัด COD ในการบำบัดน้ำเสียที่ประกอบด้วย Diluted Molasses Urea KH_2PO_4 และเกลือที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือ 0 – 10 เปอร์เซ็นต์ ด้วยระบบบำบัดแบบ Rotating biological disc โดยทำการตรวจวัดประสิทธิ-ภาพในการกำจัด COD ภายใต้สภาพการบำบัดที่แตกต่างกัน คือ จำนวนจานหรือพื้นที่ผิวของจานชีวภาพ COD loading rate และความเข้มข้นของเกลือ พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัด COD จะมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อมีการเพิ่มจำนวนจานหรือพื้นที่ผิวของจานชีวภาพ แต่จะลดลงเมื่อเพิ่ม COD loading rate และความเข้มข้นของเกลือ นอกจากนี้ยังได้เสนอสมการความสัมพันธ์ของประสิทธิ-ภาพในการกำจัด COD ในฟังก์ชันของจำนวนหรือพื้นที่ผิวของจานชีวภาพ COD loading rate และความเข้มข้นของเกลือ โดยค่าคงที่ต่างๆ ของความสัมพันธ์สามารถหาได้จาก ข้อมูลจากการทดลอง

Neji, et al. (2002) ได้ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตผลิตภัณฑ์จากทะเลด้วยระบบ Fixed – bed reactor พบว่าน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของเกลือมากกว่า 30 กรัมต่อลิตร ทำให้ประ-สิทธิภาพในการกำจัด COD ลดลง เนื่องจากการเกิดพลาสโมไลซีสของจุลินทรีย์ การพัฒนาจุลินทรีย์ทนเค็มที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งดังกล่าวโดยอาศัยระบบ Fix – bed reactor สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัด COD ให้มีค่าสูงถึง 87 เปอร์เซ็นต์ และ TOC 99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Kargi and Dincer (1998) ได้ทำการบำบัดน้ำเสียที่ประกอบด้วยเกลือ (NaCl) ในปริมาณต่าง ๆ กัน คือ 0 – 10 เปอร์เซ็นต์ ด้วยระบบ Rotating biodisc unit แบบไหลต่อเนื่อง โดยมีการเติมจุลินทรีย์ทนเค็ม *Halobacter halobium* – Suplement activated sludge culture เพื่อลดอิทธิพลจากเกลือ และทำการตรวจวัดอัตราและประสิทธิภาพในการกำจัด COD ของระบบภายใต้สภาพการบำบัดที่แตกต่างกันดังนี้ คือ A/Q Ratio COD loading rate และ ความเข้มข้นของเกลือ

พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดได้ (มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์) โดยการเพิ่มค่า A/Q Ratio (500 – 2,500 ตารางเมตร . ชั่วโมงต่อลูกบาศก์เมตร) แต่ประสิทธิภาพจะลดลงเมื่อ COD loading rate (2,000 – 8,000 กิโลกรัม COD ต่อตารางเมตร.ชั่วโมง) และความเข้มข้นของเกลือเพิ่มมากขึ้น และที่ระดับความเข้มข้นของ COD ที่เข้าสู่ระบบเท่ากับ 5,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำเป็นต้องมีการเติมอากาศในส่วนของของเหลวเพื่อให้เซลล์ของแบคทีเรียทนเค็มอยู่ในสภาพแขวนลอยและทำงานได้ส่วนการสร้างตัวแบบทางคณิตศาสตร์เพื่ออธิบายถึงการดำเนินไปของระบบสามารถทำได้โดยใช้ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบ และผลการยับยั้งจากเกลือที่มีนัยสำคัญเกิดขึ้นที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์มากกว่า 3 เปอร์เซ็นต์

Woodlard and Irvine (1995) ได้ศึกษาถึงการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มสูง (มากกว่า 3.5 เปอร์เซ็นต์) ด้วยระบบ Sequencing batch reactor (SBR) โดยใช้จุลินทรีย์ชอบเค็มปานกลาง (Moderate halophilic) ที่คัดแยกได้จาก Great salt lake Utha USA. เพื่อเร่งให้เกิดการสร้างตะกอน Halophilic sludge ในระบบ SBR เป็นเวลา 7 เดือน พบว่าจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายสารประกอบ Phenol ได้มากกว่า 99.5 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำเสียที่มีปริมาณเกลือ 15 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่อัตราการกำจัดซับสเตรทอื่น ๆ มีค่าใกล้เคียงกับระบบบำบัดแบบธรรมดาทั่วไป

Intrasungkha, et al. (1999) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารของการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตอาหารทะเลสังเคราะห์ที่มีเกลือเป็นองค์ประกอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ด้วยระบบ Sequencing batch reactor (SBR) ในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาถึงอิทธิพลจากความเค็มต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสรวมทั้งการตอบสนองต่อความเค็มของแบคทีเรียกลุ่มต่าง ๆ ในรูปของประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุ-อาหาร ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการบำบัดน้ำเสียด้วยระบบ SBRs มีประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารดีที่สุดเมื่อระดับความเค็มในน้ำเสียมีค่าต่ำ คือ 0.2 – 0.3 เปอร์เซ็นต์ และประสิทธิ-ภาพในการกำจัดฟอสฟอรัสมีค่าลดลงเมื่อระดับความเค็มมีค่าเท่ากับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าประชากรของแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีเปอร์เซ็นต์โมเลกุลของกรดนิวคลีอิกชนิด Guanine + Cytocine ในองค์ประกอบของดีเอนเอที่ค่อนข้างสูง และเมื่อมีการเติมอะซิเตทในน้ำเสียพบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดธาตุอาหารได้รวมทั้งทำให้สัดส่วนของแบคทีเรียในกลุ่ม Beta proteobacterial subclass สูงขึ้นด้วย

วิโรจน์ (2541) ได้ติดตามประชากรของ *Acinetobacter* sp. ในระบบบำบัด Three-stage phoredox ชนิดทนต่อโซเดียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ประชากร *Acinetobacter* sp. ลดลงและหมดจากระบบภายใน 46 ชั่วโมงหลังจากเลี้ยงเชื้อในระบบ

ชฎารัตน์ (2540) ได้ศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของเกลือต่อการกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ในขบวนการแอกทิเวเต็ดสลัดจ์แบบฟอรีดอกซ์ 3 ขั้นตอน พบว่าที่ระดับเกลือโซเดียม-คลอไรด์ 0 – 30 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีการกำจัดคาร์บอนอินทรีย์ในรูป COD ลดลงจาก 96.5 เป็น 87.1, 84.0 และ 73.6 เปอร์เซ็นต์ โดยที่การกำจัดไนโตรเจนทั้งหมดลดลงจาก 88.8 เป็น 86.1, 72.5 และ 71.2 เปอร์เซ็นต์

Kargi and Uygur (1996) ทดสอบการบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มสูงโดยใช้ระบบตะกอนเร่งที่มี Aerated percolator unit ซึ่งบรรจุแผ่นเซรามิกที่ใช้ตรึงแบคทีเรียชอบเค็ม (*Halobacter halobium*) ไว้ภายในและมีการเติมอากาศอย่างเข้มข้นผ่าน Perforate tube ภายในคอลัมน์ให้แก่ Liquid recycle และทำการเดินระบบแบบต่อเนื่องในสภาวะที่มีการเลี้ยงจุลินทรีย์และความเข้มข้นของเกลือในระดับต่าง ๆ เพื่อศึกษาผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการกำจัด COD โดยพบว่าแบคทีเรียทนเค็มในระบบตะกอนเร่งมีประสิทธิภาพในการกำจัด COD สูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความเข้มข้นของเกลือเท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์สามารถกำจัด COD ได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ หรือ 620 มิลลิกรัม COD ต่อลิตร . ชั่วโมง

Woodlard and Irvine (1995) ทดสอบการบำบัดน้ำเสียจำลองที่ประกอบด้วย Phenol และเกลือที่ความเข้มข้น 1 – 15 เปอร์เซ็นต์ ด้วยแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกจาก Great salt lake Utha USA ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบ Sequencing batch biofilm reactor โดยจุลินทรีย์ทนเค็มเหล่านั้นจะสร้าง Biofilm บนท่อซิลิโคนที่ใช้เติมอากาศให้กับถังปฏิกิริยา พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัด Phenol (99 เปอร์เซ็นต์) ไม่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเกลือในน้ำเสียอย่างรวดเร็ว (5 – 15 เปอร์เซ็นต์) สภาพดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า Halophilic bacteria biofilm สามารถบำบัดน้ำเสียที่ความเค็มระดับต่าง ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Kargi and Uygur (1997) ทดสอบการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยโมลาสความเข้มข้นต่ำ ยูเรีย, KH_2PO_4, $MgSO_4$ และเกลือความเข้มข้นต่าง ๆ (1 – 5 เปอร์เซ็นต์ NaCl) ด้วยระบบ Rotating biodisc contractor (RBC) ที่ได้รับการปลูกเชื้อแบคทีเรียทนเค็ม *Halobacter halobium*

ปริมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาตรการบำบัด เพื่อศึกษาผลของการเติมอากาศใน ชั้นของเหลว และความเข้มข้นของเกลือระดับต่าง ๆ (1 – 5 เปอร์เซ็นต์) พบว่าการเติมอากาศใน ชั้นของเหลวที่ความเข้มข้นของเกลือ 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มอัตราการกำจัด COD ได้อย่างมีนัยสำคัญ (71 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับการบำบัดที่ไม่มีการเติมอากาศ (49 เปอร์เซ็นต์) และการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือในน้ำเสียจาก 0 เป็น 5 เปอร์เซ็นต์ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัด COD ลดลงจาก 95 เหลือเพียง 60 เปอร์เซ็นต์

Glass and Silverstein (1998) ศึกษาปฏิกิริยา Denitrificationในน้ำเสียที่มีปริมาณไนเตรท (2,700 5,400 และ 8,200 มิลลิกรัมต่อลิตร NO_3 – N) Ion strenge เท่ากับ 0.8, 2.7 และ 3.0 ตามลำดับ และ Total dissolved solid เท่ากับ 5, 16 และ 18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ด้วยระบบ Sequencing batch reactor (SBR) ในระดับ Bench scale ที่มีการปรับสภาพน้ำเสีย ให้มีค่า pH เท่ากับ 9 พบว่าอัตราการกำจัดไนเตรทลดลงสูงสุดจากระดับ 50 เป็น 19 มิลลิกรัม NO_3 – N ต่อ กรัม MLSS ต่อ ชั่วโมง เมื่อปริมาณ Total dissolved solid เพิ่มขึ้น

Belkin, et al. (1993) ทดสอบการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมที่มีความเค็มสูง (32 กรัมต่อลิตร TDS 550 องศาเซลเซียส) ด้วย Biphasic laboratory bench scale reactor system พบว่าสามารถกำจัด Dissolved organic carbon ได้ 70 และ 84 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะที่มีและไม่มีผงถ่านกัมมันต์ ตามลำดับ การบำบัดในสภาพไร้อากาศมีความจำเป็นสำหรับทุกระบบการบำบัดทั้งในระดับของการกำจัด Dissolved organic carbon และการกำจัดพิษ ส่วนการบำบัดด้วยระบบอื่น ได้แก่ Activated sludge และ Aerated lagoon reactors ให้ประสิทธิภาพที่คล้ายกัน แต่ในระบบชนิดหลังต้องอาศัยระยะเวลาในการบำบัดที่ยาวนานกว่า แต่ประสิทธิภาพดังกล่าวจะมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มมากขึ้น

4. การศึกษาการใช้จุลินทรีย์และแบคทีเรียทนเค็มเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า

มีการศึกษาพบว่า Fungi ที่มีชื่อว่า *Geotrichum candidum* Dec 1 มีประสิทธิภาพในการกำจัดสี โดยสามารถกำจัดสีได้ถึง 10 ชนิดแต่ Fungus Dec 1 ไม่สามารถกำจัดสีใน น้ำเสียที่มีสีได้แต่สามารถกำจัดสารประกอบพวก Halogenated และสามารถสลายสารพวก Lignin ในสิ่งแวดล้อมได้ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาในการนำ Fungus Dec 1 ในการใช้ประโยชน์ในการฟอกขาว โดยเป็นการลดปริมาณการใช้สารประเภทคลอรีน โดยการที่สามารถกำจัดได้เนื่องจาก Dec 1. มีความสามารถในการสร้าง เอนไซม์ Peroxidase DyP ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติพิเศษที่มี Amino acid sequence

Chao and Lee (1994) ได้ศึกษาพบว่า *Pseudomona. chrososporium* ที่แยกได้ใน N - limited (1.2 mM ammonium tartrate) medium มีอัตราการกำจัดสีได้สูงมาก แต่ถ้าปริมาณความเข้มข้นของ Ammonium tartrate มีสูงอัตราการกำจัดสีจะลดลงโดยองค์ประกอบของสีที่ White - rot fungi ชนิดนี้สามารถกำจัดได้ คือ สารประกอบในสีประเภท Xeobiotic โดยสภาพที่ N - sufficient แต่ *P. chrososporium* จะไม่ผลิตเอนไซม์ Lignin peroxidase

Yesilada (1995) ได้ศึกษาพบว่ากระบวนการออกซิเดชั่น Crystal violet โดยใช้จุลินทรีย์ประเภท Fungi โดยพวก *Phanerochaete chrysosporium* และมีการใช้ Fungi พวก White - rot fungi 3 ชนิดในการกำจัดสีของ Crystal violet โดย White - rot fungi พวกนั้นได้แก่ *Coriolus versicolor* , *Funalia trogii* และ *P. chrysosporium* และ Brown - rot fungus ชนิด *Laetiporus sulphureus* โดยการที่สามารถกำจัดได้เนื่องจาก เอนไซม์ Peroxidase และการกำจัด Crystal violet ไม่มีผลเมื่อ ค่า pH เปลี่ยนแปลงไป แต่สิ่งที่มีผลคือ H_2O_2 ซึ่งจะมีอิทธิพลต่อการสร้างเอนไซม์ Peroxidase

Zissi and Lyberatos (1996) ได้ศึกษาและคัดแยกสายพันธุ์ในการกำจัดสี Azo - dye (p - aminoazobenzene) โดยจากการศึกษาพบว่า *Bacillus subtiliss* สามารถกำจัดสีได้และสามารถใช้ไนเตรท และไนไตรทภายใต้สภาวะ Anoxic โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอนในการผลิต Aniline และ p - phenylenediamine ทำให้พันธะของไนโตรเจนที่เป็นพันธะคู่แตกออกจากกัน

Nobuki, et al. (2000) ได้ศึกษาคัดแยกสายพันธุ์ของแบคทีเรียเพื่อใช้ในการกำจัดสีโดยคัดแยกจากตัวอย่างดินพบว่า *Aeromonas sp.* B-5 สามารถกำจัดสีได้ 4 ชนิด โดยเอนไซม์ Azoreductase โดยการกำจัดสีของ *Aeromonas sp.* B-5 จะมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่มีส่วนประกอบของสีในน้ำเสียหลากหลายชนิด โดยการกำจัดจะทำในสภาวะที่ไร้อากาศ แต่การกำจัดสีฟ้าครามจะทำการกำจัดในสภาพที่มีอากาศ

Acuner, et al. (2003) ได้ศึกษาการกำจัดสีย้อมชนิด Yellow 2 G ด้วยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* ที่ระดับความเข้มข้นสีต่างๆและวิเคราะห์ปริมาณ COD หลังจากการกำจัด

Admane, et al. (2003) ได้ศึกษาคุณสมบัติและการทำเอนไซม์ Azoreductase ให้บริสุทธิ์ที่ได้จากแบคทีเรียสายพันธุ์ *Enterobacter agglomerans*

Chistina, et al. (2003) ได้ศึกษาการย่อยสลายสีย้อมอะโซ ชนิด Reactive black 5, Reactive red 158 และ Reactive yellow 37 ด้วยเชื้อราสายพันธุ์ *Geotrichum sp.* ปรากฏว่ามีการกำจัดสีได้สูงสุดภายหลังจากการเลี้ยงได้ 20 วันที่ความเข้มข้นสีเริ่มต้น 200 ppm

Giovana, et al . (2003) ได้ศึกษาการย่อยสลายสีย้อมชนิด Methylene blue Poly R-478 ด้วยเชื้อราสายพันธุ์ *Pleurotus pulmonarius* ในสภาพการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง (Solid state fermentation) ปรากฏว่าภายหลังจากการเพาะเลี้ยงได้ 6 วัน *Pleurotus pulmonarius* สามารถกำจัดสีได้มากที่สุดและปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ Laccase มีค่าสูงสุดที่ 480 u/ml

Kou Cheng Chen, et. al. (2003) ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อย-สลายสีย้อมสิ่งทอ 24 ชนิดสีได้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Aeromonas hydrophila* ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายสีได้ดีที่สุดพร้อมศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม เช่นสภาวะในการเลี้ยงอุณหภูมิ pH ความเข้มข้นสีเริ่มต้น แหล่งไนโตรเจน และความเข้มข้นของกลูโคสที่เป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าแบคทีเรียเจริญได้โดยการเลี้ยงในอาหารผสมสี Red RBN แบบให้อากาศเล็กน้อย (Anoxic) อุณหภูมิ 20-35 องศาเซลเซียส ระดับ pH คือ 5.5 -10.0 ความเข้มข้นสีเริ่มต้น 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และแหล่งไนโตรเจนคือ Yeast extract ส่วนความเข้มข้นของกลูโคสตั้งแต่ 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้การย่อยสลายสี Red RBN ลดลงจากอาหารที่ไม่มีกลูโคส

Kou Cheng Chen, et al. (2003) ได้ทำการศึกษาการกำจัดสีด้วยการตรึงจุลินทรีย์ไว้กับตัวกลางชนิดPhosphorylated polyvinyl alcohol (PVA) พบว่าสามารถกำจัดสี Red RBN ได้ 75 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นสีเริ่มต้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

Mustava, et al.(2003)ได้ทำการศึกษาผลของออกซิเจนต่อการกำจัดสีอะโซชนิด Congo red, Direct black 38 ด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas sp.* ปรากฏว่ามีการกำจัดสีได้ดีในช่วง 5-9 วัน

Selvan, et al. (2003) ได้ศึกษาการย่อยสลายสีย้อม 3 ชนิด คือ Orange G, Congo red และ Amino black B ด้วยเชื้อราสายพันธุ์ *Thelephora sp.* และสังเกตระดับเอนไซม์ที่เชื้อผลิตออกมาซึ่งปรากฏว่าปริมาณความเข้มข้นเอนไซม์ Laccase มีค่าสูงสุดเมื่อมีการกำจัดสีย้อมได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับปริมาณเอนไซม์ชนิด Manganese peroxidase และ Linin peroxidase และยังได้มีการนำเชื้อราชนิดนี้ไปเลี้ยงแบบต่อเนื่องและแบบ Batch ปรากฏว่าการเลี้ยงเชื้อรา *Thelephora* sp. แบบ Batch ให้ผลในการกำจัดสีได้ดีกว่า

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างดิน น้ำ และอาหาร

1.1 ตัวอย่างดินโดยตัวอย่างดินจะทำการเก็บตัวอย่าง 2 ระดับความลึก คือ ระดับความลึกที่ 15 เซนติเมตร และระดับความลึกที่ 30 เซนติเมตร

1.2 ตัวอย่างน้ำโดยเก็บตัวอย่างจากน้ำทิ้งจากการหมักดอง หรือ น้ำทิ้งที่มีองค์-ประกอบของเกลือในกระบวนการผลิต

1.3 ตัวอย่างอาหาร โดยอาหารที่มีเกลือในองค์ประกอบ เช่น ปลาเค็ม ปูเค็ม น้ำบูดู

2. อาหารที่ใช้แยกและเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย

2.1 Nutrient broth (NB)

2.2 Halophilic agar (HA)

2.3 Halophilic broth (HB)

2.4 Halophilic agar (HA) ที่มีการเติมสี Basic dye

3. สารเคมี

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ BOD (Biochemical oxygen demand)

3.1.1 Phosphate buffer solution

3.1.2 Magnesium sulfate solution

3.1.3 Calcium choride solution

3.1.4 Ferric chloride solution

3.1.5 Acid and alkaline solution

3.1.6 Sodium sulfite solution

3.1.7 Strach

3.1.8 Alkali - iodide - azide reagent

3.1.9 Sulfulic acid conc

3.1.10 Standard sodium thiosulfate titrant

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ COD (Chemical oxygen demand)

3.2.1 Standard potassium dichromate solution

3.2.2 Silver sulfate

3.2.3 Sulfuric acid

3.2.4 Sulfuric acid reagent

3.2.5 Ferroin indicator solution

3.2.6 Standard ferrous ammonium sulfate titrant

3.2.7 Mercuric sulfate

3.2.8 Potassium hydrogen phthalate standard

3.3 สารเคมีสำหรับการย้อมศึกษาสัณฐานวิทยา

3.3.1 สารละลายของแกรม (Gram ' s solution)

3.3.2 สีย้อมสปอร์ (Endospore stain)

3.4 สารละลายสารส้ม 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

4. เครื่องมือ

4.1 กล้องจุลทรรศน์

4.2 เครื่องเขย่า

4.3 เครื่องเติมอากาศ

4.4 ตู้บ่มเชื้อ

4.5 ตู้อบ

4.6 สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

4.7 เครื่องชั่งอย่างละเอียด

4.8 เครื่องชั่งอย่างหยาบ

4.9 ตู้เก็บสารเคมี

4.10 เทอร์โมมิเตอร์

4.11 หม้อนึ่งความดันไอ

4.12 เครื่องดูดอากาศ

4.13 เครื่องอังน้ำ

4.14 Reflux apparatus

4.15 เครื่องกรองสูญญากาศ

วิธีการ

1. การแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดินของโรงงานผักและผลไม้ดอง และ บริเวณที่เกี่ยวข้อง ที่ระดับความลึก 15 และ 30 เซนติเมตร มาตัวอย่างละ 1 กรัม นำมาใส่ในฟลาสที่มีอาหาร Halophilic broth จำนวน 25 มิลลิลิตร แล้วเขย่าที่ 155 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมงให้นำมาตรวจสอบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ในสารละลายที่เขย่าหรือไม่โดยการตรวจสอบรูปร่างและการติดสีย้อมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่าง การเรียงตัวและการติดสีย้อมของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นนำสารละลายที่ได้นำมาเจือจางด้วยอาหารเหลว (Halophilic broth) ตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-6} หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ที่ระดับ 10^{-3} - 10^{-5} มาทำการ Spread ลงบนอาหาร Halophilic agar แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยนำไปทำการ Cross streak plate technique 2 - 3 ครั้ง จากนั้นนำแบคทีเรียทนเค็มที่บริสุทธิ์แล้วเก็บไว้ในอาหาร Halophilic agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

2. การแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างน้ำ

ปิเปตตัวอย่างน้ำจำนวน 1 มิลลิลิตร นำมาใส่ฟลาสที่มีอาหาร Halophilic broth จำนวน 25 มิลลิลิตร แล้วเขย่าที่ 155 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมงให้นำมาตรวจสอบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ในสารละลายที่เขย่าหรือไม่โดยการตรวจสอบรูปร่างและการติดสีย้อมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่าง การเรียงตัวและการติดสีย้อมของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นนำสารละลายทีได้นำมาเจือจางด้วยอาหารเหลว (Halophilic broth) ตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-6} หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ที่ระดับ 10^{-3} - 10^{-5} มาทำการ Spread ลงบนอาหาร Halophilic agar แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยนำไปทำการ Cross streak plate technique 2 - 3 ครั้ง จากนั้นนำแบคทีเรียทนเค็มที่บริสุทธิ์แล้วเก็บไว้ในอาหาร Halophilic agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

3. การแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างอาหารที่เป็นอาหารแห้งให้ทำการบดให้ละเอียด จากนั้นชั่งมา 1 กรัม แต่ถ้าเป็นตัวอย่างอาหารที่มีทั้งส่วนทั้งของแข็งและส่วนของเหลวให้ทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียดจากนั้น ปิเปตมาจำนวน 1 มิลลิลิตรจากนั้นนำมาใส่ฟลาสที่มีอาหาร Halophilic broth จำนวน 25 มิลลิลิตร แล้วเขย่าที่ 155 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมงให้นำมาตรวจสอบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ในสารละลายที่เขย่าหรือไม่โดยการตรวจสอบรูปร่างและการติดสีย้อมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกรูปร่าง การเรียงตัวและการติดสีย้อมของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นนำสารละลายที่ได้นำมาเจือจางด้วยอาหารเหลว (Halophilic broth) ตั้งแต่10^{-1} - 10^{-6} หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ที่ระดับ 10^{-3} - 10^{-5} มาทำการ Spread ลงบนอาหาร Halophilic agar แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง แล้วเก็บโคโลนีของแบคทีเรียที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยนำไปทำการ Cross streak plate technique 2 - 3 ครั้ง จากนั้นนำแบคทีเรียทนเค็มที่บริสุทธิ์แล้วเก็บไว้ในอาหาร Halophilic agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

4. การทดสอบความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือต่าง ๆ

นำแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ ไปเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth ที่มีระดับความเข้มข้นของเกลือ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาวัดค่าการเจริญ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของเครื่องวัดค่าการดูด-กลืนแสง (Spectophotometer) ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ตรวจผลแล้วคัดเลือกแบคทีเรียทนเค็มที่สามารถเจริญได้ดีที่ระดับความเข้มข้นเกลือสูง

5. การทดสอบการเกิดวงใส (Clear zone) ของแบคทีเรียทนเค็มบนผิวหน้าอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye

นำแบคทีเรียทนเค็มที่ทดสอบความสามารถในการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับความเข้มข้นเกลือต่าง ๆ มาทำการ Spot technique บนอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye ในปริมาณ 0.05 กรัมต่อการเตรียมอาหาร Halophilic agar ปริมาตร 1 ลิตร ในการ Spot technique มีกระบวนการ โดยใช้ไม้จิ้มฟันที่ผ่านการพลาสเจอร์ไรด์ เขี่ยแบคทีเรียทนเค็มที่มีลักษณะเป็นโคโลนีเดี่ยว จิ้มในอาหารลงไปประมาณ 1 ใน 3 ของความหนาของอาหาร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผลและคัดเลือกแบคทีเรีย-

ทนเค็มที่มีลักษณะการเกิดวงใสรอบบริเวณโคโลนีที่เกิดขึ้น เพื่อจะนำมาทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า

6. การทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้

1. การเตรียมตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า จ. ลำพูน เพื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดโดยการนำตัวอย่างน้ำเสียมาทำการตกตะกอนโดยใช้สารส้มเป็นลักษณะสารละลายที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และทำการกรองส่วนใสของน้ำเสียที่ทำการตกตะกอนแล้วโดยใช้ถ่านกัมมันต์

2. ทำเชื้อเริ่มต้นนำแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. นำหัวเชื้อเริ่มต้นมา 5 เปอร์เซ็นต์ ใส่ในฟลาสปริมาตร 1 ลิตรซึ่งมีตัวอย่างน้ำเสียจากการย้อมผ้า 500 มิลลิลิตร โดยมีการปรับ pH แล้วต่อท่อเครื่องพ่นอากาศเข้าไปในฟลาสก์ ไว้ในที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นเวลา 21 วัน โดยวัดประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ โดยทำการวัดทุก ๆ 3 วัน โดยค่าที่วัด ได้แก่ ค่า FCOD ของแข็ง-แขวนลอย ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณสีที่ลดลงโดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 605 นาโนเมตร (OD 605)

4. นำแบคทีเรียทนเค็มที่มีประสิทธิภาพในการลดค่า ค่า FCOD ของแข็ง-แขวนลอย ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณสีที่ลดลงโดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 605 นาโนเมตร (OD 605) ที่ดีที่สุดมาทำการศึกษาช่วงระยะเวลาการเจริญและจำแนกชนิด

7. การศึกษาช่วงระยะเวลาการเจริญ

นำแบคทีเรียมาเลี้ยงในอาหาร Halophilic broth นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 155 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เป็นเวลา 48 วัน เก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 ชั่วโมง เพื่อทำ Colony plate count จากนั้นนำค่าที่ได้นำมาทำกราฟการเจริญ

8. ศึกษาคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา

นำแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกแล้วมาเลี้ยงบนอาหาร Halophilic agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจดูสีของโคโลนี ลักษณะและขนาดของโคโลนี และการติดสีย้อมแกรม

9. การจำแนกชนิดของแบคทีเรียทนเค็มที่คัดเลือก

นำแบคทีเรียทนเค็มที่คัดเลือกมาจำแนกชนิดของแบคทีเรียโดยใช้หลักของ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt, et al., 1995) ใช้ชุดทดสอบ api ® 20 E (bioMeriux, Inc) ซึ่งเหมาะสมสำหรับการทดสอบ Enterobacteriaceae และ Gram - negative rods

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์

1. การคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างน้ำเสีย ดิน และอาหารที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่ความเข้มข้นสูงเป็นองค์ประกอบในกระบวนการผลิต

จากการคัดเลือกแบคทีเรียทนเค็มจากตัวอย่างน้ำเสีย ตัวอย่างดินจากแหล่งต่าง ๆ ในจังหวัดเชียงใหม่ที่คาดว่าจะพบแบคทีเรียทนเค็ม รวมทั้งตัวอย่างอาหารที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่ความ เข้มข้นสูงเป็นองค์ประกอบในกระบวนการผลิต โดยนำมาทำการคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มบนอาหาร Halophilic agar (HA) ด้วยวิธี Spread plate technique บนผิวหน้าอาหาร HA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยการแยกให้เป็นโคโลนีเดี่ยวโดยใช้วิธีการ Cross streak plate technique ประมาณ 2 - 3 ครั้ง ได้ผลการทดลองดังนี้

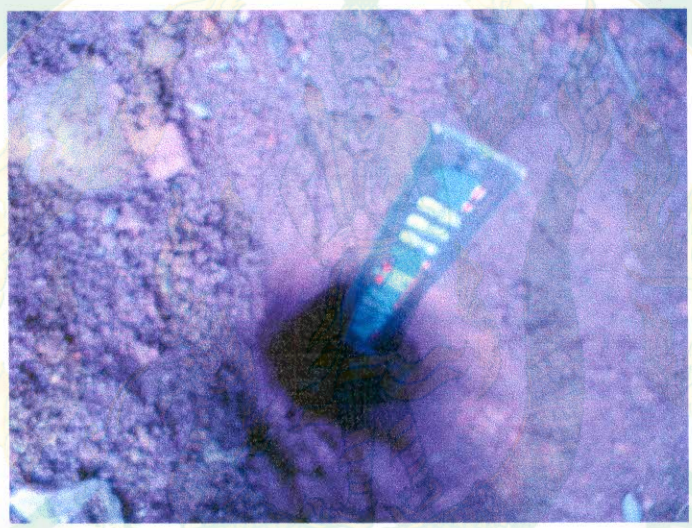
แบคทีเรียทนเค็มที่สามารถคัดแยกได้จากตัวอย่างต่าง ๆ มีทั้งสิ้น 34 ไอโซเลท ซึ่งมีการให้รหัสแบคทีเรียทนเค็มดังที่แสดงไว้ตาราง 1 แบคทีเรียที่สามารถคัดแยกได้มีความหลากหลายเนื่องจากมีการเก็บตัวอย่างที่มีความหลากหลายและแตกต่างกัน เช่น การเก็บตัวอย่างดินจากน้ำพุร้อน บริเวณทางที่น้ำพุร้อนไหลผ่าน อ.สันกำแพง จ.เชียงใหม่ เนื่องจากจากการตรวจเอกสารการศึกษาโดย Somporn (1998) พบว่าแบคทีเรียที่ชอบเกลือปานกลาง (Moderately halophilic bacteria) สามารถพบได้ในบริเวณที่มีอุณหภูมิสูง เช่นการแยกแบคทีเรีย ST22 จากบริเวณน้ำพุร้อน กิ่งอำเภอควรโตน จ.สตูล เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 50 องศาเซสเซียส และสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นเกลือเท่ากับ 2 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

การเก็บตัวอย่างจากดินจากเขื่อนแม่กวง อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ และดินจากศูนย์ศึกษาการพัฒนาการห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ เนื่องจากนำมาเป็นแหล่งอ้างอิงเพื่อใช้เปรียบเทียบกับแหล่งที่มีเกลือและไม่มีเกลือ

การเก็บตัวอย่างจากดินบริเวณ ต.สันทรายน้อย อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ เนื่องจากบริเวณนั้นมีการทำนา การเกษตรแบบเข้มข้น ซึ่งมีการใช้ปุ๋ยเคมีในการปรับปรุงดินโดยปุ๋ยเคมี ซึ่งอาจจะ

มีองค์ประกอบของเกลืออยู่ด้วยเช่น แอมโมเนียมคลอไรด์ โปแตสเซียมคลอไรด์ และแคลเซียม-คลอไรด์ เป็นต้น

จากการตรวจเอกสารพบว่าลักษณะจุลินทรีย์เจริญในสภาพที่มีความเค็มสูงหรือมีการเพิ่มของระดับความเค็ม จะทำให้ประชากรของโปรโตซัวและจุลินทรีย์พวกที่เป็นเส้นสายลดลงด้วย Woodlard (1993) ยังมีการศึกษาต่อโดย Kargi and Urgur (1995) ผลจากการศึกษาพบว่าไม่พบประชากรของจุลินทรีย์ในกลุ่มโปรตัวซัวและจุลินทรีย์ประเภทเส้นสายอันเป็นสาเหตุของความยุ่งยากในการกำจัดตะกอนในระบบบำบัดน้ำเสียแบบตะกอนเร่งที่มีความเค็มสูง



ภาพ 3 การเก็บตัวอย่างดินที่บริเวณลึกลงไปจากผิวหน้าดิน 15 เซนติเมตร

ภาพ 4 ตัวอย่างน้ำจากบริษัทสันติภาพ (ฮั่วเฟ้ง 1958) จำกัด จ.เชียงใหม่

ตาราง 5 แบคทีเรียทนเค็มที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำเสีย ดิน และอาหารที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่ความเข้มข้นสูงเป็นองค์ประกอบในกระบวนการผลิต

แหล่งการเก็บตัวอย่างเพื่อคัดแยกแบคทีเรียทนเค็ม	รหัสแบคทีเรียทนเค็ม
อาหารอาหารที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่ความเข้มข้นสูงเป็นองค์ประกอบในกระบวนการผลิต	
ปลาร้า	F_1P_1
ปลาเค็ม	F_2P_1
น้ำบูดู	F_3P_1
ดินน้ำพุร้อน บริเวณทางที่น้ำพุร้อนไหลผ่าน อ.สันกำแพง จ.เชียงใหม่	S_1P_1
ดินเขื่อนแม่กวง อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่	S_2P_1, S_2P_2
ดินศูนย์ศึกษาการพัฒนาการห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ	S_3P_1
ดินจาก ต.สันทรายน้อย อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	S_4P_1
ดินเค็มจากนาเกลือ จ.สมุทรสาคร	S_5P_1, S_5P_2
เกลือจากเหมืองโปแตส จ.นครราชสีมา	S_6P_1, S_6P_2, S_6P_3
ดินจากโรงงานดองผลไม้ 21/1 หมู่4 ต.เมืองเล็น อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	S_7P_1, S_7P_2
ดินจากโรงงานดองผลไม้ ต.บ้านกาด อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่	S_8P_1, S_8P_2, S_8P_3, S_8P_4 , S_8P_5, S_8P_6, S_8P_7, S_8P_8
น้ำหมักดองโรงงานผักกาดดองเค็ม บ.สันติภาพ (ฮั่วเพ้ง 1958) จำกัด ต.แม่แฝกใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	W_1P_1
น้ำหมักโรงงานดองผลไม้ 21/1 หมู่4 ต.เมืองเล็น อ.สันทราย จ.เชียงใหม่	W_2P_1, W_2P_2, W_2P_3
น้ำหมักโรงงานดองผลไม้ ต.บ้านกาด อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่	W_3P_1, W_3P_2, W_3P_3, W_3P_4 , W_3P_5, W_3P_6, W_3P_7

หมายเหตุ F - ตัวอย่างอาหารที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่ความเข้มข้นสูงเป็นองค์-ประกอบในกระบวนการผลิต

S - ตัวอย่างดิน

W - ตัวอย่างน้ำ

2. การทดสอบการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มแต่ละไอโซเลทที่คัดแยกได้เมื่อทำการทดสอบที่ช่วงระดับความเค็ม 0 - 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

เมื่อนำแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทคัดแยกได้และทำให้บริสุทธิ์แล้วจากการ Cross streak plate technique มาทำการศึกษาการเจริญโดยเลี้ยงในอาหาร Halophilic brothที่มีเกลือเป็นส่วนผสมที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และวัดค่าการเจริญด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่นแสง 660 นาโนเมตร พบว่าการเจริญของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทจะสามารถมีการเจริญได้ดีตามช่วงระดับความเข้มข้นเกลือ เนื่องจากแบคทีเรียทนเค็มจะมีการแบ่งช่วงการเจริญเติบโตออกเป็นช่วง ๆ โดยอาศัยระดับความเข้มข้นของเกลือเป็นเกณฑ์ เช่น มัทนา (2538) ได้แบ่งแบคทีเรียที่ชอบเกลือ ออกเป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 สไลท์ฮาโลไฟท์ เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 0.5 - 3 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 2 มอเดอเรทฮาโลไฟท์ เจริญได้ในอาหารที่มีเกลือ 3 -15 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ 3 เอ็กทรีมฮาโลไฟล์ เจริญในอาหารที่มีเกลือ 15 - 30 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในที่มีความเข้มข้นสูงเป็นแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเฉพาะตัว คือ โดยทั่วไปถ้านำเซลล์แบคทีเรียได้ในสารละลายน้ำเกลือเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ สารละลายภายนอกเซลล์จะมีแรงดันออสโมติกสูงกว่าในเซลล์ น้ำจากในเซลล์จะไหลออกมาสู่ภายนอกกระบวนการพลาสโมไลซิส (Plasmolysis) ทำให้เซลล์เหี่ยวและไม่สามารถเจริญได้แต่แบคทีเรียทนเค็มจะมีคุณสมบัติ คือ มีผนังเซลล์ที่แข็งแรงสามารถป้องกันแรงดันออสโมซิสทำให้สามารถเจริญได้ นงลักษณ์ (2541)

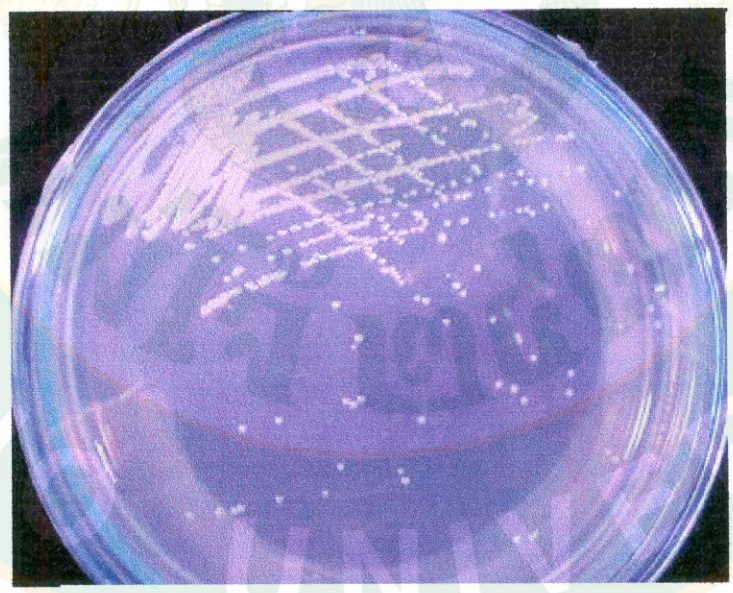
จากผลการทดลองการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 34 ไอโซเลทในความเข้มข้นเกลือระดับต่างๆ (ตาราง 6) สามารถแบ่งออก แบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 แบคทีเรียทนเค็มที่สามารถเจริญได้ดีในช่วงความเข้มข้นเกลือเล็กน้อย คือ ความเข้มข้นเกลือ 0 - 5 เปอร์เซ็นต์(w/v) มีแบคทีเรีย 11 ไอโซเลทจากทั้งหมด 34 ไอโซเลท ได้แก่ F_2P_1, S_2P_1, S_2P_2, S_3P_1, S_4P_1, S_5P_2, S_7P_2, S_8P_1, S_8P_5, S_8P_6 และ W_1P_1

กลุ่มที่ 2 แบคทีเรียทนเค็มที่สามารถเจริญได้ดีในช่วงความเข้มข้นเกลือปานกลาง คือ ความเข้มข้นเกลือ 10 - 15 เปอร์เซ็นต์ โดยแบคทีเรียที่จัดในกลุ่มนี้มีจำนวน 15 ไอโซเลท

จากทั้งหมด 34 ไอโซเลท ได้แก่ F_1P_1, S_1P_1, S_5P_1, S_6P_1, S_6P_2, S_6P_3, S_7P_1, S_8P_7, W_2P_1, W_2P_3, W_3P_1 W_3P_2, W_3P_3, W_3P_4 และ W_3P_5

กลุ่มที่ 3 แบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีในช่วงความเข้มข้นเกลือสูงโดยจัดแบคทีเรียที่มีความหนาแน่นของเซลล์ที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 25 เปอร์เซ็นต์ มากกว่า 0.100 มีจำนวน 8 ไอโซเลทได้แก่ F_3P_1, S_8P_2, S_8P_3, S_8P_4, S_8P_8, W_2P_2, W_3P_6 และ W_3P_7 โดยค่าหนาแน่นของเซลล์ที่ความหนาแน่นของเซลล์ที่ความเข้มข้นเกลือ 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เท่ากับ 0.124, 0.187, 0.103, 0.166, 0.157, 0.256, 0.166 และ 0.138 ตามลำดับแต่ค่าความหนาแน่นของเซลล์สูงสุด เท่ากับ 0.781, 0.749, 2.046, 0.835, 0.828, 0.860, 0.835 และ 1.287 มี 7 ไอโซเลทที่มีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดที่ความเข้มข้นเกลือที่ 10 เปอร์เซ็นต์ (w/v) แต่มี 1 ไอโซเลทที่สามารถเจริญและมีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดที่ความเข้มข้นเกลือที่ 15 เปอร์เซ็นต์ (w/v) คือ ไอโซเลท S_8P_3



ภาพ 5 การทำเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยการ Cross streak plate

ภาพ 6 ลักษณะการเจริญของเชื้อในอาหาร Halophilic broth ที่มีความเข้มข้นเกลือระดับ 0 - 25 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 6 ผลการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียทนเค็ม 34 ไอโซเลท ที่ช่วงระดับความเค็ม 0 - 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

รหัส	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของเกลือ (w/v)					
	0%	5%	10%	15%	20%	25%
F_1P_1	0.355	0.523	0.599	0.278	0.146	0.042
F_2P_1	0.194	0.509	0.190	0.229	0.161	0.094
F_3P_1	0.178	0.781	0.781	0.311	0.168	0.124
S_1P_1	0.371	0.403	0.584	0.130	0.040	0.021
S_2P_1	0.618	0.800	0.275	0.259	0.152	0.085
S_2P_2	0.865	0.471	0.367	0.623	0.219	0.129
S_3P_1	0.422	0.680	0.427	0.253	0.121	0.084
S_4P_1	0.234	0.295	0.295	0.087	0.130	0.030
S_5P_1	0.202	0.864	0.507	0.361	0.150	0.090
S_5P_2	0.503	0.612	0.407	0.159	0.070	0.042
S_6P_1	0.928	1.110	0.631	0.413	0.138	0.044
S_6P_2	0.906	0.821	0.666	0.020	0.083	0.021
S_6P_3	0.206	1.334	1.164	0.234	0.091	0.072
S_7P_1	0.819	0.934	0.717	0.302	0.364	0.096
S_7P_2	0.231	0.461	0.420	0.411	0.058	0.052
S_8P_1	1.216	0.487	0.541	0.150	0.084	0.083
S_8P_2	0.328	0.725	0.749	0.422	0.118	0.187
S_8P_3	0.186	0.655	2.169	2.046	0.102	0.103
S_8P_4	0.954	0.693	0.835	0.402	0.249	0.166
S_8P_5	0.509	0.977	0.422	0.275	0.053	0.037
S_8P_6	0.294	0.301	0.336	0.209	0.123	0.200
S_8P_7	0.569	0.861	0.828	0.354	0.214	0.157
S_8P_8	1.128	1.374	0.481	0.418	0.219	0.198
W_1P_1	0.820	1.098	0.339	0.189	0.127	0.057
W_2P_1	0.283	0.690	0.718	0.104	0.108	0.023
W_2P_2	0.632	0.745	0.860	0.202	0.162	0.256

ตาราง 6 (ต่อ)

รหัส	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของเกลือ (w/v)					
	0%	5%	10%	15%	20%	25%
W_2P_3	0.427	1.006	0.606	0.278	0.061	0.053
W_3P_1	0.569	0.861	0.828	0.354	0.214	0.157
W_3P_2	1.078	1.640	0.745	0.380	0.189	0.061
W_3P_3	0.242	1.588	1.127	0.078	0.066	0.077
W_3P_4	1.015	1.196	0.923	0.494	0.123	0.069
W_3P_5	0.556	0.981	0.851	0.495	0.193	0.080
W_3P_6	0.954	0.693	0.835	0.402	0.249	0.166
W_3P_7	0.346	0.805	1.287	0.486	0.233	0.138

3. การทดสอบการลดสีโดยลักษณะการเกิดวงใส (Clear zone) ของแบคทีเรียทนเค็มบนผิวหน้าอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye

จากการคัดเลือกแบคทีเรียจำนวน 34 ไอโซเลทที่ให้ผลในความสามารถในการเจริญได้ดีในช่วงความเข้มข้นของเกลือในช่วง 0 - 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) มาทดสอบความสามารถในการลดสีโดยลักษณะการเกิดวงใส ซึ่งจะพบว่าถ้าแบคทีเรียที่มีกลไกในการลดสีแบคทีเรียจะมีการดูดซับสีเข้าไปในชีวมวลเซลล์ของแบคทีเรีย Pearce, et al. (2003) ซึ่งกระบวนการนี้จะทำให้สามารถสังเกตบริเวณรอบข้างของผิวหน้าอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye ที่ทำการทดสอบเกิดลักษณะของวงใส ภาพ 8 ในการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการกำจัดสีโดยทำการคัดเลือกในอาหาร SM medium โดยการ Spread plate technique และทำการบ่มที่สภาวะอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะพบว่าแบคทีเรียที่สามารถลดสีได้นั้นจะสามารถสังเกตได้รอบๆ โคโลนีแบคทีเรียจะมีลักษณะการเกิดวงใสและมีความเข้มของสีลดลง เมื่อเทียบกับอาหาร SM medium ที่ไม่ได้ทำการ Spread plate technique (Chen, et al., 2003) และ Jian, et al. (2001) ได้ทำการศึกษาเพื่อคัดแยกแบคทีเรียเพื่อหาไอโซเลทของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการลดสีโดยนำตัวอย่างของ Sludge จากระบบน้ำเสียการย้อมผ้าซึ่งมีระบบการทำงานของระบบบำบัดเป็นแบบไร้อากาศและใช้อากาศ จากการศึกษาพบว่ามีการเจริญของโคโลนีบนผิวหน้าอาหารที่ใช้สำหรับการคัดแยกรวมทั้งยังมีความสามารถในการเกิดวงใสบนผิวหน้าอาหาร ซึ่งเป็นลักษณะที่แสดงให้พบว่าแบคทีเรียนั้นมีความสามารถในการลดสีและดูดซับสีเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรีย

ดังนั้นในการทดลองในครั้งนี้ได้ทำการทดสอบการเกิดวงใสของแบคทีเรียทนเค็มบนผิวหน้าอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye เพื่อหาแบคทีเรียนั้นมีความสามารถในการลดสีและดูดซับสีเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรียโดยนำเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดจำนวน 34 ไอโซเลทมาทำการทดสอบโดยอาศัยเทคนิคการทำ Spot technique โดยทำภายใต้สภาวะการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ถ้าแบคทีเรียทนเค็มไอโซเลทใดที่มีความสามารถในการย่อยสีและดูดซับสีนั้นจะมีการเกิดวงใสรอบ ๆ โคโลนีของแบคทีเรีย และพบว่ามีแบคทีเรียทนเค็มจำนวน 3 ไอโซเลทจากทั้งหมด 34 ไอโซเลท ที่มีการเกิดวงใสซึ่งได้แก่แบคทีเรียทนเค็มไอโซเลท S_1P_1, F_1P_1 และ W_3P_2

(ซ้าย) (ขวา)

ภาพ 7 การเปรียบเทียบแบคทีเรียทนเค็มที่เกิดการลดสีบนผิวหน้าอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye (ขวา) กับแบคทีเรียทนเค็มที่ไม่เกิดการลดสี (ซ้าย)

ภาพ 8 ลักษณะการเกิดวงใสของแบคทีเรียทนเค็มบนผิวหน้าอาหารHalophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye

4. ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของโรงงานย้อมผ้าโดยแบคทีเรียทนเค็ม

ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าของแบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ชนิด โดยเชื้อของแบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ไอโซเลทนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ

กลุ่มที่หนึ่ง คือ แบคทีเรียทนเค็มมีความสามารถในการลดสีโดยลักษณะการเกิดวงใส ของแบคทีเรียทนเค็มบนผิวหน้าอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye ได้แก่ ไอโซเลทที่ F_1P_1, S_1P_1 และ W_3P_2

กลุ่มที่สอง คือ แบคทีเรียทนเค็ม กลุ่มที่สามตามการจัดแบ่งขั้นต้น หมายถึง แบคทีเรียที่เจริญได้ดีในช่วงของความเข้มข้นของเกลือสูง มีความหนาแน่นของเซลล์ที่ระดับความเข้มข้นเกลือ 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) มากกว่า 0.100 ได้แก่ เชื้อไอโซเลท S_8P_3, W_2P_2 และ W_3P_7

นำทั้งหมด 6 ไอโซเลทมาเพราะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยที่มีน้ำเสียตัวอย่าง จากกระบวนการการย้อมผ้าบาติกที่มีการทิ้งน้ำสีที่ใช้จากการย้อมรวมกันจำนวน 500 มิลลิลิตร น้ำเสียตัวอย่างที่นำมาทำการทดสอบนั้นมีลักษณะของปริมาณ FCOD เท่ากับ 1,807 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) อยู่ในช่วง 7.4 - 7.9 มีปริมาณเกลือเท่ากับ 1.2 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ดังนั้นก่อนการทดสอบหาประสิทธิภาพ ต้องมีการทำ Pre - treatment ก่อนโดยการตกตะกอนโดยใช้สารเคมี โดยในการทดลองในครั้งนี้ สารที่ใช้คือ สารละลายสารส้ม (Alum) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) หลังจากการตกตะกอน จะทำการกรอง โดยใช้ถ่านกัมมันต์ พบว่าหลังจากการทำ Pre - treatment พบว่าปริมาณ ของ FCOD ลดลงเหลือ 880 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากการศึกษาพบว่าองค์ประกอบของน้ำเสียที่มาจากกระบวนการย้อมผ้ามีลักษณะของปริมาณ COD สูง โดยถ้าต้องการลดปริมาณ COD ลงอย่างสมบูรณ์ จากกระบวนการบำบัดทางชีวภาพควรมีกระบวนการทางเคมี เข้าเสริมโดยจากการศึกษามีการใช้วิธีการทางเคมี โดยใช้สาร Bentonite ในการกระบวนการ Pre – treatment โดยพบว่าสามารถลดปริมาณ COD ได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ระบบการบำบัด โดยกระบวนการทางชีวภาพมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น Dulkadiroglu, et al. (2002)

ในการศึกษาทดลองเพื่อหาประสิทธิภาพ จะทำการทดลองภายใต้สภาวะที่มีอากาศ โดยการเขย่าที่ความเร็วรอบ 155 rpm. ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 21 วัน โดยมีการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นในอัตราส่วน 5 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรทั้งหมด และ ชุดควบคุม นำน้ำเสียมาทดสอบหาปริมาณ FCOD, ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solids, TS) ปริมาณของสารแขวนลอย (Suspended solids, SS) และปริมาณของสีโดยใช้ค่าของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 605 นาโนเมตร จากนั้นศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ ปริมาณ FCOD ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solids, TS) ปริมาณของสารแขวนลอย (Suspended solids, SS) และปริมาณของสีโดยใช้ค่าของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 605 นาโนเมตรโดยการทำการตรวจวัดประสิทธิภาพทุก ๆ 3 วัน จนครบระยะเวลา 21 วัน ตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า ซึ่งมีองค์ประกอบของสีในกลุ่ม Vinyl sulfone ของสี Reactive black 5 และสี Navy 106 พบว่าทั้งสองสีมีการลดลงของปริมาณสี ปริมาณ TOC และ ปริมาณ COD ในสภาพที่มีอากาศ โดยการลดลงของสีจะพบในรูปปริมาณการเพิ่มขึ้นของชีวมวล โดยจะมีปริมาณของสีที่เพิ่มมากขึ้นโน้มไปทางอัตราส่วนของชีวมวล Ganesh, et al. (1994) และเมื่อใช้ระบบการบำบัดแบบ Sequencing batch reactor สามารถลดปริมาณสีได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ แต่การลดลงของปริมาณ COD มีการลดลงในสภาวนี้ต่ำ คือ ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบด้านประสิทธิภาพ พบว่า ต่ำกว่ากระบวนการที่มีการใช้อากาศ Stern, et al. (2003)

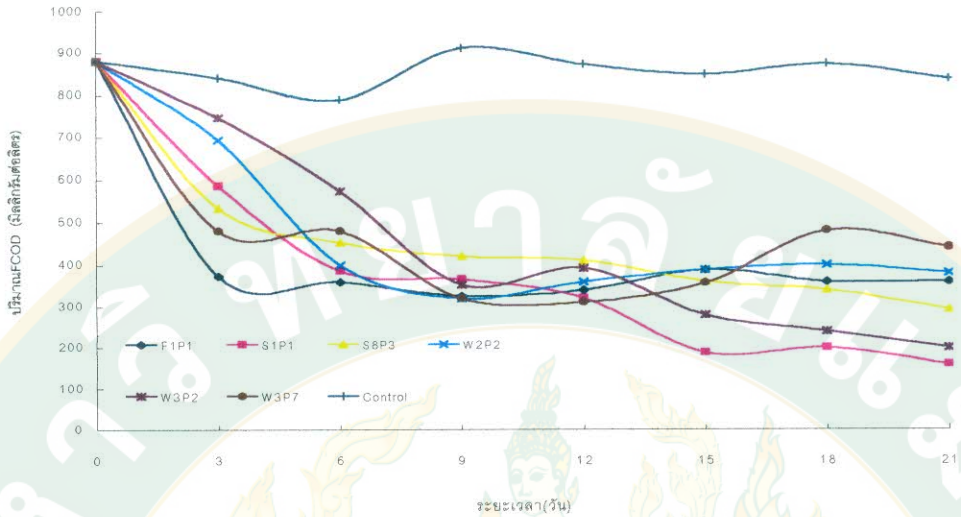
จากผลการศึกษาทดลองพบว่าปริมาณ FCOD ในน้ำเสีย หลังจากการทดสอบเป็นเวลา 21 วัน โดยในกลุ่มที่หนึ่ง คือ F_1P_1, S_1P_1 และ W_3P_2 มีค่า FCOD ที่เหลืออยู่เท่ากับ 360, 160 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการกำจัดได้ 59, 83 และ 77 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกลุ่มที่สอง คือ S_8P_3, W_2P_2 และ W_3P_7 มีปริมาณค่า FCOD ที่เหลืออยู่เท่ากับ 293, 380 และ 440 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสามารถในการกำจัดได้ 66, 56 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณ FCOD ที่เหลืออยู่เท่ากับ 835 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นความสามารถในการกำจัดได้เพียง 16 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำทั้งสองกลุ่มมาเปรียบเทียบกัน พบว่า กลุ่มที่หนึ่งให้เปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการกำจัดได้ดีกว่าในกลุ่มที่สอง และเมื่อนำมาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าความสามารถในการกำจัดปริมาณ FCOD ของแบคทีเรียทนเค็มทั้งหมด 6 ไอโซเลท พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงในตาราง 7

ค่าเปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการกำจัดปริมาณ FCOD พบว่าแบคทีเรียทนเค็มไอโซเลท S_1P_1 มีความสามารถในการกำจัดปริมาณ FCOD ได้สูงสุด คือ 83 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแบคทีเรียทนเค็มที่ให้ประสิทธิภาพการกำจัดปริมาณ FCOD ได้ต่ำที่สุด คือ ไอโซเลท W_3P_7 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์

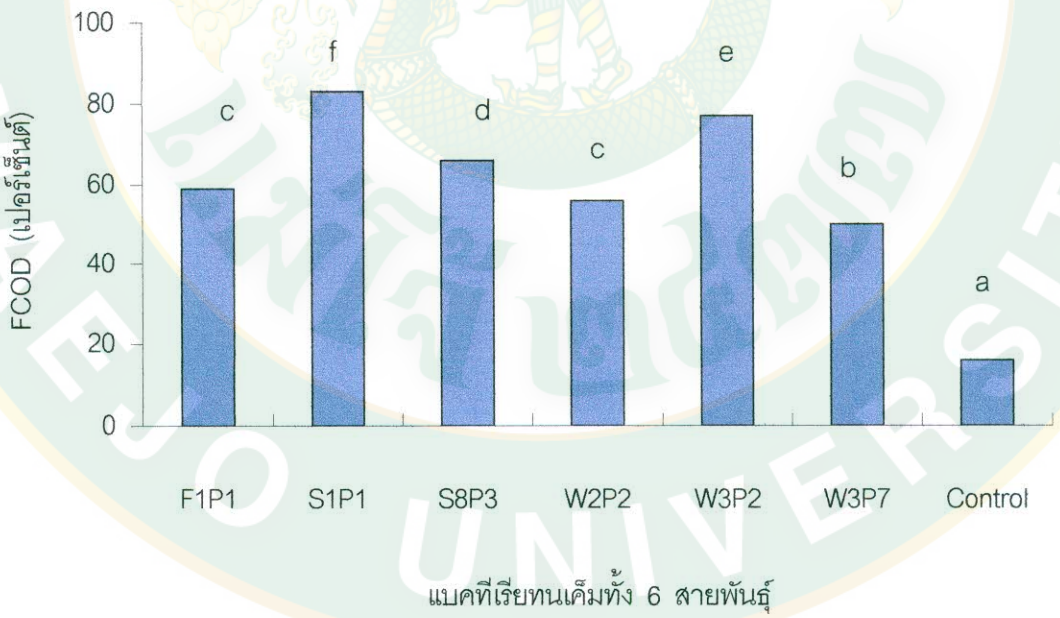
จากผลการทดสอบข้างต้นอาจกล่าวได้ว่า แบคทีเรียที่มีลักษณะทนเค็มและมีคุณสมบัติในการวงใส คือ มีการลดสี พบว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายค่อนข้างสูง รวมทั้งยังมีความสามารถดึงสารอินทรีย์ในโมเลกุลของโครงสร้างของสี เข้าไปใช้ประโยชน์ของกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ ทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดได้ดีกว่า โดยสีจะเข้าไปในเซลล์รวมออกมาในรูปของชีวมวล ของเซลล์ Pearce, et al. (2003) แต่พบว่าการที่เซลล์มีการดูดซับสีเข้าไปจนถึงจุดหนึ่งที่เซลล์อิ่มตัวจนไม่สามารถจะดูดซับจะทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดลดลง เนื่องจากเซลล์ไม่สามารถกำจัดสารอินทรีย์ได้อย่างสมบูรณ์ซึ่งปรากฏให้เห็นว่าแบคทีเรียทนเค็มไอโซเลทที่ F_1P_1 พบว่าในระยะเวลาการทดลอง วันที่ 9 มีความสามารถในการกำจัดปริมาณ FCOD ได้สูงสุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 62 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเวลาผ่านไปเมื่อวันที่ 12 - 21 เปอร์เซ็นต์ในการกำจัด FCOD ลดลง ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า เซลล์มีการดูดซับของสีมากเกินไปจนกระทั่งเซลล์บางส่วนตาย และทำให้เกิดปริมาณของของเสียในรูปของสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณค่า FCOD

แบคทีเรียที่เกิดวงใสนั้นเป็นแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติพิเศษในการสังเคราะห์เอนไซม์ที่มีลักษณะเฉพาะตัวสำหรับสารประกอบของโครงสร้างโมเลกุลสี

ดังนั้นจากผลการทดลองแบคทีเรียไอโซเลทที่เกิดวงใสจึงทำให้เปอร์เซ็นต์การกำจัดปริมาณ FCOD ได้สูงถึง 83 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเชื้อรหัส S_1P_1 มีความสามารถในการเจริญในสภาพของน้ำเสียที่มีความเค็มและความสามารถในการปรับตัวให้เหมาะสมเพราะความเค็มเป็นปัจจัยที่มีผลต่อ Osmotic pressure ของเซลล์โดยในสภาวะ Hypoosmotic ของแบคทีเรียส่วนแบคทีเรียที่ไม่มีคุณสมบัติการทนเค็มจะสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ทำให้ปริมาณไซโตรพลาสซึมลดลงส่งผลต่ออัตราการใช้สารอินทรีย์ในการสร้างพลังงานหรือการสังเคราะห์สารลดลง Kargi and Dincer (1998) และถ้าต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการลดลงของปริมาณ COD ของน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าโดยทำการบำบัดในส่วนที่สองหลังจากผ่านการลดสีโดยภายใต้สภาวะไร้อากาศก่อนที่จะเข้ามาในส่วนของสภาวะใช้อากาศซึ่งพบว่าในสภาวะนี้สามารถลดปริมาณ COD ได้ถึง 85 - 95 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าไม่ผ่านการลดสีบางส่วนพบว่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของปริมาณ COD จะอยู่ที่ 40 - 60 เปอร์เซ็นต์ Sponza, et al. (2002) ส่วนแบคทีเรียทนเค็มกลุ่มที่สองจึงสามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ได้บางส่วนแต่เหลือสารอินทรีย์ในรูปโมเลกุลโครงสร้างของสี ทำให้ค่าการกำจัดปริมาณ FCOD ลดลงได้น้อยกว่ากลุ่มที่หนึ่ง



ภาพ 9 การย่อยสลายสารอินทรีย์ (FCOD - มิลลิกรัมต่อลิตร) ของแบคทีเรียทนเค็ม 6 สายพันธุ์ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน



ภาพที่ 10 เปอร์เซ็นต์ประสิทธิภาพการลด FCOD ของแบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน

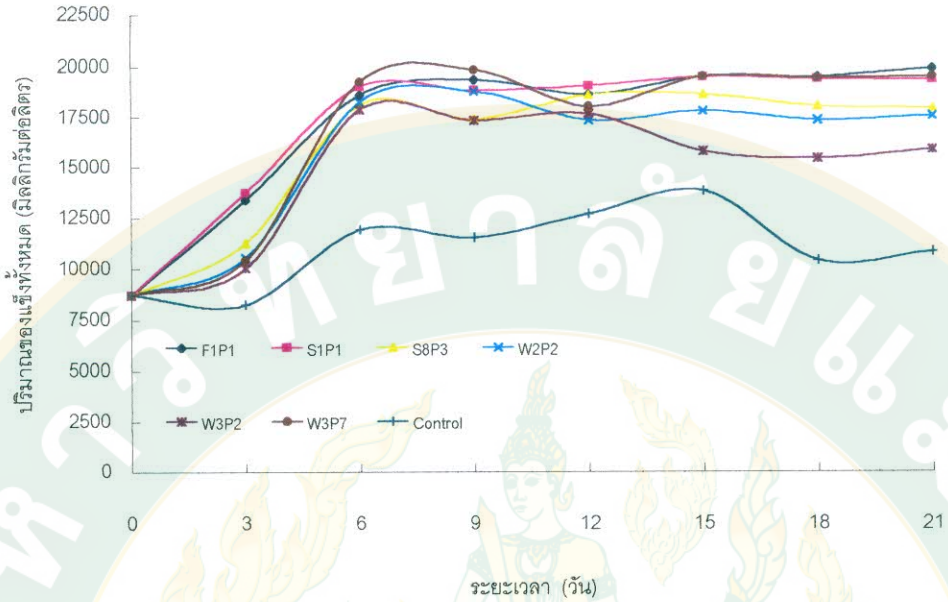
ตาราง 7 ประสิทธิภาพการลด Filtration chemical oxygen demand (FCOD) ของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลทที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน

ชนิดของแบคทีเรียทนเค็ม	การกำจัด FCOD (เปอร์เซ็นต์)
F_1P_1	59c [1/]
S_1P_1	83f
S_8P_3	66d
W_2P_2	56c
W_3P_2	77e
W_3P_7	50b
Control	16a
ความแตกต่างสถิติ	*

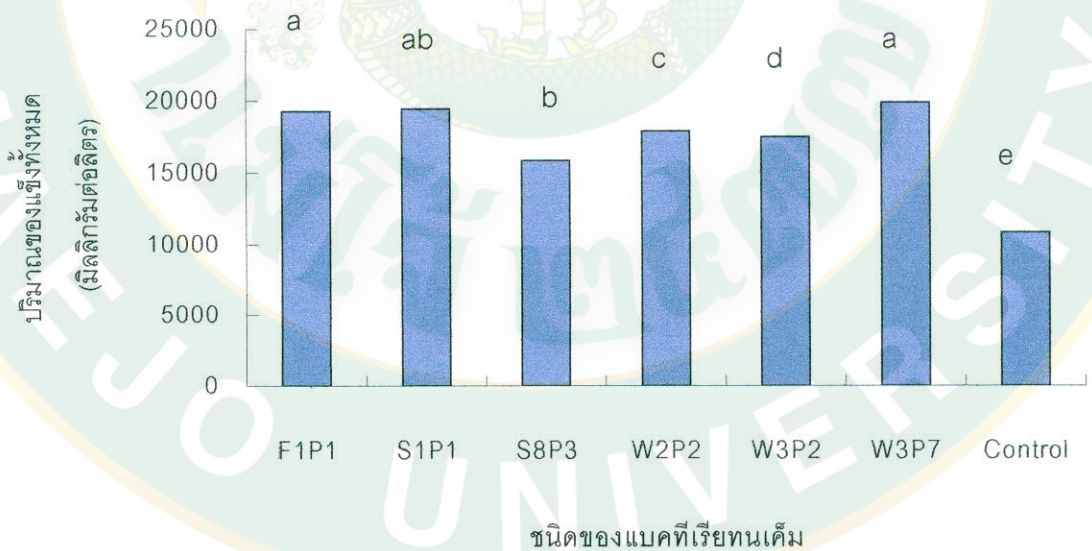
[1/] ค่าเฉลี่ยในช่องเดียวกันมีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณการเปลี่ยนแปลงของแข็งทั้งหมด และของแข็งแขวนลอยของน้ำเสียในการย้อมผ้าที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดโดยแบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ไอโซเลทในระยะเวลา 21 วัน โดยมีการกำหนดระยะเวลาการเก็บตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงทุก ๆ 3 วัน ปริมาณของแข็ง - ทั้งหมด เมื่อระยะเวลาผ่านไป 3 วันแบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ไอโซเลทมีปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ อัตราการเพิ่มขึ้นของปริมาณของแข็งทั้งหมดมีองค์ประกอบของสารประกอบภายในน้ำเสีย ได้แก่ เกลือ และสีย้อม รวมทั้งยังมีบางส่วนของเซลล์ของแบคทีเรียที่มีการเจริญอย่างรวดเร็วในน้ำเสียเนื่องจากการเตรียมหัวเชื้อนั้นให้อยู่ในช่วงของ Stationary phase ทำให้แบคทีเรียทั้ง 6 ไอโซเลทสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพน้ำเสียได้อย่างรวดเร็วปริมาณของแข็งทั้งหมดมีปริมาณเพิ่มขึ้นจนกระทั่งวันที่ 21 ของการทดลอง มีปริมาณของแข็งทั้งหมดของแต่ละไอโซเลทดังนี้ F_1P_1, S_1P_1, W_2P_2, W_3P_2, W_3P_3 และ W_3P_7 มีปริมาณเท่ากับ 19,850, 19,300, 17,500, 15,850, 17,875 และ 10,715 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ โดยแต่ละไอโซเลทที่ให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงสุด คือ F_1P_1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 19,850 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าการเปลี่ยนแปลงมากกว่าที่เริ่มต้นในวันที่ 0 เท่ากับ 11,115 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนไอโซเลทที่มีการเพิ่มของปริมาณของแข็งทั้งหมดต่ำที่สุด คือ W_3P_2 พบว่ามีปริมาณที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับวันที่ 0 เท่ากับ 7,115 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำทั้ง 6 ไอโซเลทมาเทียบกับชุดควบคุมซึ่งมีการเปลี่ยน-แปลงปริมาณเท่ากับ 2,090 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่าปริมาณที่เพิ่มขึ้นนั้นมาจากภายในน้ำเสียที่มีการเติมหัวเชื้อทำให้มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณของแข็งทั้งหมด ระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้ระบบทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์นั้นถ้ามีปริมาณของแข็งในรูปของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในปริมาณสูงนั้นจะมีความว่องไวต่อการเปลี่ยนแปลงในสิ่งแวดล้อม มีแนวโน้มต้องหากรรมวิธีที่ทำให้เกิดการตกตะกอนก่อนปล่อยออกจากระบบเพราะจะทำให้เกิดผลกระทบต่อแหล่งน้ำที่รองรับน้ำนั้น Pophali, et al. (2003) และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ยังส่งผลต่อการแทรกผ่านของอากาศในถังเติมอากาศ ซึ่งมีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์จุลินทรีย์

เมื่อนำปริมาณการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดของแต่แบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ไอโซเลทมาทำการวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติพบว่า ปริมาณค่าของแข็งทั้งหมดของแบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ไอโซเลท มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ตาราง 8



ภาพ 11 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน



ภาพ 12 ปริมาณปริมาณของแข็งทั้งหมดของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นเวลาระยะเวลา 21 วัน

ตาราง 8 ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS - มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่มีอยู่หลังจากเลี้ยงแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลทในน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน

ชนิดของแบคทีเรียทนเค็ม	ปริมาณของแข็งทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)
F_1P_1	19850a [1/]
S_1P_1	19300ab
S_8P_3	17875b
W_2P_2	17500c
W_3P_2	15850d
W_3P_7	19450a
Control	10825e
ความแตกต่างทางสถิติ	*

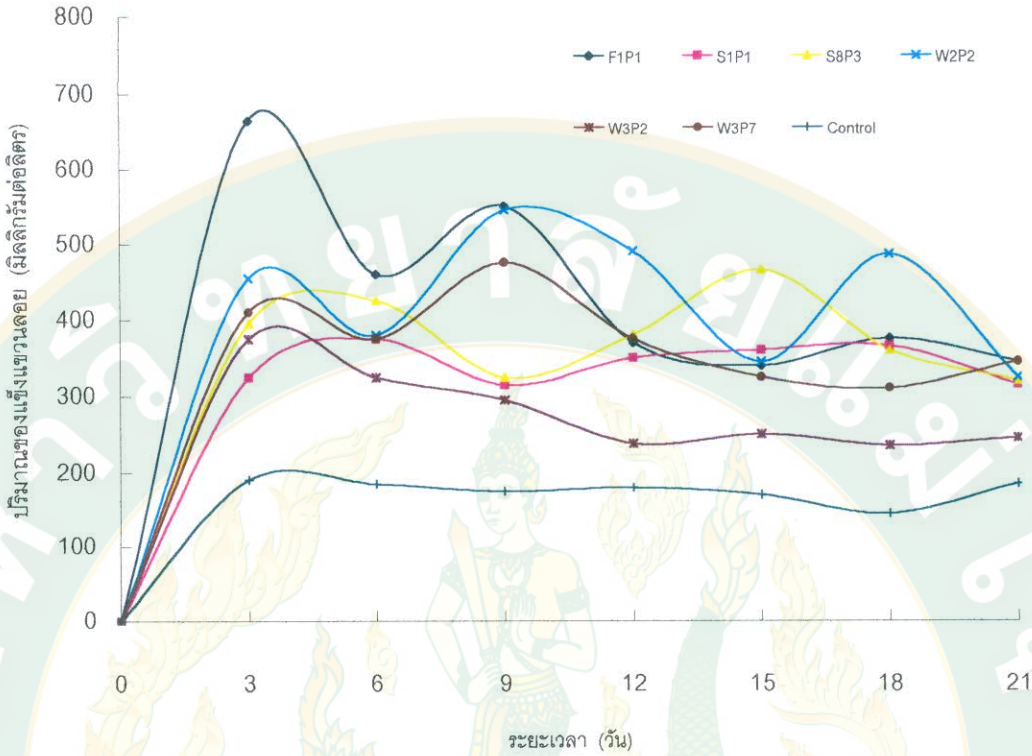
[1/] ค่าเฉลี่ยในช่องเดียวกันมีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณของแข็งแขวนลอยภายในน้ำเสียที่ทำการทดลอง ที่มีการเปลี่ยนแปลงในระยะเวลาการตรวจวัด 21 วันพบว่าในระยะเวลา 0 - 3 วันแรกการเพิ่มของปริมาณของแข็งแขวนลอยมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในปริมาณที่สูงโดย ในวันที่ 0 เริ่มต้นปริมาณค่าของแข็งแขวนลอยในน้ำเสียมีปริมาณเท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ในวันที่ 3 มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณของแข็ง-แขวนลอยของแต่ละไอโซเลท ดังนี้ F_1P_1, S_1P_1, S_8P_3, W_2P_2, W_3P_2 และ W_3P_7 มีค่าเท่ากับ 665, 325, 395, 455, 375 และ 410 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ และเมื่อทำการตรวจวัดหาปริมาณของแข็งแขวนลอยจนกระทั่งถึงวันที่ 21 พบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณของแข็งแขวนลอยในวันที่ 21 มีการเปลี่ยนแปลงใกล้เคียงกับปริมาณในวันที่ 3 มีปริมาณของแข็งแขวนลอยดังนี้ F_1P_1, S_1P_1 S_8P_3, W_2P_2, W_3P_2 และ W_3P_7 มีค่าเท่ากับ 345, 315, 320, 325, 345 และ 245 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ แต่เมื่อเทียบค่าปริมาณทั้งวันที่ 3 และวันที่ 21 พบว่ามีปริมาณของแข็งแขวนลอยที่ลดลง อาจจะเนื่องมาจากสาเหตุการจับรวมตัวของเซลล์แบคทีเรียให้เกิดการจับตัวเป็นฟล๊อคตกเป็นตะกอนหนัก และจากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของเกลือ ถ้ามีความเข้มข้นของเกลือมากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อประสิทธิภาพการเกิดฟล๊อคลดลง Belkin, et al. (1993) และในน้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีความเค็มมักมีปริมาณสารแขวนลอยสูง มีปริมาณสารแขวนลอยในน้ำที่ผ่านการบำบัดเกิน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากเกลือเป็นตัวที่มีความสามารถชักนำให้เกิดการแตกตัวของเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุโดยตรงที่ทำให้น้ำออกมีปริมาณสารแขวนลอยสูงขึ้นและประชากรโปรโตซัวและจุลินทรีย์ชนิดเส้นใย (Filamentous microorganism) มีจำนวนลดลงทำให้เกิดฟล๊อคได้ไม่ดีเท่าที่ควร Woodland and Irvine (1994) โดยที่การใช้จุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียมีความว่องไวต่อการเปลี่ยนแปลงของอิออนเกลือดังนั้นถ้าเปอร์เซ็นต์เกลือเพิ่มขึ้น 0.5 - 2 เปอร์เซ็นต์ก่อให้เกิดของแข็งแขวนลอยในน้ำออกเพิ่มมากขึ้นและสูญเสียของแข็งระเหย (Volatile solid) ดังนั้นถ้าในระบบบำบัด Stover and Obayashi (1991) ในประเทศไทยได้มีการกำหนดปริมาณของแข็งแขวนลอยตามมาตราฐานน้ำทิ้งที่เสนอแนะสำหรับโรงงานฟอกย้อมลำดับที่ 22(1) 22(2) และ 22(3) ที่ระบายลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะได้มีการกำหนดไว้ที่ $\not>$ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากข้อมูลผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมจำนวน 100 แห่งพบว่ามีโรงงานจำนวน 77 แห่งที่สามารถบำบัดน้ำทิ้งได้ตามเกณฑ์ที่กำหนดค่าของแข็งแขวนลอยเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร คู่มือการจัดการสิ่งแวดล้อมโรงงานฟอกย้อม (2542)

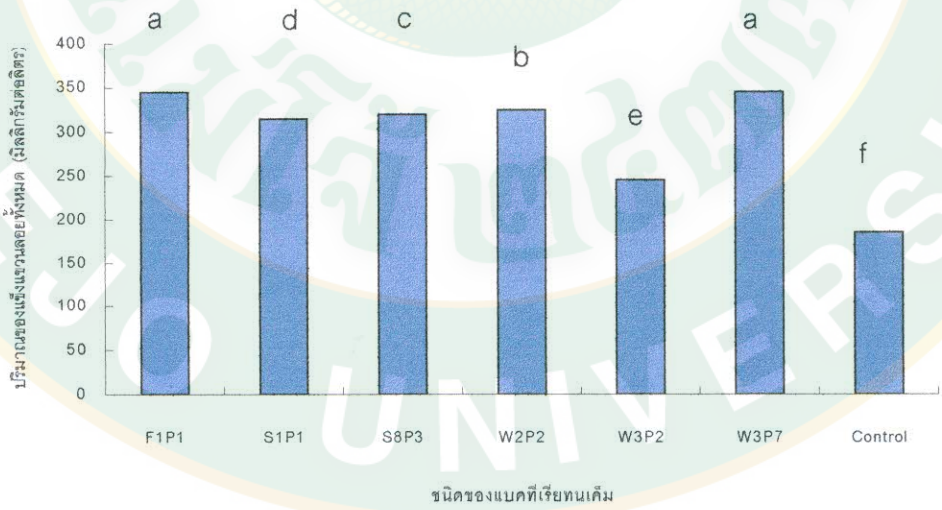
จากผลการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งแขวนลอยพบว่าแบคทีเรียทนเค็มไอโซเลท W_3P_7 มีปริมาณของแข็งแขวนลอยในวันที่ 21 น้อยที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 245 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนแบคทีเรีย F_1P_1 และ W_3P_2 ให้ปริมาณของแข็งแขวนลอยมากที่สุดมีค่าเท่ากับ 345 มิลลิกรัม

ต่อลิตร โดยที่ชุดควบคุมมีปริมาณของแข็งแขวนลอยเพียง 185 มิลลิกรัมต่อลิตรในระบบบำบัดนั้นช่วงของ Primary treatment จะเป็นการบำบัดทางกายภาพ - ทางเคมีจะทำให้ปริมาณของ COD และสารแขวนลอยลดลง และในช่วงของ Secondary treatment ที่เป็นแบบ Aeration tank จะเป็นช่วงที่ทำการลดลงของ ปริมาณ BOD, COD และปริมาณของแข็งแขวนลอย Pophali, et al. (2003)

เมื่อนำค่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งแขวนลอยมาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่ามีความต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ตาราง 9



ภาพ 13 ปริมาณการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยเวลา 21 วัน



ภาพ 14 ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมดของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน

ตาราง 9 ปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS - มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่มีอยู่หลังจากเลี้ยงแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลทในน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 21 วัน

ชนิดของแบคทีเรียทนเค็ม	ปริมาณของแข็งแขวนลอย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
F_1P_1	345a [1/]
S_1P_1	315d
S_8P_3	320c
W_2P_2	325b
W_3P_2	245e
W_3P_7	345a
Control	185f
ความแตกต่างทางสถิติ	*

[1/] ค่าเฉลี่ยในช่องเดียวกันมีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณความเข้มข้นของสีในการตรวจวัดประสิทธิภาพในการบำบัดโดยแบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ไอโซเลทในระยะเวลา 21 วัน โดยทำการตรวจวัดจะอาศัยการวัดโดย Spectrophotometer โดยจะต้องทำการหาช่วงสูงสุดของการดูดกลืนแสงโดยทำการสแกนหาช่วงความยาวคลื่นแสงตั้งแต่ช่วงความยาวคลื่นแสง 530 ถึง 880 นาโนเมตร พบว่าช่วงที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่เริ่มต้น 530 นาโนเมตรมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 2.867 แต่ช่วงความยาวคลื่นแสง 605 นาโนเมตร สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้มากที่สุด 3.017 ส่วนในช่วงความยาวคลื่นแสงสูงสุดที่ใช้ 880 นาโนเมตร นั้นมีค่าการดูดกลืนแสงเพียง 0.044 ภาพที่ 15

ดังนั้นในการทดสอบหาปริมาณสีที่มีอยู่ในตัวอย่างน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูนนี้ จึงเลือกช่วงความยาวคลื่นแสงที่ 605 นาโนเมตร ชนิดของสีและโครงสร้างของสีแต่ละชนิดจะส่งผลต่อความยาวคลื่นแสงที่แตกต่างกันซึ่งส่งผลทำให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดแตกต่างกัน เช่น สีชนิดอะโซ ที่มีลักษณะพันธะโครงสร้างเคมีของสีแบบ Monoazo ได้แก่สี Acid orange 7 (15510) ใช้ความยาวคลื่นแสงที่ 485 นาโนเมตร สี Reactive red 198 (Unpublished) ใช้ความยาวคลื่นแสง 515 นาโนเมตร สีที่มีโครงสร้างเคมีของสีแบบ Diazo ได้แก่สี Direct yellow 4 (24890) ใช้ความยาวคลื่นแสงที่ 396 นาโนเมตร สี Reactive blue 222 (unpublished) ใช้ความยาวคลื่นแสงที่ 613 นาโนเมตร Chen, et al. (2003) ส่วนสี DB38 และ CR จากการหาช่วงความยาวคลื่นแสงที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด คือที่ความยาวคลื่นแสง 520 และ 497 นาโนเมตร ตามลำดับ Isik and Sponza (2003) ดังนั้นการตรวจวัดหาปริมาณของสีโดยหลักการ Spectrophotometer จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องหาความยาวคลื่นแสงที่เหมาะสมเพื่อทำให้ได้ค่าความดูดกลืนแสงสูงสุด

จากการทดสอบประสิทธิภาพการลดลงของสีในตัวอย่างน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ที่ทำการศึกษาการบำบัดโดยแบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ไอโซเลทในระยะเวลา 21 วัน ในสภาวะการเขย่า เติมอากาศที่ความเร็วรอบ 155 rpm พบว่าในวันที่ 0 เริ่มต้นในน้ำเสียวัดค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.906 เมื่อทำการเติมหัวแบคทีเรียทนเค็มทั้ง 6 ลงไปพบว่าในวันที่ 3 มีความขุ่นเพิ่มขึ้นทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดได้มีค่าเพิ่มขึ้น แต่แบคทีเรียทนเค็มไอโซเลทที่ S_1P_1 ที่มีคุณสมบัติการเกิดวงใสมีปริมาณค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ลดลงเรื่อยๆ ในวันที่ 6 - 21 ทำการตรวจวัดทุก ๆ 3 วัน มีการลดลง 17, 43, 61, 88 และ 86 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในวันที่ 21 มีเปอร์เซ็นต์การลดลงที่ตรวจวัดการดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 89 เปอร์เซ็นต์ โดยคิดเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับชุดควบคุมมีแบคทีเรียทนเค็มอีก 1 ไอโซเลท คือ W_3P_2 มีการลดลงของค่าการดูด-

กลืนของแสงเช่นเดียวกับ S_1P_1 แต่มีค่าการดูดกลืนแสงที่วัดวันที่ 21 มีเปอร์เซ็นต์การลดลงน้อยกว่า คือ ลดลงได้ 58 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่า S_1P_1 เท่ากับ 31 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำผลการลดลงของสีโดยแบคทีเรียทนเค็มทั้งหมด 6 ไอโซเลทที่วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 605 นาโนเมตรนำมาทดสอบความแตกต่างทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตาราง 10

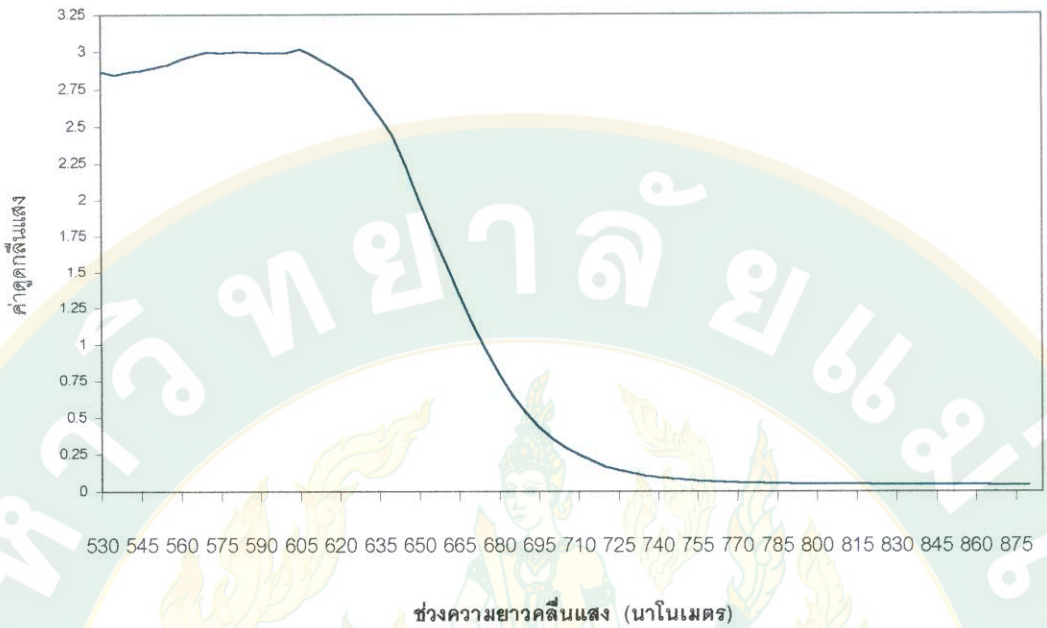
แบคทีเรียทนเค็มที่ทำการศึกษาไอโซเลท S_1P_1 เมื่อทำการจำแนกพบว่าเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ *Chryseomonas luteola* ซึ่งเป็นสายพันธุ์เดียวกับ *Pseudomonas luteola* ทำการเปลี่ยนแปลงตามหลักการ Bergey' s manual of systematic bacteriology จากการศึกษา *Pseudomonas luteola* ในสภาวะการเขย่าและไม่เขย่า (Shaking - static) พบว่าสามารถลดลงของปริมาณสี RP2B โดยทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร มีเปอร์เซ็นต์การลดลงของสีเท่ากับ 95 เปอร์เซ็นต์ภายในระยะเวลา 5 วัน Hu (1998)

P. luteola สามารถทำให้ปริมาณของสีที่เป็นองค์ประกอบของน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าลดลงได้นั้นเนื่องจาก *P. luteola* มีลักษณะพิเศษของเอนไซม์ Azoreductase ซึ่งการสร้างเอนไซม์จะสร้างในลักษณะของ Intact cell โดยระดับของปริมาณเอนไซม์จะมากน้อยนั้นจะขึ้นอยู่ตามช่วงของการเจริญโดยสามารถเรียงลำดับได้ดังนี้ คือ ช่วงของ Late - stationary phase จะเป็นช่วงที่มีปริมาณการผลิตของเอนไซม์ได้มากที่สุด รองลงมาก็ คือ ช่วง Early - stationary phase ส่วนช่วงของการเจริญ Mid - log phase เป็นช่วงที่มีปริมาณเอนไซม์ผลิตออกมาน้อยที่สุด Chang, et al. (2000) ดังนั้นการที่จะนำ *P. luteola* เพื่อมาใช้ในการบำบัด น้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าเพื่อทำการลดลงของปริมาณสีนั้น ควรจะทำการทำหัวเชื้อให้มีระยะการเจริญช่วง Late - stationary phase เพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของ *P. luteola*

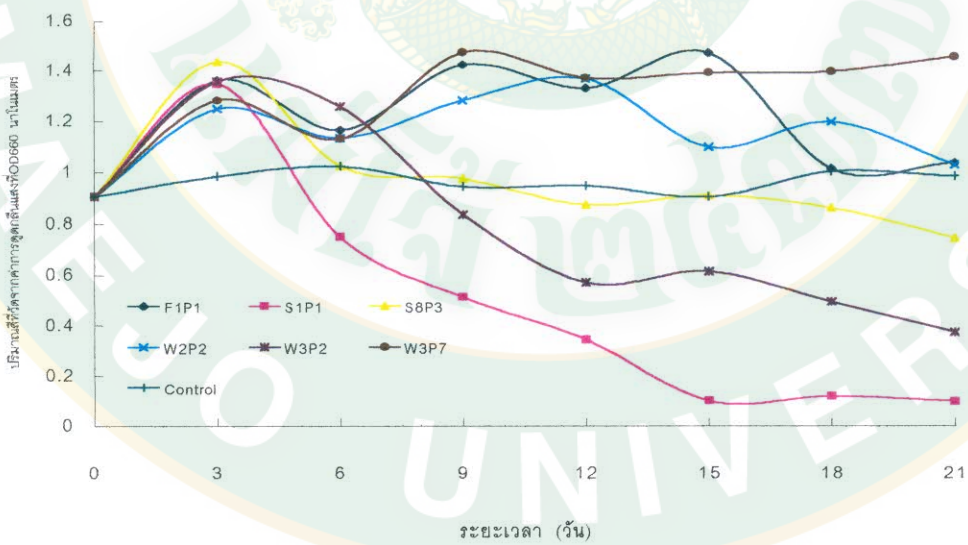
สภาพที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์นั้นมีการศึกษาโดยทำงานย่อยสีชนิด Reactive red 22 พบว่าในสภาวะที่มีออกซิเจนละลายสูงรวมทั้งปริมาณความเข้มข้นของกลูโคสสูงจะทำให้การกำจัดสีได้ช้าลง แต่ถ้ามีการเพิ่มแหล่งของไนโตรเจน ซึ่งได้แก่ Yeast extract และ Tryptone จะมีผลส่งเสริมทำให้การลดลงของสีได้รวดเร็วยิ่งขึ้น Chang, et al. (2000) แต่ Hu (2001) ได้ทำการศึกษาโดยไม่มีการเพิ่มแหล่งของไนโตรเจน ปริมาณการลดลงของสียังคงมีเปอร์เซ็นต์การลดลงสูง คือ 59 - 99 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการศึกษาทดลองนี้จึงไม่ได้มี

การเพิ่มแหล่งของไนโตรเจนเนื่องจากในสูตรของอาหารเหลว (Halophilic broth) นั้นมีส่วนประกอบของ Yeast extract อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ Azoreductase และการเจริญของ *P. luteola* จะอยู่ในช่วง 28 - 45 องศาเซลเซียส ซึ่งผลของอุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อการลดลงของปริมาณสี Hu (2001) ในการศึกษาทดลองนี้ได้มีสภาวะของอุณหภูมิอยู่ในช่วงของอุณหภูมิห้องซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญและการทำงานของเอนไซม์ และระดับ pH ที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 7 - 9 (Chang, et al., 2000) ดังนั้นเพื่อในการทดลองจึงมีการปรับระดับ pH ของน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้า จ. ลำพูนให้อยู่ในช่วง 7 ด้วย สารละลายโซเดียมไฮดร๊อกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (w/v)

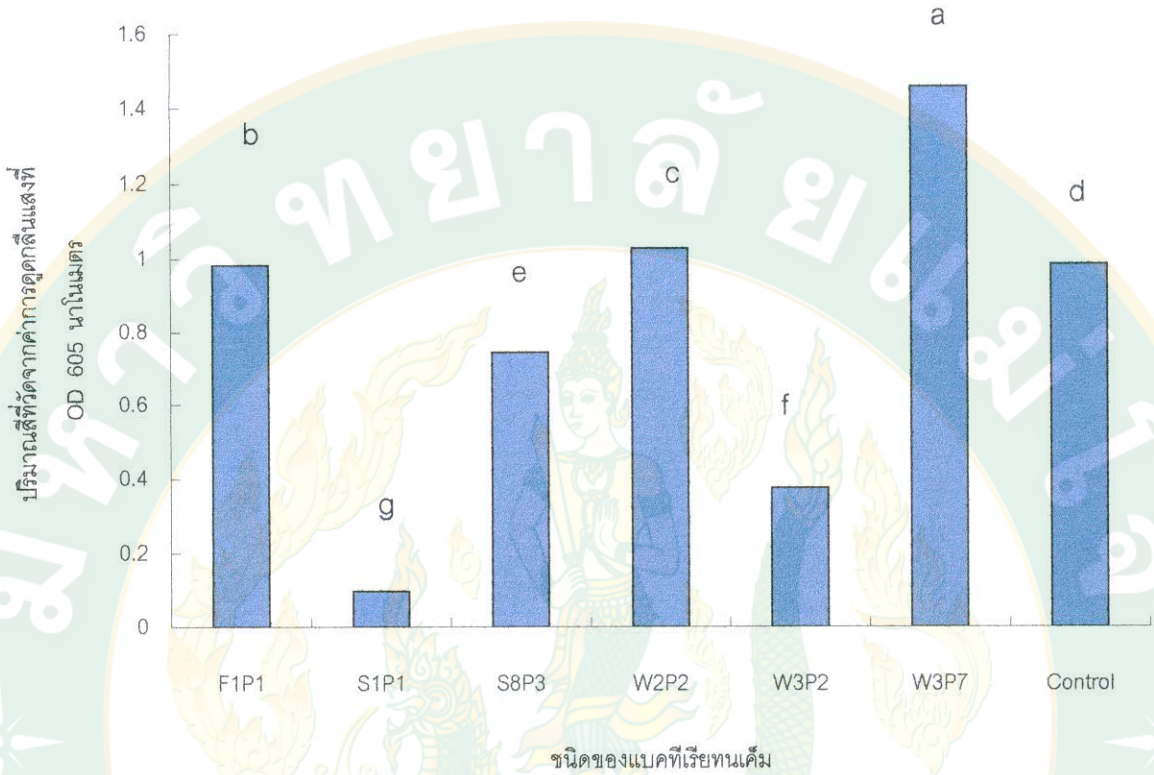
ปริมาณการลดลงของสีนั้นยังขึ้นอยู่กับลักษณะของโครงสร้างของสีโดยโครงสร้างของสีแบบ Mono azo dye เมื่อนำมาทำการบำบัดโดยอาศัยการทำงานของ *P. luteola* พบว่ามีการลดลงของปริมาณสีได้รวดเร็วและมีปริมาณมากกว่าสีที่มีลักษณะโครงสร้างใหญ่ (Hu, 2001) ส่วนน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ. ลำพูน เป็นลักษณะน้ำเสียแบบน้ำเสียรวมที่มีการรวมของน้ำที่ผ่านการย้อมหลากหลายสีซึ่งมีลักษณะโครงสร้างสีทางเคมีแตกต่างกันทั้งลักษณะโมเลกุลขนาดเล็กและขนาดใหญ่ ดังนั้นปริมาณการลดลงของสีจึงอาจจะมีการคงเหลือสีที่มีลักษณะโมเลกุลขนาดใหญ่ ดังนั้นถ้าต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดควรมีการกระตุ้นให้มีการผลิตเอนไซม์ Azoreductase ออกมาในปริมาณมาก โดยจากการศึกษาพบว่าสภาวะการเขย่าในลักษณะการเติมอากาศจะทำให้มีปริมาณของออกซิเจนที่ละลายได้ในปริมาณสูงซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้เซลล์มีปฏิกิริยากระตุ้นในการสร้างเอนไซม์ Hu (2001) ดังนั้นจึงทำการจัดให้มีสภาวะการเขย่าเติมอากาศที่ความเร็วรอบ 155 rpm แต่เอนไซม์นี้จะทำงานได้ดีในสภาวะไร้อากาศดังนั้นถ้าจะมีการใช้ *P. luteola* นั้นในระบบบำบัดจริงควรจะทำระบบบำบัดแบบ Sequencing batch reactor (SBR) โดยกระบวนการตะกอนเร่ง ซึ่งจะเป็นการประยุกต์และให้ประสิทธิภาพในการทำงานของระบบบำบัด



ภาพ 15 การสแกนหาช่วงความยาวคลื่นแสงตั้งแต่ช่วงความยาวคลื่นแสง 530 ถึง 880 นาโนเมตร โดย Spectrophotometer เพื่อหาช่วงความยาวคลื่นแสงที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่มากที่สุด สำหรับใช้ในการวัดปริมาณสี



ภาพ 16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสีในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติกของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็น เวลา 21 วัน



ภาพ 17 ปริมาณสีในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าของแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลท ที่เลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 21 วัน

ตาราง 10 ปริมาณความเข้มข้นของสีในน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าบาติก จ.ลำพูนโดยเลี้ยงแบคทีเรีย-ทนเค็มทั้ง 6 ไอโซเลทในระยะ เวลา 21 วัน โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 605 นาโนเมตร

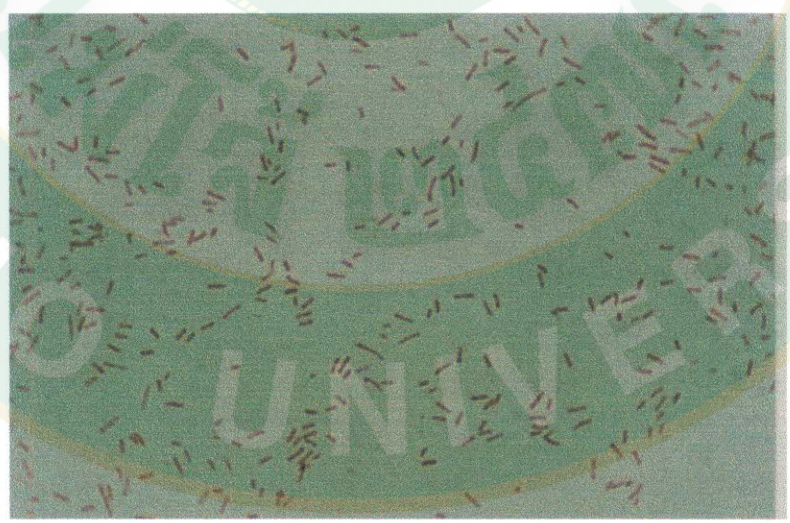
ชนิดของแบคทีเรียทนเค็ม	ปริมาณความเข้มข้นของสี
F_1P_1	0.984b
S_1P_1	0.099g
S_8P_3	0.743e
W_2P_2	1.027c
W_3P_2	0.375f
W_3P_7	1.455a
Control	0.984d
ความแตกต่างทางสถิติ	*

1/ ค่าเฉลี่ยในช่องเดียวกันมีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

5. การจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดและลดลงของปริมาณสีที่ดีที่สุด

ผลของการศึกษาลักษณะทางชีวเคมีและทางสัญฐานวิทยาของแบคทีเรียทนเค็มไอโซเลท S_1P_1 ที่มีลักษณะการเกิดวงใสของแบคทีเรียทนเค็มบนผิวหน้าอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye ทำให้มีความสามารถในการลดลงของปริมาณของสีโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่องมือ Spectrophotometer ในการบำบัดมากที่สุดรวมถึงยังให้ประสิทธิภาพการบำบัดในการลดลงของปริมาณ FCOD มากที่สุดในระยะเวลาการทดสอบการบำบัดเป็นระยะเวลา 21 วัน นำมาทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีบางประการใช้หลักการ Bergey' s manual of determinative , 9th edition ใช้ชุดการทดสอบ api © 20 E ได้ผลการทดสอบดังตาราง 11 และการศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยาพบว่าเป็นแบคทีเรียที่มีโคโลนีสีเหลืองลักษณะของโคโลนีกลมมีลักษณะสูงโค้ง คล้ายกระจกนูน (Convex) ผิวหน้าเรียบเป็นมัน ขอบของโคโลนีเรียบ (Entire) แสดงในภาพ 18 เมื่อศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขนาย 1,000 เท่า พบว่ามีลักษณะเป็นท่อนมีขนาดเท่ากันตลอดท่อน ติดสีแกรมลบ สภาวะที่ S_1P_1 สามารถเจริญได้คือช่วงอุณหภูมิระหว่าง 18 - 42 องศาเซลเซียสแต่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ ที่ต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส เป็นแบคทีเรียที่สามารถเคลื่อนที่ได้เมื่อทำการทดสอบโดย Gelatin มีลักษณะการเจริญในสภาวะที่มีอากาศ (Arerobic bacteria) ซึ่งลักษณะต่าง ๆ ที่ได้ทำการศึกษาทั้งทางสัญฐานวิทยาและปฏิกิริยาทางชีวเคมีสรุปได้ว่าเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ *Chryseomonas luteola* ลักษณะของ *Chryseomonas luteola* แสดงในภาพ 19

ภาพ 18 ลักษณะโคโลนีของ *Chryseomonas luteola* บนอาหารแข็ง (HA) ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง



ภาพ 19 ลักษณะแบคทีเรียทนเค็มรหัส S_1P_1 (*Chryseomonas luteola*) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบกำลังขยาย 1,000 เท่า

ภาพ 20 ชุดทดลองสำหรับการทดสอบลักษณะทางชีวเคมี api © 20 E

ตาราง 11 การทดสอบทางชีวเคมี ของแบคทีเรียทนเค็มรหัส S_1P_1

ปฏิกิริยาที่ทดสอบ	ผลการเกิดปฏิกิริยาของแบคทีเรียทนเค็มที่นำมาทดสอบ
	S_1P_1
Nitrophenyl - βd - galactopyranoside	+
Amygdalin	-
arginine	+
L - lysine	-
L - ornithine	-
L - tryptophane	-
Trisodium citrate	-
Sodium thiosulfate	-
Urea	-
Sodium pyruvate	-
Gelatin (boving origin)	-
D - glucose	+
D - mannitol	-
Inositol	+
D - sorbitol	-
L - rhamnose	-
D - surcose	-
D - melibiose	-
L - arabinose	-
Oxidase	-
Potassium nitrate	-
Motility	+
MacConkey medium	+
OF - F	-
OF - O	-

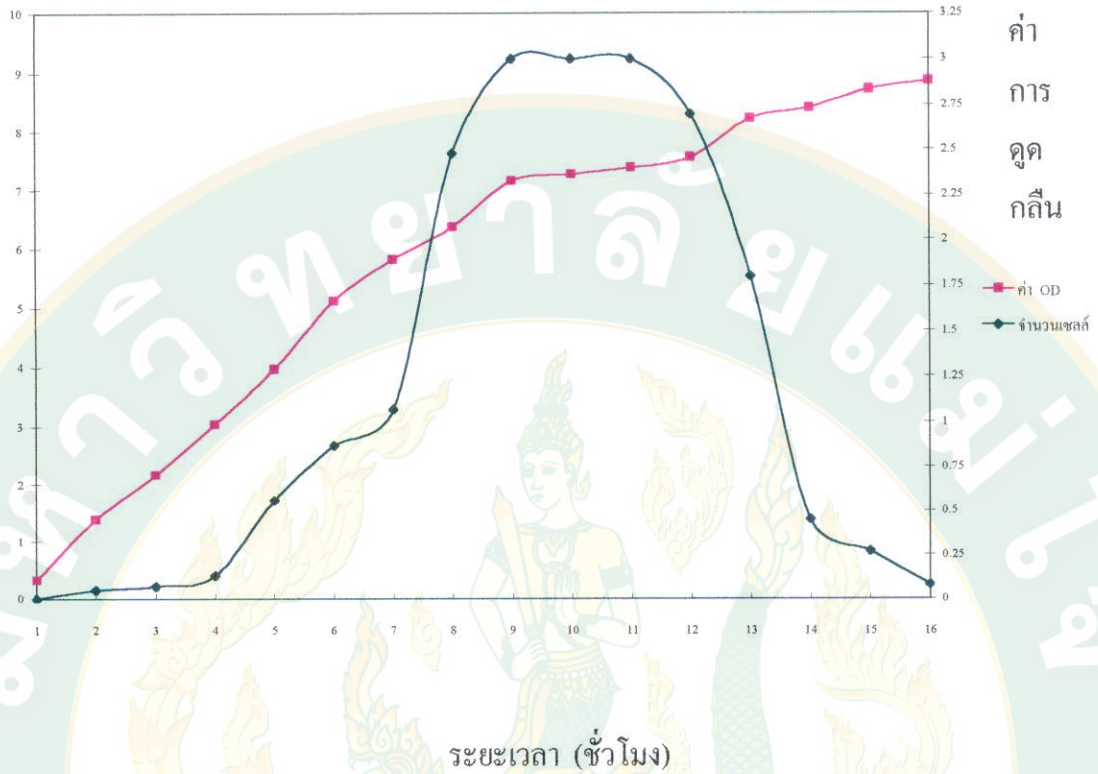
หมายเหตุ + เกิดปฏิกิริยา - ไม่เกิดปฏิกิริยา

6. การศึกษาช่วงการเจริญของ แบคทีเรียทนเค็มไอโซเลท S_1P_1 (*Chryseomonas luteola*)

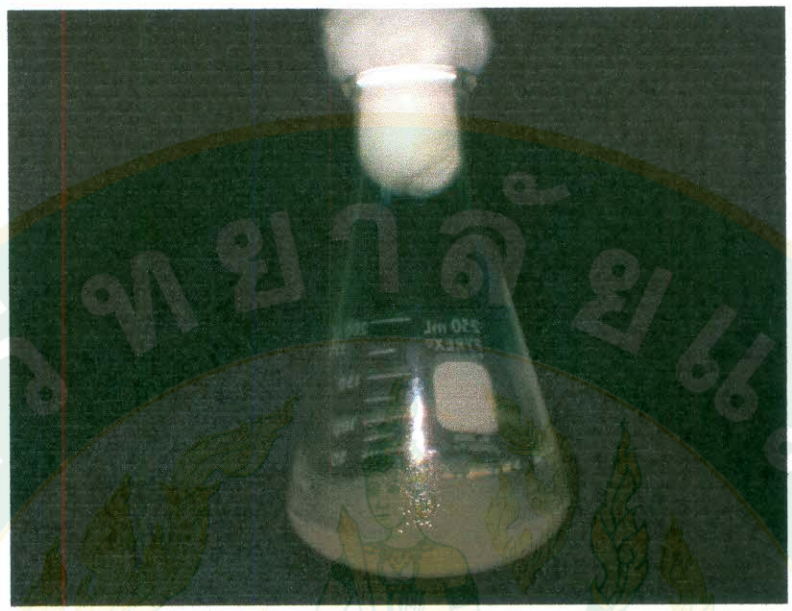
การศึกษาช่วงการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มไอโซเลท S_1P_1 (*Chryseomonas luteola*) ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 55 ชั่วโมง ที่บ่มภายใต้สภาวะการเขย่าที่ความเร็วรอบ 155 rpm ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสและทำการวัดการเจริญ ใช้ค่าการดูดกลืนแสงโดย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 660 นาโนเมตร เก็บมาวัดทุก ๆ 3 ชั่วโมง พบว่าใน ชั่วโมงที่ 0 - 9 เป็นช่วง Lag phase เป็นช่วงที่เซลล์มีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่โดยสังเกตจากค่าการดูดกลืนแสงที่มีการเพิ่มอย่างช้า ๆ ที่ชั่วโมงที่ 0 มีค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น 0.321 จนถึงชั่วโมงที่ 9 สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 3.04 ตลอดช่วงระยะเวลาชั่วโมงที่ 0 - 9 S_1P_1 ได้ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมและมีค่าปริมาณของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตที่ทำการ Spread plate technique ที่ชั่วโมงที่ 9 เท่ากับ 0.13 x 10^8 CFU/ml. ช่วงชั่วโมงที่ 12 - 21 เป็นช่วงระยะที่เซลล์มีการเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็ว สังเกตจากค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ชั่วโมง 12 วัดค่าได้ 3.97 มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต เท่ากับ 0.56 x 10^8 CFU/ml. เมื่อเวลาผ่านเข้าไปจนถึงชั่วโมงที่ 21 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ คือ 6.37 มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเท่ากับ 2.48 x 10^8 CFU/ml. เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง ชั่วโมงที่ 12 และ 21 มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งถือว่าเป็นช่วงการเจริญในช่วง Log phase ช่วงชั่วโมงที่ 24 - 30 วัดค่าการดูดกลืนแสงได้ในช่วง 7.16 - 7.39 เมื่อทำการหาจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต พบว่ามีจำนวนเท่ากับ 3.00 x 10^8 CFU/ml. พบว่าช่วงที่อัตราการเจริญที่คงที่มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต และการตายของเซลล์เท่ากันเป็นช่วงที่เรียกว่า Stationary phase เมื่อเวลาผ่านไปในชั่วโมงที่ 33 - 52 พบว่า S_1P_1 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตลดลงจาก 3.00 x 10^8 CFU/ml. มาอยู่ที่ 2.70 x 10^8 CFU/ml. และมีการลดลงเหลือเพียง 0.08 x 10^8 CFU/ml. ในชั่วโมงที่ 52 แต่ในทางตรงกันข้าม ค่าการดูดกลืนแสงมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากมีการสะสมของเซลล์ที่ตาย จึงสามารถกล่าวได้ว่า S_1P_1 มีช่วงของ Death phase ตั้งแต่ เริ่มเข้าชั่วโมงที่ 33

จากการศึกษาของ Hu (2001) พบว่าการเจริญของ *Chryseomonas luteola* จะมีช่วงของ Stationary phase เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง

โดยช่วงการเจริญของ แบคทีเรียทนเค็มไอโซเลท S_1P_1 (*Chryseomonas luteola*) แสดงในภาพ 20



ภาพ 21 ช่วงระยะเวลาการเจริญของแบคทีเรียทนเค็มแบคทีเรียไอโซเลท S_1P_1 (*Chryseomonas luteola*)



ภาพ 22 กล้าเชื้อแบคทีเรียทนเค็มที่นำมาทดสอบการบำบัดน้ำเสียจากโรงงาน - ย้อมผ้าบาติก จ. ลำพูน

ภาพ 23 การทดสอบความสามารถการบำบัดน้ำเสียของแบคทีเรียทนเค็มในน้ำเสียโรงงานย้อมผ้าบาติก จ. ลำพูน

ภาพ 24 น้ำเสียของบ่อกักเก็บจากโรงงานย้อมผ้าบาติกที่มีการทิ้งน้ำเสียรวม จ. ลำพูน

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

แบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้จากน้ำ ดิน และอาหารที่มีกรรมวิธีการใช้เกลือที่ความเข้มข้นสูงเป็นองค์ประกอบในกระบวนการผลิต จากแหล่งต่าง ๆ โดยเลี้ยงในอาหารสำหรับการคัดแยกแบคทีเรียทนเค็ม (Halophilic agar) โดยพบว่าจากความหลากหลายของแหล่งตัวอย่างในการคัดแยกทำให้ได้แบคทีเรียทนเค็มที่มีความหลากหลาย มีทั้งหมด 34 ไอโซเลท

เมื่อนำเชื้อที่แยกทั้งหมดไปทดสอบความสามารถในการทนเค็มโดยเลี้ยงในอาหารเหลว (Halophilic broth) ที่ประกอบด้วย เกลือความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เป็นเวลา 7วัน แล้วตรวจวัดการเจริญเติบโตโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรียทนเค็มที่ทำการทดสอบที่สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ แบคทีเรียทนเค็มที่สามารถเจริญได้ดีในช่วงความเข้มข้นเกลือเล็กน้อย มีจำนวน 11 ไอโซเลท แบคทีเรียทนเค็มที่สามารถเจริญได้ดีในช่วงความเข้มข้นปานกลาง มีจำนวน 15 ไอโซเลท และแบคทีเรียทนเค็มที่สามารถเจริญได้ดีในช่วงความเข้มข้นเกลือสูงจำนวน 8 ไอโซเลท

ได้นำแบคทีเรียทนเค็มทั้งหมดมาทดสอบการย่อยสีโดยสังเกตลักษณะวงใสบนอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye โดยเทคนิค Spot technique และนำไปบ่มในสภาวะอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมงพบว่าจากแบคทีเรียทนเค็มทั้งหมด 34 ไอโซเลท มี 3 ไอโซเลทที่ให้ลักษณะการเกิดวงใส บนอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียทนเค็มรหัส F_1P_1, S_1P_1 และ W_3P_2

จากนั้นคัดแยกแบคทีเรียทนเค็ม 6 ไอโซเลทโดย แบ่งเป็นสองกลุ่ม คือ แบคทีเรียทนเค็มที่เกิดลักษณะวงใส บนอาหาร Halophilic agar ที่มีการเติมสี Basic dye (แบคทีเรียทนเค็มรหัส F_1P_1, S_1P_1 และ W_3P_2) และอีกกลุ่มแบคทีเรียทนเค็มที่เจริญได้ดี ในช่วงของความเข้มข้นเกลือสูง (แบคทีเรียทนเค็มรหัส S_8P_3, W_2P_2 และ W_3P_7) นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของโรงงานย้อมผ้า จังหวัดลำพูน โดยทำการตรวจวัดค่า FCOD, TS, SS และปริมาณสีที่ลดลงโดยใช้ค่าการดูดกลืนของแสงที่ความยาวคลื่นแสง 605 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรียทนเค็ม S_1P_1

สามารถกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียโรงงานย้อมผ้า และสามารถลดปริมาณสีในน้ำเสียได้ดีที่สุด คือ 83 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำมาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ ปัจจัย คือ ชนิดของแบคทีเรียทนเค็มที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียโรงงานย้อมผ้า จ.ลำพูน ผลแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียทนเค็มแต่ละไอโซเลทมีความแตกต่างกันทางสถิติโดยใช้วิธีการวิเคราะห์แบบ CRD

จากผลการศึกษาครั้งนี้จึงนำแบคทีเรีย รหัส S_1P_1 มาทำการศึกษาต่อทางด้านสัญฐานวิทยา พบว่าแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน โคโลนีสีเหลือง และเมื่อทำการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี โดยการใช้หลักการ Bergy ' s manual of determination , 9 th edition (Holt, et al., 1995) โดยใช้ชุดการทดลอง api © 20 E (BioMeriux, Inc) พบว่า S_1P_1 คือ แบคทีเรียจัดอยู่ในสายพันธุ์ *Chryseomonas luteola* และมีช่วงการเจริญของช่วง Stationary phase ที่ชั่วโมงที่ 24 - 30

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการวิจัยในครั้งนี้ เป็นการศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียทนเค็มเพื่อการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าที่มีการปนเปื้อนทั้งโซเดียมคลอไรด์ และสีที่ใช้ในการย้อม ดังนั้นจึงมีความสมควรอย่างยิ่ง ที่จะมีการดำเนินการศึกษาต่อไปดังนี้

1. ศึกษาการใช้แบคทีเรียแบบผสมหลาย ๆ ชนิด (Mixed bacterial culture) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดเนื่องจากแบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติการบำบัดแตกต่างกัน คือ แบคทีเรียชนิดแรกอาจจะสามารถบำบัดการปนเปื้อนของโซเดียมคลอไรด์แต่ไม่มีคุณสมบัติการบำบัดสี แต่ อีกชนิดหนึ่งอาจจะมีคุณสมบัติในการบำบัดสีที่ใช้ในการย้อม

2. ศึกษาความเป็นไปได้ของการนำแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้ใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียเสียที่อาศัยกระบวนการทางชีววิทยา และการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการดำเนินระบบเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด

3. ศึกษาการใช้แบคทีเรียทนเค็มทั้งแบบที่ใช้ออกซิเจนและแบบไม่ใช้ออกซิเจนร่วมกันเพื่อใช้ในการบำบัดแบบต่อเนื่องแบบ Sequencing batch reach (SBR) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัด

4. ศึกษาวิธีการเก็บรักษาแบคทีเรียทนเค็มที่คัดแยกได้เพื่อให้เกิดความสะดวกในการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของโซเดียมคลอไรด์และสีที่ใช้ในการย้อม

5. ศึกษาอัตราการใช้แบคทีเรียที่คัดแยกได้ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งให้เหมาะสมกับปริมาณน้ำเสียที่ต้องการบำบัดเพื่อให้กลุ่มเป้าหมาย(ชาวบ้านที่ประกอบอุตสาหกรรมย้อมผ้า จ.ลำพูน) สามารถนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

คณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2538. **การควบคุมดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย.** กรุงเทพฯ: ศูนย์หนังสือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 443 น.

จันทิดา รอดมา และ วิราภรณ์ อมรแก้ว. 2544. **การศึกษาลักษณะของน้ำเสียจากโรงงานย้อมผ้าภายในจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน.** เชียงใหม่: รายงานวิจัยภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ชฎารัตน์ อนันต์. 2540. **ผลของความเค็มที่มีต่อการกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของกระบวนการแอกทิเวเต็ดสดัดจ์แบบฟอร์ดอกซ์ 3 ขั้นตอน.** กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ดีพร้อม ไชยวงศ์เกียรติ. 2514. **จุลชีววิทยาทั่วไป.** พระนคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 535 น.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2541. **จุลวิทยาทั่วไป.** กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 733 น.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2525. **จุลชีววิทยาทั่วไป.** กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์. 358 น.

ปรีชา กสิกรรมไพบูลย์. 2543. **การศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของการกำจัดสีย้อมรีแอกตีฟออกจากน้ำเสียย้อมผ้าบาติกโดยเรเอเจนต์ของเฟนตอน.** เชียงใหม่: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 138น.

มัทนา แสงจินดาวงษ์. 2538. **จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ประมง.** กรุงเทพฯ: รั้วเขียว. 238 น.

ลัดดาวัลย์ รัศมิทัต. 2536. **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** ชลบุรี: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

วิโรจน์ ประเทืองสวัสดิ์. 2541. **ประชากรและประสิทธิภาพของ *Acinetobacter* sp. ในการกำจัดฟอสเฟตในระบบบำบัดน้ำเสียชนิดทนเค็ม.** กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 126น.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. **จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร.** กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮาส์. 258น.

Admane, M., Z. Youssef, Z. D. Fatinma, T. Mohamed, L. Kangmin and B. Mohame. 2003. Purification and Partial Characteriation of Azoreductase from *Enterobacter agglomerans*. **Archives of Biochemistry and Biophysics.** 413 : 139-146.

Banet, I. M., P. Nigam, D. Singh and R. Machant. 1996. Microbial Decolorization of Textile Dyes - Containing Effluents a Review. **Bioresource Technology.** 58: 217-227.

Belkin, S., A. Brenner and A. Abeliovich. 1993. Biological Treatment of a High Salinity Chemical Industrial Wastwater. **Water Science and Technology.** 27: 105-112.

Blumel, S., M. Contzen, M. Lutz, A. Stolz and H. J. Knackmuss. 1998. Isolation of Bacterial stain with the Ability to Utilize the Sulfonated Azo Compound 4 - carboxy - 4' - sulfobenzene as the Sole Source of Carbon and Energy. **Applied and Enviromental Microbiology.** 24: 433-437.

Bragger, J. L., A. W. Lloyd, S. H. Soozandehdfar, S. F. Bloomfield, C. Marriott and G. P. Martin. 1997. Investigation into the Azo Reducing Activity of Common Colonie microorganism. **International Journal of Phamaceutic.** 157: 61-71.

Brass, R., I. A. Ferra, H. M. Pinherro and I. C. Goncalve. 2001. Batch Test for Assessing Decolorization of Azo dye by Methanogenic and Mixed Culture. **Journal of Biotechnology.** 1: 55-62.

Carliell, C. M., S. J. Barclay, N. Naidoo, C. Buckley, D. Mulholland and E. Senior. 1994. Anaerobic Decolorization of Reactive Dye in Conventional Sewage Treatment Process. **Water Service Areas.** 20: 1-4.

Chang, J. S., C. Chou, Y. C. Lin, P. J. Lin, J. Y. Ho and T. L. Hu. 2001. Kinetic Characterisitcs of Bacterial Azo - Dye Decolorization by *Pseudomonas luteola*. **Water Research.** 35: 2841-2850.

Chao, W. L. and S. L. Lee. 1994. Decolorization of Azo Dye by Three White Rot Fungi : Influence of Carbon Source. **World Journal of Microbiology & Biotechnology.** 10: 556-559.

Chen, K. C., J. Y. Wu, D. J. Liou and Sz. J. Hwang. 2003. Decolorization of the Textile Dyes by Newly Isolated Bacterial Strain. **Journal of Biotechnology.** 101: 57-68.

Chistina, M., T. Maria, A. Pessoa and C. F. Maria. 2003. Bioanformation of Industial Reactive Azo Dye by *Geotrichum* sp. CCMI 1091. **Enzyme and Microbial Technology.** 32: 145-151.

Coughlin, M. F., B. K. Kinkle and P. I. Bishop. 2002. Degradation of Acid Orange 7 in an Aerobic Biofilm. **Chemospher.** 46: 11-19.

Diner, A. R., and K. Kargi. 2001. Salt Inhibition Kinetices in Nitification of Synthetic Saline Wastewater. **Water Science and Technology.** 28 : 661-665.

Dulkadiroglu, H., S. Dogruel, D. Okulman, I. Kabdasli, S. Sozen and D. Orhon, D.. 2002. Effect of Chemic Treatment on Soluble Residual COD in Textile Wastewater. **Water Science and Technology.** 45(12): 251-259.

Kargi, F., and A. R. Dincer. 1998. Saline Wastewater Treatment by Halophilic Supplemented Activated Sludge Culture in an Aerated Rotating Biodisc Contactor. **Enzyme and Microbial Technology.** 22: 427-433.

Glass, C., and J. Silvestion. 1998. Denitrification Kinetics of High Nitrate Concentration Water : pH Effect on Inhibition and Nitrite Accumulation. **Water Research.** 32(3): 831-839.

Holt, J. G., N. R. Krieg, J. T. Staley and S. T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determination Bacteriology 9th ed. Baltimor: **Williams & Wilkins.**

Hong, C. R., 1992. Biotreatment of Contaminated Groundwater with High Organics and Salinity Contents. Chelsea: **In proc. 46 th Annual Purdeue Industrial Waste Co Lewis.** 580-589.

Hu, T. L. 1998. Degradation of Azo Dye RP2B by *Pseudomonas luteola*. **Water Science and Technology.** 38: 299-306.

Hu, T. L. 2001. Kinetic of Azoreductase and Assessment of Toxicity of Metabolic Products from Azo Dyes by *Pseudomonas luteola*. **Water Science and Technology.** 43: 261-269.

Intrasungkha, N., J. Keller and L. L. Blackall. 1999. Biological Nutrient Removal Efficiency in Treatment of Saline Wastewater. **Water Science and Technology.** 39: 183-190.

Isik, M., and D. T. Sponza. 2003. Effect of Oxygen on Decolorization of Azo Dye by *Escherichia coli* and *Pseudomonas* sp. and Fate of Aromatic Amine. **Process Biochemistry.** 38: 1183-1192.

Jian, Y., X. Wang and P. L. Yue. 2001. Optimal Decolorization and Kinetic Modeling of Synthetic Dyes by *Pseudomonas* Strains. **Water Research.** 35: 3579-3586.

Kargi, F., and A. Uygur. 1996. Biological Treatment of Saline Wastewater in an Aerated Parcolator Unit Utilizing Halophilic Bacteria. **Environmental Science and Technology.** 17 : 325-330.

_____. 1997. Effect of Liquid Phase Aeration on Performance of Rotating Biodisc Contactor Treating Saline Wastewater. **Environmental Science and Technology.** 18: 623-630.

Kargi, F., and A. R. Dincer. 1996. Effect of Salt Concentration on Biological Treatment of Saline Wastewater by Fed - Batch Operation. **Enzyme and Microbial Technology.** 19: 529-537.

_____. Wastewater Treatment by Halophilic Supplemented Activated Sludge Culture in an Aerated Rotating Biodisc Contactor. **Enzyme and Microbial Technology.** 22: 427-433.

Keck, A., J. Klein, M. Kudlick, A. Stolz, H –J. Knackmuss and R. Mattes. 1997. Reduction of Azo Dyes by Redox Mediators Originating in the Naphthalenesulfonic Acid Degradation Pathway of *Sphingomonas* sp. Strain BN6. **Applied and Environmental Microbiology.** 63(9): 3684-3690.

Kincannon, D. K., and A. F. Gaudy. 1968. Response of Biological Waste Treatment Systems to Changes in Salt Concentration. **Biotechnology and Bioengineering.** 10: 483-496.

Kincannon, D. K., and A. F. Gaudy. 1996. Some Effects of Hight Salt Concentration on Activated Sluge. **Journal of Water Pollution Control.** 38: 1148-1158.

Kubo, M., J. Hiroe, M. Murokami, H. Fukami and T. Tachiki. 2001. Treatment of Hypersaline - Cotaining Wastewater with Salt - Tolerant Microorganisms. **Journal of Bioscience and Bioengineering.** 91: 222-224.

Kou, C. C., Y. W. Jane, C. H. Chang, M. L. Yu and H. SzChwun. 2003. Decolorization of Azo Dye Using PVA - Immobilized Microorganisms. **Journal of Biotechnology.** 101: 241-252.

_____. 2003. Decolorization of the Textile Dyes by nearly Isolated Bacteria Strains. **Journal of Biotechnology.** 101: 57-68.

Lawton, G. W., and C. V. Eggert. 1957. Effect of high Sodium Chloride Concentration on Trickling Filter Slimes. **Journal of Water Pollution Control.** 29: 1228-1236.

Lorenco, N. D., J. M. Novaris and H. M. Pinhajro. 2001. Effect Some Operation Parameter on Textile Dye Biodegradation in a Sequential Batch Reactor. **Journal of Biotechnology.** 59: 163-174.

Ludzank, F. J., and D. K. Noran. 1965. Tolerance of High Salinities by Conventional Wastewater Treatment Processes. **Journal of Water Pollution Control.** 37 : 1404-1416.

Meyer, U. 1981. Biodegradation of Synthetic Organic Colorants. **In Leisinger T, R. Hutter, A. M. Cook and J. Nuesch Editors**. 1981. Microbial Degradation of Xenobiotics and Recakitrant Compound : FEMS Symposium no.12. London, VK : Academic Press for the Swiss Academy of Science and the Swiss Society of Microbiology on Behalf of the Federation of European Microbiological Societies.

Micheals, G. B., and D. L. Lewis. 1986. Microbial Transformation Rates of Azo and Triphynymetene Dye. **Enviromenttal Toxicology and Chemistry.** 5: 1-6.

Motoki, K., H. Jyunichi, M. Makoto and F. Hiroshi. 2000. Treatment of Hypersaline Containing Wastewater Salt - Tolerant Microoganisms. Japan. **Department of Bioscience & Technology, Ritsumeikan University.**

Nigam, P., G. McMullan, I. M. Banet and R. Marchant. 1996. Decolorization of Effluent from the Textile industry by a Microbial Consortium. **Biotechnology Letters.** 18 (1): 117-120.

Neji, G., K. Lamia, S. Nabil and N. Moncef. 2002. Biological Treatment of Saline Wastewaters from Marine - Products Processing Factories by a Fixed - bed Reactor. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology.** 77: 865 - 870.

Nobuki, H., K. Kazuko and K. Ushio. 2000. Isolation and Characterization of *Aeromonas* sp. B - 5 Capable of Decolorization Various Dyes. **Journal of Bioscience and Bioengineering.** 90: 570-573.

Norris, J. R. 1969 . **Methods in Microbiology.** London: Academic Press.

Ogawa, T., C. Yatome, E. Idaga and H. Kamiya. 1986. Biodegradability of Azo Dyes and Triphenylmetane Dyes by *Pseudomonas* Cepacia 13 NA. **Journal of Society of Dyers and Cplourist.** 102: 12-14.

Oxspring, D. A., G. McMullam, W. F. Smyth and R. Marchant. 1996. Decolourization and Metabolism of the Reactive Textile Dye , Remaszol Black B by an Immobilized Microbial Consortium. **Biotechnology Letters.** 18: 27-30.

Pearce, C. I., J. R. Lloyd and J. G. Guthrie. 2003. The Removal of Colour from Textile Wastewater Using whole Bacterial Cells. **Dye and Pigment.** 58: 179-196.

Rajaguru, P., K. Kalaiselvi, M. Palanival and V. Subburan. 2000. Biodegradation of Azo Dyes in Sequential Anaerobic - aerobic System. **Applied Microbiology and Biotechnology.** 2: 68-73.

Ritsu, H., H. Takada, M. Idaga, E. Tomoyeda and T. Ogawa. 1997. Degradation of p - amonoazobenzene by *Bacillus subtilis*. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology.** 21: 17-24.

Robinson, T., G. McMullan, R. Marchant and P. Nigam. 2001. Remediation of Dyes in Textile Effluent. A Critical Review on Current Treatment Technologies with a Proposed Alternative. **Bioresource Technology.** 77: 247-255.

Atlas, Ronald M. 1993. **Handbook of Microbiological Media.** Boca Raton: CRC Press.

Sani, R. K., and U. C. Banegjee. 1999. Decolourization of Triphenylmetane Dyes and Dye - Stuff Effluent by *Kurthia* sp.. **Enzyme and Microbial Technology.** 24: 433-437.

Selvan, K., K. Swaminathan and S. C. Keon. 2003. Decolorization of Azo Dye and a Dye Industry Effluent by a Write Rot Fungus Thelephora sp.. **Bioresource Technology.** 88: 115-119.

Stewart, M. J., H. F. Ludwig and H. H. Kearns. 1962. Effects of Varying Salinity on the Extended Areration Process. **Journal of Water Pollution Control.** 34: 1161-1177.

Stover, E. L., and A. W. Obayashi. 1991. Hight TDS Wastewater Treatability Study Design Consideration. Chelsea. **In 45 th Purdue Industries Waste Conference. Proc.**

Tanskul, S., and W. Trirattananukul. 1998. Moderately Halophilic, and Thermophilic Bacteria. **Songklanakarin Journal of Science Technology.** 20: 438-444.

Ventosa, A., and J. J. Niteo. 1995. Biotechnological Applications and Potentialities of Halophilic Microorganisms. **World Journal of Microbiology & Biotechnology.** 11: 85-94.

Woodlard, C. R. 1993. Biological Treatment of Hypersaline Wastewater. **Dissertation. University of Notre Dame.** 269p.

Wood, C. R., and R. L. Irrine. 1994. Biological Treatment of Hypersaline Wastewater by a Biofilm of Halophilic Bacteria. **Water Environment and Technology.** 66 : 230-235.

_____. 1995. Treatment of Hypersaline wastewater in the Sequencing Batch Reactor. **Water Research.** 29(4): 1159-1168.

Wuhrmann, K., K. Machsner and T. Kappereler. 1980. Investigation on Rate Determining Factor in the Microbial Reducetion of Azo Dye. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology.** 9: 25-38.

Yatome, C., T. Ogawa, D. Koda and E. Idaya. 1981. Biodegradability of Azo Dye and Triphenylmetene Dyes by *Pseudomonas pseudomallei* 13 NA.. **Journal of Society of Dyes and Colourist.** 16: 6-9.

Yesilada, O. 1995. Short Communication : Decolorization of Crystal Violet by Fungi. **World Journal of Microbiology & Biotechnology.** 11: 601-602.

Zissi, U., and G. Lyberatos. 1996. Azo dye Biodegradation Under Anoic Conditions. **Water Science and Technology.** 34: 495-500.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

1. วิธีการวิเคราะห์ COD (Chemical oxygen demand)

ล้างหลอดย่อยสลายและฝาจุกด้วยกรดซัลฟูริก 20 เปอร์เซ็นต์ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสารอินทรีย์เลือกใช้ปริมาตรของตัวอย่างน้ำและสารเคมีที่เหมาะสมนำตัวอย่างน้ำมาใส่ในหลอดย่อยสลาย แล้วเติมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตค่อย ๆ เทกรดซัลฟูริกรีเอเจนต์ให้ไหลลงก้นหลอดเพื่อให้ชั้นของกรดอยู่ภายใต้ ตัวอย่างน้ำและสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ปิดฝาหลอดแก้วให้แน่นแล้วคว่ำหลอดไปมาหลาย ๆ ครั้งเพื่อให้สารละลายผสมกันอย่างทั่วถึง นำหลอดทดสอบนี้ไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง โดยนำมาวางในที่วางหลอดทดลอง เทสารผสมลงในขวดรูปชมพู่ แล้วเติมเฟอโรอินอินดิเคเตอร์ 1 – 2 หยด ใส่ Magnetic bar นำไปไตเตรท กับ 0.1 โมลาร์เอฟเอเอสบนเครื่องกวนแบบใช้แม่เหล็ก จนถึงจุดยุติเมื่อสารละลายเปลี่ยนสีจากฟ้าอมเขียวเป็นน้ำตาลแดงด้วยวิธีการเดียวกันให้รีฟลักซ์น้ำกลั่น (Blank) ในปริมาตรเท่ากับปริมาตรน้ำตัวอย่าง รวมทั้งใช้รีเอเจนท์เดียวกัน และไตเตรทด้วย 1.0 โมลาร์เอฟเอเอส เช่นกัน

การคำนวณ

COD (มิลลิกรัม O_2 ต่อ ลิตร) = $[(A-B) \times M \times 8{,}000]$ / ปริมาตรน้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

โดย A = ปริมาตรของ 1.0 โมลาร์ เอฟเอเอส ที่ใช้ในการไตเตรท blank (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของ 1.0 โมลาร์ เอฟเอเอส ที่ใช้ในการไตเตรท น้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

M = โมลาริตีของเอฟเอเอส

ตาราง 12 ปริมาณน้ำตัวอย่างและรีเอเจนท์ที่เหมาะสมสำหรับหลอดย่อยสลายขนาดต่าง ๆ

ขนาดหลอดย่อยสลาย	ปริมาตรน้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)	โพแทสเซียมไดโครเมต (มิลลิลิตร)	กรดซัลฟูริกรีเอเจนท์ (มิลลิลิตร)	ปริมาตรทั้งหมด (มิลลิลิตร)
หลอดย่อยสลาย				
16 x 100 มม.	2.5	1.5	3.5	7.5
20 x 150 มม.	5.0	3.0	7.0	15.0
25 x 150 มม.	10	6.0	14.0	30.0
แอมพูลมาตรฐาน				
10 มิลลิลิตร	2.5	1.5	3.5	7.5

ภาคผนวก ข

วิธีการตรวจสอบคุณสมบัติ รูปร่างลักษณะของแบคทีเรีย

1. วิธีการตรวจสอบคุณสมบัติและรูปร่างลักษณะของแบคทีเรีย

1.1 การศึกษาการเจริญและสัณฐานวิทยา

สังเกตลักษณะขอบ รูปร่าง และลักษณะการสร้างสี (Pigment) ของโคโลนี เชื้อที่เจริญบนอาหารคัดแยกแบคทีเรียทนเค็ม (HA) และลักษณะการเจริญในอาหารเหลว (HB)

1.2 การย้อมแกรม

ใช้แบคทีเรียที่เจริญบนอาหารคัดแยกแบคทีเรียทนเค็ม (HA) อายุ 24 ชั่วโมง นำไปย้อมแกรมแล้วสังเกตการเรียงตัวของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ภาคผนวก ค

สีย้อม อาหาร และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. สีย้อมแกรม

1.1 Acetone alcohol (Decolorizer for gram staining)

95% Ethanol	250 มิลลิลิตร
Acetone	250 มิลลิลิตร

1.2 Crystal violet stain

Crystal violet	0.5 กรัม
น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร

1.3 Gram iodine

Iodine	1.0 กรัม
Potassium iodine	2.0 กรัม
น้ำกลั่น	300 มิลลิลิตร

1.4 Safranin O

Safranin O	2.5 กรัม
95% Ethanol	100 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	400 มิลลิลิตร

2. อาหารเลี้ยงแบคทีเรีย

2.1 อาหารคัดแยกแบคทีเรียทนเค็ม (Halophilic agar)

Yeast extract	10 กรัม
NaCl	50 กรัม
$MgSO_4 7H_2O$	25 กรัม
Casamino acid	10 กรัม
Peptone	5 กรัม
Trisodium citrate	3 กรัม
KCl	2 กรัม

Agar	20 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร
ปรับ pH 7.2	

2.2 อาหารคัดแยกแบคทีเรียทนเค็มเติมสี Basic dye

Yeast extract	10 กรัม
NaCl	50 กรัม
$MgSO_4 7H_2O$	25 กรัม
Casamino acid	10 กรัม
Peptone	5 กรัม
Trisodium citrate	3 กรัม
KCl	2 กรัม
Agar	20 กรัม
Basic dye	0.2 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร
ปรับ pH 7.2	

2.3 อาหารเหลว (Halophilic broth)

Yeast extract	10 กรัม
NaCl	50 กรัม
$MgSO_4 7H_2O$	25 กรัม
Casamino acid	10 กรัม
Peptone	5 กรัม
Trisodium citrate	3 กรัม
KCl	2 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร
ปรับ pH 7.2	

3. สารเคมี

3.1 กรดซัลฟูริคเข้มข้น

3.2 สารละลายย่อยสลายมาตราฐานโพแทสเซียมไดโครเมต

โพแทสเซียมไดโครเมตปฐมภูมิ (primary standard)	4.1913 กรัม
กรดซัลฟูริคเข้มข้น	137 มิลลิลิตร
เมอร์คิวริคซัลเฟต	33.3 กรัม

อบโพแทสเซียมไดโครเมตปฐมภูมิในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟริกเข้มข้น แล้วเติมเมอร์คิวลิคซัลเฟตคนให้ละลายกันอย่างดีปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.3 ซัลฟูริครีเอเจนต์

ซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4)	22 กรัม
กรดซัลฟูริคเข้มข้น	4.0 กิโลกรัม

เติมซิลเวอร์ซัลเฟตในขวดของกรดซัลฟูริคเข้มข้นทิ้งไว้ให้ละลาย 2 วัน

3.4 สารละลายเฟอร์โรอินดิเคเตอร์

1,10 - ฟีแนนโทรลีนโมโนไฮเดรต ($C_{12}H_8H_2N_2O$)	1.485 กรัม
ไอร์ออนซัลเฟตเฮปต้าไฮเดรต ($FeSO_4 7H_2O$)	0.695 กรัม

ละลายน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.5 สารละลายมาตราฐานเฟอรัสแอมโนเนียมซัลเฟต (FAS)

แอมโมเนียมซัลเฟตเฮกซาไฮเดรต	39.2 กรัม
กรดซัลฟูริคเข้มข้น	20 มิลลิลิตร

ละลายแอมโมเนียมซัลเฟตเฮกซาไฮเดรตในน้ำกลั่นแล้วค่อย ๆ เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้นทิ้งไว้ให้เย็นปรับปริมาตร ให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ง
ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวสิริกัญญา อุ่นใจ
เกิดเมื่อ	15 กันยายน 2522
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2539 มัธยมศึกษาตอนปลาย การศึกษานอกโรงเรียน อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ (วิทย์-คณิต)
	พ.ศ. 2543 ปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) สถาบันราชภัฏ-เชียงราย จังหวัดเชียงราย