

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

การย่อยสลายทางชีวภาพของลิเนียร์อัลคิลเบนซินซัลโฟเนท โดยจุลินทรีย์ AOS-15

นายสรายุทธ เกตรา

31 ส.ค. 2559

365507 TH0021526


วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
มิถุนายน 2555
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

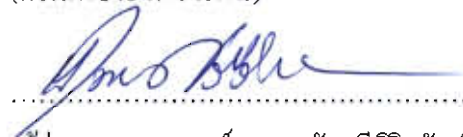
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของนายสรายุทธ เกตรา ฉบับนี้แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาวิศวกรรมเคมีของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิทวัส แจงเอียด)


คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธาน
(ดร.สมชาย ดาราดรณ์)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย ศรีวิรัตน์)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิทวัส แจงเอียด)

คณะวิศวกรรมศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาวิศวกรรมเคมีของมหาวิทยาลัยบูรพา


..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ดร.อานัติ ตีพัฒนา)

วันที่... 15 ...เดือน... มิถุนายน ...พ.ศ. 2555

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ ระดับบัณฑิตศึกษา
จากโครงการความร่วมมือในการผลิตนักวิจัยและพัฒนาด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สำนักปลัดกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ปีการศึกษา 2552

ประกาศคุณูปการ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิทวัส แจงอ้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้สอนวิชาความรู้และให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆในต้นฉบับวิทยานิพนธ์ ซึ่งผู้วิจัยมีความซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.สมชาย คารารัตน์ ที่กรุณาได้รับเป็นประธานกรรมการ ในการสอบ ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย ศรีวิริยรัตน์ ที่กรุณาได้รับเป็น กรรมการในการสอบ ตลอดจนให้ความรู้ คำแนะนำต่าง ๆ และกรุณาช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านในภาควิชาวิศวกรรมเคมี ที่กรุณาให้ความรู้ และคำแนะนำต่าง ๆ แก่ผู้วิจัยในการดำเนินการวิจัย จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาวิศวกรรมเคมีทุกท่าน ตลอดจนพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคนที่มีส่วนช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา

ขอขอบคุณบริษัท ไลอ้อน (ประเทศไทย) จำกัด เป็นอย่างสูง ที่ให้ความอนุเคราะห์ สารถแรงดึงผิว และอนุญาตให้เก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อนำมาคัดเลือดสายพันธุ์จุลินทรีย์

ขอกราบขอบพระคุณ โครงการความร่วมมือในการผลิตนักวิจัยและพัฒนาด้าน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักปลัดกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่ให้การสนับสนุน เงินทุนการศึกษา

ขอกราบขอพระคุณ คุณพ่อสุภาพ เกตรา และคุณแม่จันทรม สร้อยทอง ที่ให้การ สนับสนุนและความช่วยเหลือตลอดจนกำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่ บุพการี บुरพจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษา และประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

สราวุธ เกตรา

52910268: สาขาวิชา: วิศวกรรมเคมี; วศ.ม. (วิศวกรรมเคมี)

คำสำคัญ: การย่อยสลายทางชีวภาพ/ ลิเนียร์อัลคิลเบนซีนซัลโฟเนท/ เชลล์ครึ่ง/
เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

สรายุทธ เกตรา: การย่อยสลายทางชีวภาพของลิเนียร์อัลคิลเบนซีนซัลโฟเนท โดย
จุลินทรีย์ AOS-15 (BIODEGRADATION OF LINEAR ALKYL BENZENE SULFONATE BY
AOS-15 MICROORGANISM) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วิทวัส แฉงอ้อม Ph.D., ธงชัย
ศรีวิริยรัตน์, Ph.D., สมชาย ดารารัตน์, Ph.D. 76 หน้า. ปี พ.ศ. 2555.

สารลดแรงตึงผิวลิเนียร์อัลคิลเบนซีนซัลโฟเนท (Linear Alkylbenzene Sulfonate, LAS) เป็นสารลดแรงตึงผิวประจุลบที่ถูกใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสารซักฟอก และปล่อยลงสู่แหล่งน้ำเป็นจำนวนมาก งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพของสารลดแรงตึงผิว LAS โดยจุลินทรีย์ AOS-15 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงซึ่งถูกคัดเลือกมาจากโรงบำบัดน้ำเสียของบริษัท ไล้ออน (ประเทศไทย) จำกัด โดยเริ่มจากศึกษาความสามารถในการย่อยสลาย LAS โดยจุลินทรีย์ AOS-15 ในรูปเชลล์อิสระที่สภาวะต่าง ๆ ได้แก่ ความเข้มข้นเริ่มต้น ค่าพีเอช และปริมาณเชลล์จุลินทรีย์ จากนั้นทำการศึกษากจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลาย LAS ในระบบกะและทำนายแบบจำลองจลนพลศาสตร์ จากนั้นทำการตรึงจุลินทรีย์บนตัวรองรับแคลเซียมอัลจิเนทเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาการย่อยสลาย LAS แบบต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึงเป็นเม็ดจุลินทรีย์ ผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์ AOS-15 สามารถย่อยสลาย LAS ได้เหมาะสมที่สุดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 3 กรัมต่อลิตร โดยมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายร้อยละ 65.35 ส่วนที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7 ให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงที่สุดถึงร้อยละ 68.24 และที่ปริมาณเชลล์เท่ากับ 2.1 กรัม ให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายเหมาะสมที่สุดคิดเป็นร้อยละ 70.56 ผลการศึกษากจลนพลศาสตร์และทำนายแบบจำลอง พบว่าแบบจำลองจลนพลศาสตร์ $-r_s = \frac{0.0540s}{4.0299+s}$ สามารถอธิบายการย่อยสลาย LAS ในช่วงความเข้มข้น 1.5 ถึง 5 กรัมต่อลิตรได้ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ เท่ากับ 0.80 ในขณะที่เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงถึงร้อยละ 80 ถึงร้อยละ 96 ภายในระยะเวลาต่อเนื่อง 80 ชั่วโมง

52910268: MAJOR: CHEMICAL ENGINEERING; M.Eng. (CHEMICAL ENGINEERING)

KEYWORDS: BIODEGRADATION/ LINEAR ALKYL BENZENE SULFONATE/IMMOBILIZED CELLS/ BIOREACTOR

SARA YUT PETRA:BIODEGRADATION OF LINEAR ALKYL BENZENE SULFONATE BY AOS-15 MICROORGANISM.ADVISORY COMMITTEE: WITAWAT JANGIAM, Ph.D., TONGCHAI SRIWIRIYARAT, Ph.D., SOMCHAI DARARATANA,Ph.D. 76P.2012.

Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) is an anionic surfactant, which most widely used in synthetic detergent ingredients and released to the environment in large quantities. The microorganism AOS-15 was isolated from the wastewater treatment plant of Lion Corporation (Thailand) Limited. A biodegradation of LAS by AOS-15 was studied. The free cells of AOS-15 were examined for their capabilities on degrading LAS under various conditions. Calcium alginate technique was applied for the preparation of immobilized cells. The efficiency of LAS degradation was monitored in batch and continuous bioreactor experiments with tensiometer. The kinetic of biodegradation was optimized at the best conditions of experiment. The results revealed that up to 3 g/L of LAS was proper with 65.35% degradation. Furthermore, AOS-15 showed high removal efficiencies at pH 7 with 68.24% degradation. The suitable of cells (g) for degradation was 2.1 g. with 70.56% degradation. LAS could be degraded by AOS-15 up to 80-96% in 80 hours of continuous study. Kinetic model of the biodegradation of LAS gave reasonable fit of the experimental data; $-r_s = \frac{0.0540s}{4.0299+s}$

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	จ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	4
ขอบเขตของการวิจัย.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
คุณสมบัติและประเภทของสารลดแรงตึงผิว.....	6
การนำสารลดแรงตึงผิวไปใช้ประโยชน์.....	9
สารลดแรงตึงผิวลิเนียร์อัลคิลเบนซีนซัลโฟเนต (Linear Alkylbenzene sulfonate, LAS).....	11
แรงตึงผิว (Surface tension force).....	11
การบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยา.....	13
กระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยาแบบต่าง ๆ.....	17
ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพของสารอินทรีย์.....	19
การตรึงเซลล์จุลินทรีย์ (Immobilized microorganism).....	21
การตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมอัลจิเนต.....	24
การย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ด้วยจุลินทรีย์.....	25
จลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS.....	26

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3	
วิธีดำเนินการวิจัย.....	28
อุปกรณ์และสารเคมี.....	28
จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง.....	29
วิธีดำเนินการวิจัย.....	29
1. เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15.....	29
2. ศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ.....	30
3. ศึกษาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) ของ สารลดแรงตึงผิว LAS ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium.....	32
4. ศึกษากราฟมาตรฐาน (Standard Curve) ของสารลดแรงตึงผิว LAS ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium.....	33
5. ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกัน.....	33
6. ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ค่าพีเอชต่างกัน.....	34
7. ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ต่างกัน.....	35
8. ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบกะและทำนายแบบจำลองโดยใช้โปรแกรม POLYMATH™.....	36
9. ตรีงจุลินทรีย์ AOS-15 บนตัวรองรับแคลเซียมอัลจิเนทเจล (calcium alginate gel).....	36
10. ออกแบบและสร้างเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง (Pack-Bed Reactor) เพื่อศึกษาความสามารถในการย่อยสลาย สารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบการไหลแบบต่อเนื่อง.....	37

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการวิจัย.....	39
ผลการศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ.....	39
ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกัน.....	40
ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ค่าพีเอชต่างกัน.....	41
ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ต่างกัน.....	42
ผลการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบกะและทำนายแบบจำลองโดยใช้โปรแกรม POLYMATH™.....	43
การสร้างเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง (Pack-Bed Reactor) เพื่อการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบการไหลแบบต่อเนื่อง.....	45
ผลการศึกษาการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง.....	47
5 อภิปรายและสรุปผล.....	50
บรรณานุกรม.....	54
ภาคผนวก.....	58
ภาคผนวก ก.....	59
ภาคผนวก ข.....	60
ภาคผนวก ค.....	62
ภาคผนวก ง.....	67
ภาคผนวก จ.....	70
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	76

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
2-1	เปรียบเทียบความสามารถของสารลดแรงตึงผิวทั้ง 4 ชนิด ในการทำให้เกิดฟอง การซักล้าง และการทำให้พื้นผิวเกิดความอ่อนนุ่ม.....	9
2-2	ตัวอย่างเซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึงด้วยแคลเซียมอัลจินตและผลพลอยได้.....	24
4-1	อัตราการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS โดยจุลินทรีย์ AOS-15 ที่ในระบบกะ.....	43
ข-1	ผลการวัดแรงตึงผิวของสารละลายมาตรฐานสารลดแรงตึงผิว LAS.....	60
ค-1	การเจริญของจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ.....	62
ค-2	ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกัน (pH 7 ปริมาณเซลล์ 0.6 กรัม).....	63
ค-3	ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ pH ต่างกัน (ความเข้มข้นเริ่มต้น 3.0 กรัมต่อลิตร ปริมาณเซลล์ 0.6 กรัม).....	64
ค-4	ผลการศึกษาอัตราส่วนระหว่างเซลล์จุลินทรีย์ AOS-15 ต่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว LAS ที่มีผลต่อความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ (ความเข้มข้นเริ่มต้น 3.0 pH 7).....	65
ค-5	ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง.....	66

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1-1 แผนภาพขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	3
2-1 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว.....	6
2-2 แผนภาพแสดงสารตั้งต้นของสารลดแรงตึงผิวชนิดต่าง ๆ.....	7
2-3 การจับกันของ โมเลกุลสารลดแรงตึงผิวเป็นรูปทรงกลม.....	8
2-4 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว LAS.....	11
2-5 เครื่องวัดค่าแรงตึงผิว Tensiometer K6.....	12
2-6 แผนภาพการเข้าสู่จุด CMC ของสารลดแรงตึงผิว.....	13
2-7 ระบบการย่อยสลายของสารคาร์บอนอินทรีย์ในน้ำเสียโดยจุลินทรีย์.....	14
2-8 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของตัวจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการย่อยสลาย สารอินทรีย์ในน้ำเสีย.....	15
2-9 กราฟแสดงการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย.....	16
2-10 การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีต่าง ๆ.....	21
2-11 กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพของสารลดแรงตึงผิว LAS โดยจุลินทรีย์.....	26
3-1 การใช้เครื่องวัดค่าความตึงผิวของของเหลว Tensiometer.....	33
3-2 โคออร์เดชันของระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพที่ได้รับการออกแบบ.....	38
4-1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ.....	40
4-2 ความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกัน....	41
4-3 ความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ pH ต่างกัน.....	42
4-4 ประสิทธิภาพการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ปริมาณเซลล์ต่างกัน.....	43
4-5 ระบบเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง (1).....	46
4-6 ระบบเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง (2).....	47
4-7 การย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS โดยจุลินทรีย์ AOS-15 ในระบบ การไหลแบบต่อเนื่อง.....	49
ก-1 ความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) ของสารลดแรงตึงผิว LAS.....	58
ข-2 กราฟมาตรฐานของสารลดแรงตึงผิว LAS.....	61
ง-1 ขั้นตอนการทำนายสมการจลนพลศาสตร์ด้วยโปรแกรม POLYMATH (1).....	67

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
ง-2 ขั้นตอนการทำนายสมการจลนพลศาสตร์ด้วยโปรแกรม POLYMATH (2).....	68
ง-3 ขั้นตอนการทำนายสมการจลนพลศาสตร์ด้วยโปรแกรม POLYMATH (3).....	69

บทที่ 1

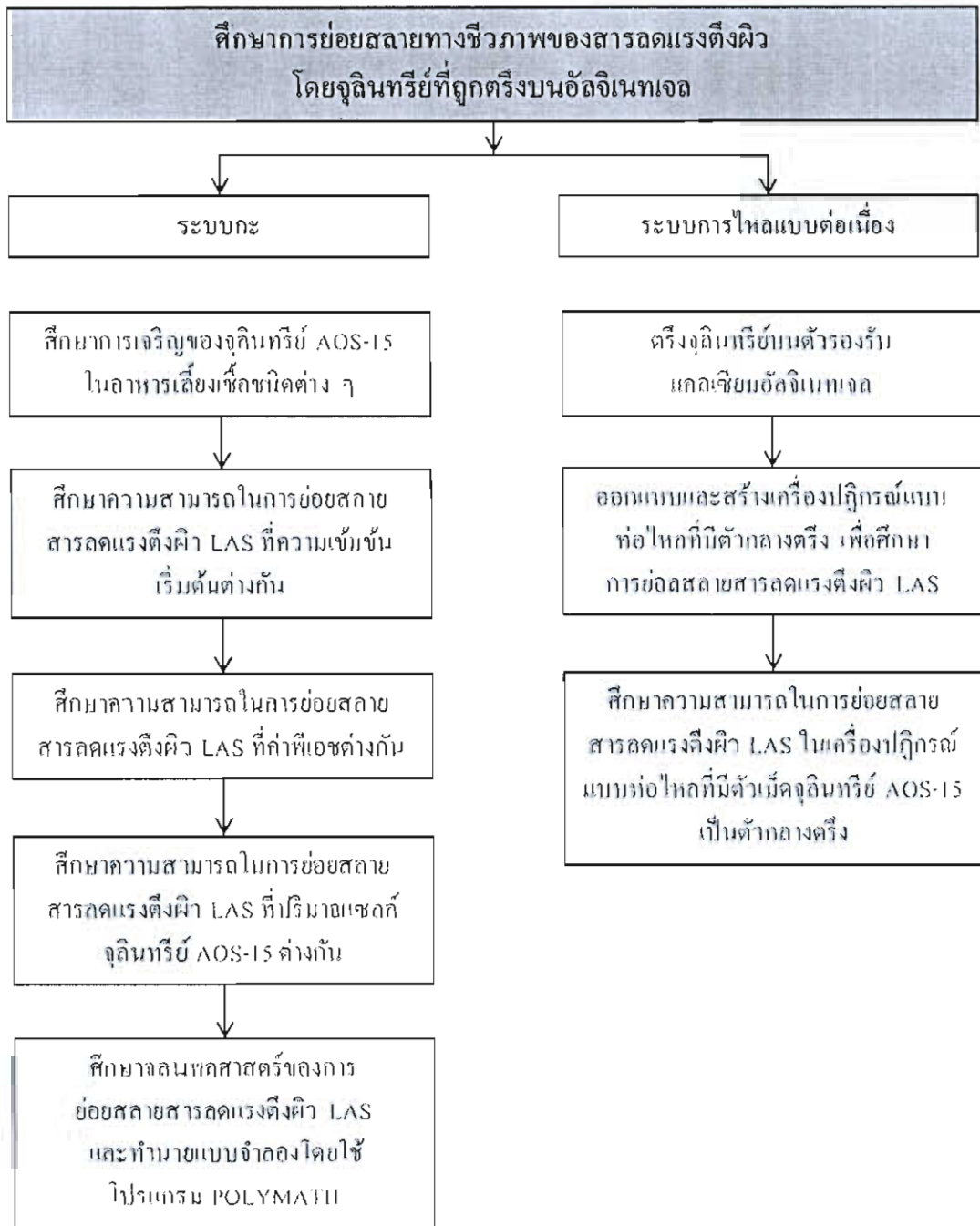
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สารลดแรงตึงผิวเป็นสารเคมีที่มนุษย์คิดค้นขึ้นมาเพื่ออำนวยความสะดวกให้แก่ตนเอง โดยมีสมบัติในการช่วยให้ทำความสะอาดได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่สารลดแรงตึงผิวจะอยู่ในรูปผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดร่างกาย ผลิตภัณฑ์ซักล้างในครัวเรือน ตัวอย่างเช่น สบู่ ยาสระผม น้ำยาล้างจาน ผงซักฟอก ฯลฯ ซึ่งถูกนำไปใช้งานอย่างแพร่หลายทั่วโลก แต่เนื่องจากในปัจจุบันประชากรมนุษย์เพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงทำให้มีความต้องการใช้สารลดแรงตึงผิวมากขึ้นและมีการปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ ทำให้เกิดการสะสมและก่อให้เกิดปัญหาในการกำจัดสารเหล่านี้ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำ ระบบนิเวศวิทยา และอาจส่งผลย้อนกลับมาสู่ตัวมนุษย์เองด้วย เช่นเดียวกับบริษัท ไลอฮัน (ประเทศไทย) จำกัด ที่ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จะเกิดน้ำเสียที่เจือปนด้วยสารลดแรงตึงผิวซึ่งทางโรงงานต้องทำการบำบัดก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ แต่ประสิทธิภาพการกำจัดสารลดแรงตึงผิวที่อยู่ในปริมาณที่จำกัด ทำให้อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ของบริษัทต้องขึ้นกับปริมาณน้ำเสียที่บำบัดได้ บริษัทจึงไม่สามารถดำเนินการผลิตได้อย่างเต็มกำลัง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีเป้าหมายที่จะทำการศึกษาปรับปรุงประสิทธิภาพการกำจัดสารลดแรงตึงผิวให้ดียิ่งขึ้น โดยใช้หลักการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีวภาพ เพื่อในอนาคตจะสามารถรองรับการผลิตผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดได้มากขึ้น

สารลดแรงตึงผิวสามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภทตามลักษณะหรือประจุของส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic group) ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวก (Cationic surfactant) สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ (Anionic surfactant) สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ (Nonionic surfactant) และสารลดแรงตึงผิวที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบ (Zwitterionic surfactant) ซึ่งในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนสารลดแรงตึงผิวประจุลบลิเนียร์อัลคิลเบนซีนซัลโฟเนต (Linear alkylbenzene sulfonate, LAS) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวที่นิยมใช้กันมากทั่วโลก โดยมีรายงานว่าในปี ค.ศ. 2000 มีการใช้สารลดแรงตึงผิว LAS ถึง 2.5 ล้านตัน ซึ่งมากที่สุดเมื่อเทียบกับสารลดแรงตึงผิวชนิดอื่น ๆ (Lima de Oliveira, Silveira Duarte, Sakamoto & Amâncio Varesche, 2009) และยังเป็นสารที่ถูกใช้มากที่สุด ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ของบริษัท ไลอฮัน (ประเทศไทย) จำกัด อีกด้วย

โดยกระบวนการวิจัยจะเริ่มจากการศึกษาในระบบกะ (Batch system) ตั้งแต่การศึกษาความสามารถในการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ ของเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ได้มาจากการงานวิจัยก่อนหน้านี้ (กฤษฎา อ่วมอินทร์, พรพิมล ทองทับทิม, ortsay ทองนพคุณ และ วิทวัส แจ่มเอียด, 2552) โดยทำการศึกษাপัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลกระทบต่อการทำงานของน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีสารลดแรงตึงผิว LAS ปนเปื้อนอยู่ซึ่งได้แก่ ความเข้มข้นเริ่ม ค่าพีเอช (pH) และปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ จากนั้นทำการศึกษากิจกรรมของการทำงานของสารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบกะ และทำนายแบบจำลองกิจกรรมศาสตร์โดยใช้โปรแกรมโพลีแมท (POLYMATH™) จากนั้นทำการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ (Cells immobilization) บนตัวรองรับแคลเซียมอัลจิเนตเจล (Calcium alginate gel) เพื่อนำมาศึกษาในระบบการไหลแบบต่อเนื่อง (Continuous-flow system) โดยเลือกใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง (Packed-bed reactor, PBR) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการย่อยสลาย LAS ในระบบแบบต่อเนื่อง



ภาพที่ 1-1 แผนภาพขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์ AOS-15
2. ศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ได้แก่ ความเข้มข้นเริ่มต้น ค่าพีเอช และปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ AOS-15 ที่เหมาะสมในระบบกะ
3. ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลาย LAS ด้วยจุลินทรีย์ AOS-15 ในระบบกะ และทำนายแบบจำลองจลนพลศาสตร์โดยใช้โปรแกรม POLYMATH™
4. ออกแบบและสร้างระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึงเพื่อศึกษาการย่อยสลาย LAS
5. ศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึงที่ใช้เมล็ดจุลินทรีย์ AOS-15 เป็นตัวกลาง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบถึงเทคนิคและวิธีในการปรับปรุงประสิทธิภาพการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS โดยจุลินทรีย์
2. สามารถนำความรู้ที่ได้ไปพัฒนากระบวนการกำจัด LAS ที่อยู่ในสถานะอื่นได้
3. สามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้กับการกำจัดสารพิษประเภทอื่น ๆ ได้

ขอบเขตของการวิจัย

ตัวแปรอิสระ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ LB medium, Decline medium, Synthetic medium
2. ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารลดแรงตึงผิว LAS เท่ากับ 1.5, 3 และ 5 กรัมต่อลิตร
3. ค่าพีเอชเท่ากับ 6, 7, 8 และ 9
4. ปริมาณเซลล์เปียกของจุลินทรีย์ AOS-15 เท่ากับ 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, 1.8, 2.1 และ 2.4 กรัม

ตัวแปรตาม

ประสิทธิภาพการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS

ตัวแปรควบคุม

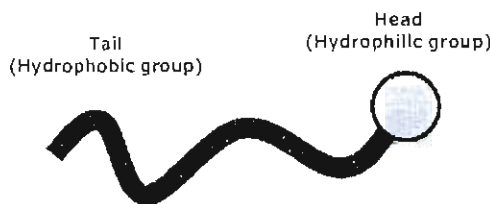
1. อุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองเท่ากับ 37 องศาเซลเซียส
2. ปริมาตรในการทดลองระบบกะเท่ากับ 100 มิลลิลิตร
3. ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเม็ดจุลินทรีย์เฉลี่ยเท่ากับ 0.4 เซนติเมตร
4. ปริมาตรเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึงเท่ากับ 85 มิลลิลิตร
5. ระยะเวลาพักทางพลศาสตร์ (Hydraulic Retention Time, HRT) ในเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึงเท่ากับ 24 ชั่วโมง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

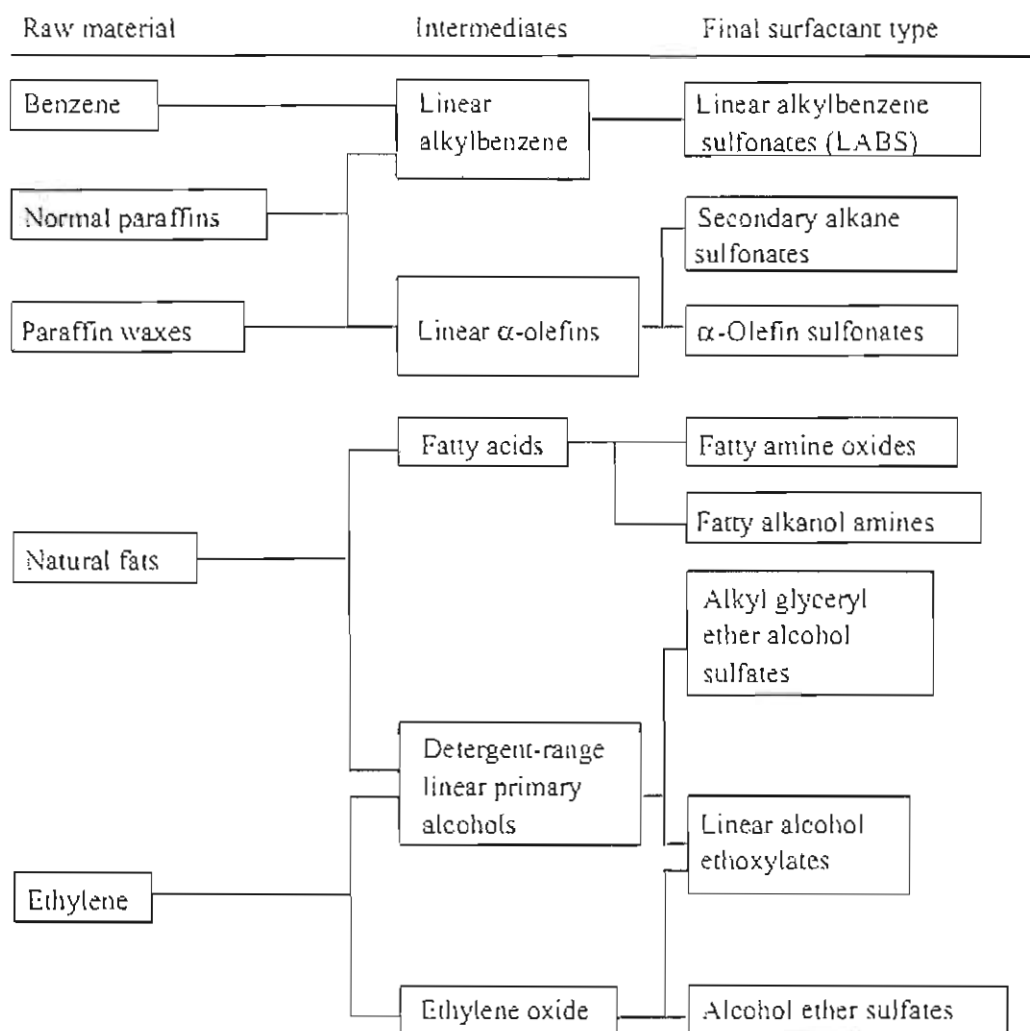
คุณสมบัติและประเภทของสารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิว หรือ SURFace ACTive AgeNT มีชื่อเรียกโดยทั่วไปทางวิทยาศาสตร์ว่า “Surfactant” สารลดแรงตึงผิวส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วน คือ 1) ส่วนที่ไม่มีขั้วหรือส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic group) ซึ่งมักจะเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอน คือมีธาตุคาร์บอนและไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนใหญ่จะมาจากไขมันและน้ำมันตามธรรมชาติ รวมทั้งผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียม และ โพลีเมอร์สังเคราะห์ และ 2) ส่วนที่มีขั้วหรือส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic group) ส่วนที่มีขั้วนี้อาจมีประจุหรือไม่ก็ได้ดังภาพที่ 2-1 โดยสารลดแรงตึงผิวในน้ำ ส่วนที่ไม่มีขั้วนี้เกิดอันตรกิริยากับ โมเลกุลของน้ำได้น้อย ขณะที่ส่วนที่มีขั้วของสารลดแรงตึงผิวสามารถยึดเหนี่ยวได้ดีกับโมเลกุลของน้ำ



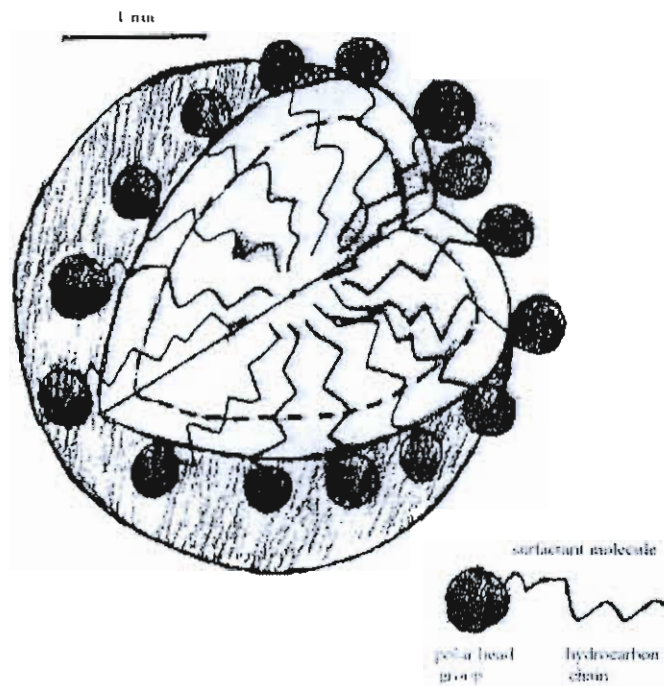
ภาพที่ 2-1 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว

ลักษณะที่สำคัญของสารลดแรงตึงผิวคือ เมื่อใส่สารลดแรงตึงผิวเพียงเล็กน้อยลงในน้ำ สารลดแรงตึงผิวจะไปลดแรงตึงผิวของน้ำเพื่อให้เกิดกระบวนการต่าง ๆ อย่างขึ้น เช่น กระบวนการทำความสะอาด การเกิดฟอง และการทำให้เปียก เป็นต้น โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวเป็น โมเลกุลเดี่ยว ๆ ที่มีขั้วประจันระหว่างอากาศและน้ำโดยหันส่วนที่มีขั้วของโมเลกุลเข้าไปในวัฏภาคน้ำและส่วนที่ไม่มีขั้วของ โมเลกุลเข้าไปในวัฏภาคอากาศ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะเริ่มจับกันเองเป็นกลุ่มเรียกว่าไมเซลล์ (Micelle) โดยหันส่วนที่ไม่มีขั้วของ โมเลกุลเข้าหากันเองแล้วหันส่วนที่มีขั้วเข้าสู่วัฏภาคน้ำ ดังแสดงในภาพที่ 2-3



ภาพที่ 2-2 แผนภาพแสดงสารตั้งต้นของสารลดแรงตึงผิวชนิดต่าง ๆ (Myers, 2005)

สารลดแรงตึงผิวยังมีคุณสมบัติที่ทำให้สารที่อยู่เฟสต่างกันมารวมตัวกันได้ คำว่าอูเฟสต่างกันคือ การไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน เช่น น้ำและน้ำมันไม่ละลายซึ่งกันและกันเพราะมีคุณสมบัติที่ต่างกัน โดยที่น้ำเป็นสารประกอบที่มีขั้ว ส่วนน้ำมันเป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้ว เมื่อใส่สารลดแรงตึงผิวเข้าไปเพียงเล็กน้อยก็สามารถทำให้สองเฟสมารวมกันเป็นเฟสเดียวกันได้ หรือการใส่ไข่แดงซึ่งมีเลซิธิน (Lecithin) เป็นสารลดแรงตึงผิวประกอบอยู่ประมาณ 10% ลงไปในน้ำที่ผสมน้ำมันเพื่อทำน้ำสลัด ทำให้น้ำและน้ำมันรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน



ภาพที่ 2-3 การจับกันของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวเป็นรูปทรงกลม (พรเพ็ญ วีระวัฒกานนท์, 2548)

สารลดแรงตึงผิวสามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภทซึ่งแบ่งตามลักษณะหรือประจุของส่วนที่ชอบน้ำได้แก่

1. สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวก (Cationic surfactant) ตัวอย่างเช่น ซิตรีล ไตรเมทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ (Cetyltrimethyl ammonium bromide, CTAB) ซึ่งมีสูตรโมเลกุลคือ $C_{16}H_{33}N(CH_3)_3^+ Br^-$ สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวกมักจะพบในผลิตภัณฑ์ยาสีฟัน ครีมนวดผม และน้ำยาปรับผ้านุ่ม เป็นต้น
2. สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ (Anionic surfactant) ตัวอย่างเช่น โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate, SDS) ซึ่งมีสูตรโมเลกุลคือ $CH_3(CH_2)_{11}SO_4^- Na^+$ และลิเนียร์อัลคิลเบนซีนซัลโฟเนต (Linear alkylbenzene sulfonate, LAS) ซึ่งมักจะเป็นส่วนประกอบในผงซักฟอกและสบู่ เป็นต้น
3. สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ (Nonionic surfactant) ตัวอย่างเช่น โพลีออกซีเอทิลีนแอลกอฮอล์ (Polyoxyethylene alcohol) ซึ่งมีสูตรโมเลกุลคือ $C_{12}H_{25-1}(OCH_2CH_2)_nOH$ สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุนี้นักจะนำไปผสมในสบู่เหลวล้างหน้า
4. สารลดแรงตึงผิวที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบ (Zwitterionic surfactant) ได้แก่ อัลคิลอะมิโนโพรไพโอเนต (β-N-Alkylaminopropionic acids) ซึ่งเป็นส่วนประกอบ

ในเครื่องสำอาง สารป้องกันการกัดกร่อน และสารยับยั้งแบคทีเรีย เป็นต้น
ความสามารถของสารลดแรงตึงผิวทั้ง 4 ชนิดนั้น สามารถเปรียบเทียบได้ในตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 เปรียบเทียบความสามารถของสารลดแรงตึงผิวทั้ง 4 ชนิด ในการทำให้เกิดฟอง
การซักล้าง และการทำให้พื้นผิวเกิดความอ่อนนุ่ม

ประเภทสารลดแรงตึงผิว คุณสมบัติ	ประจุบวก	ประจุลบ	ไม่มีประจุ	มีทั้งประจุบวก และประจุลบ
การเกิดฟอง	ไม่ดี	ดีที่สุด	ดี	ค่อนข้างดี
ความสามารถในการซักล้าง	ปานกลาง	ค่อนข้างดี	ดี	ปานกลาง
ความสามารถในการทำให้อ่อนนุ่ม	ไม่ดี	ไม่แน่นอน	ดี	ไม่ดี

จากตารางที่ 2-1 จะเห็นว่าสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบจะมีคุณสมบัติทำให้เกิดฟอง
ดีที่สุด ส่วนสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุจะมีความสามารถในการซักล้างดีกว่าชนิดอื่น
สารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน ในปัจจุบันได้มีการนำสารลดแรงตึงผิว
แต่ละชนิดมาผสมกันในอัตราส่วนที่เหมาะสม เพื่อให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมี
ประสิทธิภาพ

การนำสารลดแรงตึงผิวไปใช้ประโยชน์

สารลดแรงตึงผิวมีบทบาทที่สำคัญอย่างยิ่งในชีวิตประจำวันของมนุษย์ ในร่างกายมนุษย์
ก็มีสารลดแรงตึงผิวประกอบอยู่ เช่น กรดน้ำดี (Gall acid) ซึ่งจะข่อยสารประเภทไขมันได้ สารลด
แรงตึงผิวมีประโยชน์หลาย ๆ ด้าน โดยเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ซึ่งสามารถ
จำแนกได้ตามประเภทของสารลดแรงตึงผิว ดังนี้

1. สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวก

สารนี้เมื่อละลายน้ำจะแตกตัวให้ส่วนหัวที่มีประจุบวก ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบ
ควอเทอร์นารีแอม โมนีเนียม (Quaternary ammonium) หรือไพริดีเนียม (Pyridinium) ซึ่งมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ
แบคทีเรีย ส่วนใหญ่ใช้ในน้ำยาปรับผ้านุ่ม ครีมนวดผม น้ำยาทำความสะอาดที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรค
นิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรมสิ่งทอ โดยใช้เคลือบผ้าเพื่อให้เกิดความลื่นและป้องกัน ไฟฟ้าสถิต
สารจำพวกนี้ไม่มีความสามารถในการทำความสะอาดและไม่มีฟอง แต่สามารถเกาะเส้นผม
และพื้นผิวได้ดี ให้ความลื่นจึงนิยมนำมาใช้ในครีมนวดผมหรือน้ำยาปรับผ้านุ่ม

2. สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ

สารนี้เมื่อละลายน้ำแล้วจะแตกตัว ซึ่งส่วนหัวจะมีประจุเป็นลบ สารจำพวกนี้ถูกนำมาใช้ในการทำผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดต่าง ๆ เช่น น้ำยาล้างจาน ผงซักฟอก คลอจอน ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น แชมพู ครีมนวดน้ำและอื่น ๆ ทั้งนี้เพราะมีคุณสมบัติในการทำทำความสะอาดได้ดี มีฟองมาก และละลายน้ำได้ดี ขั้นตอนในการทำทำความสะอาดคือ ส่วนหางที่เข้ากับน้ำมันได้ดีจะช่วยกันจับคราบน้ำมันหรือสิ่งสกปรกซึ่งเกาะติดกับพื้นผิวหรือเส้นผมไว้ ในขณะที่ส่วนหัวจะรวมตัวกับน้ำและดึงสิ่งสกปรกให้หลุดออกมาแขวนลอยอยู่ในน้ำและไม่กลับเข้าไปติดพื้นผิวนั้น ๆ อีก

3. สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ

สารลดแรงตึงผิวชนิดนี้เมื่อละลายน้ำจะไม่มีประจุ ปัจจุบันมีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางมากขึ้นในผลิตภัณฑ์ชำระล้างต่าง ๆ โดยเฉพาะที่ใช้ทำความสะอาดพื้นผิว เนื่องจากให้ฟองน้อยและมีสมบัติในการรวมตัวเป็นไมเซลล์ที่ความเข้มข้นต่ำ จึงป้องกันสิ่งสกปรกกลับมาเกาะพื้นได้ดี คุณสมบัติของสารกลุ่มนี้จะแตกต่างกันไป ตั้งแต่ละลายน้ำได้จนไม่ละลายน้ำ สารที่ไม่ละลายน้ำมักใช้เป็นตัวลดฟองและอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) ส่วนสารที่ละลายน้ำมักใช้เป็นสารทำความสะอาด แต่เนื่องจากมีฟองน้อยจึงมักใช้คู่กับ LAS หรือสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบอื่น ๆ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารนี้ ได้แก่ ผงซักฟอก สารขจัดคราบฝังแน่น

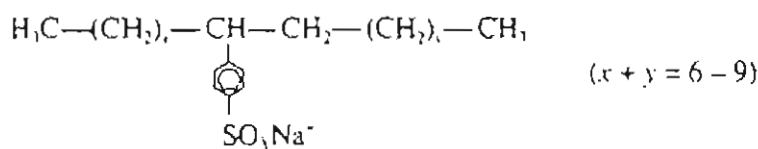
4. สารลดแรงตึงผิวที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบ

สารกลุ่มนี้มีทั้งประจุบวกและลบอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน เมื่อละลายน้ำจะแสดงประจุใดนั้นขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม โดยถ้าสภาพแวดล้อมเป็นกรดก็จะแสดงประจุบวก ถ้าสภาพแวดล้อมเป็นด่างก็จะแสดงประจุลบ คุณสมบัติหลักของสารกลุ่มนี้คือ สามารถทนน้ำกระด้าง อ่อนละมุนต่อผิว มีคุณสมบัติการเกิดป้องกันไฟฟ้าสถิต และให้ความนุ่มได้ ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ได้แก่ สารกลุ่มบีเทน (Betaine) ซึ่งนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์แชมพู นอกจากนี้ยังมีกลุ่มแอมโฟอะซิเตท (Amphoacilate) ซึ่งใช้ได้กับผลิตภัณฑ์จำพวกสบู่ ครีมนวดน้ำ โดยช่วยให้ฟองสบู่นุ่มและละเอียดขึ้นอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ยังให้ความอ่อนนุ่มแก่ผิว โดยช่วยให้ผิวไม่แห้งตึงหลังอาบน้ำหรือล้างหน้า

นอกจากนี้ยังมีการนำสารลดแรงตึงผิวมาใช้ในเทคโนโลยีสมัยใหม่ เช่น นาโนเทคโนโลยี เทคโนโลยีชีวภาพ งานพิมพ์อิเล็กทรอนิกส์ และเครื่องบันทึกแถบแม่เหล็ก เป็นต้น โดยมีรายงานว่า ในแต่ละปีมีการใช้สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์มากถึง 7.2 ล้านตันต่อปี (Antonio, 1998)

สารลดแรงตึงผิวลิเนียร์อัลคิลเบนซีนซัลโฟเนต (Linear alkylbenzene sulfonate, LAS)

สารลดแรงตึงผิว LAS อยู่ในกลุ่มสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบ เป็นไอโซเมอร์ผสมของ อะโรมาติกซริงซัลโฟเนต (Aromatic ring sulfonate) และลิเนียร์แอลคิลเชน (Linear alkyl chain) ที่มีอะตอมคาร์บอน 10 ถึง 14 อะตอม โดยที่อะโรมาติกซริงซัลโฟเนตจะจับอยู่ระหว่างกลาง โมเลกุลของลิเนียร์แอลคิลเชน ดังโครงสร้างโมเลกุลในภาพที่ 2-4 ซึ่งเป็นผลมาจากการนำเบนซีน (Benzene) ทำปฏิกิริยากับพาราฟิน (n-Parafin) ซึ่งได้จากขบวนการกลั่นน้ำมันปิโตรเลียม แล้ว นำมาผ่านกระบวนการซัลโฟเนชัน (Sulfonation) (Dehghani, Najafpoor & Azam, 2010)



ภาพที่ 2-4 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว LAS (Karsa & Porter, 1995)

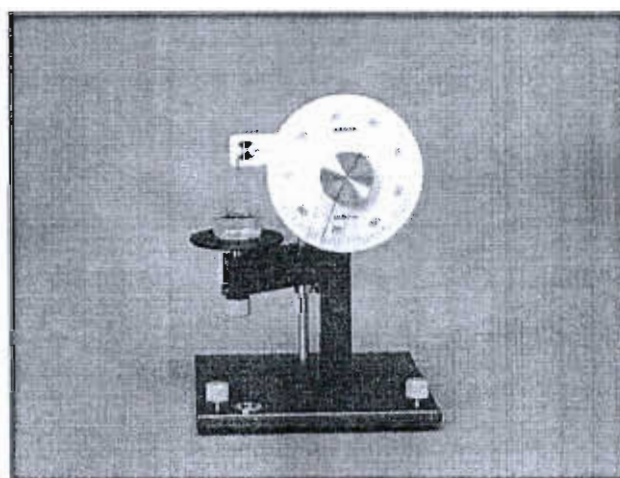
สารลดแรงตึงผิว LAS ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายมากกว่า 40 ปี ซึ่งนิยมใช้มากที่สุดในการขบวนการผลิตผงซักฟอก เพราะมีประสิทธิภาพในการทำความสะอาดสูง อีกทั้งราคาถูก แต่มีข้อเสียคือ ไม่ทนต่อน้ำกระด้าง ถ้าใช้เดี่ยว ๆ จะระคายเคืองต่อผิวหนังมาก อีกทั้งยังพบมากในน้ำเสียจากชุมชน และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งในปี 2003 มีการประเมินว่ามีการใช้สารลดแรงตึงผิว LAS ถึง 18.2 ล้านตัน เมื่อเทียบการใช้กับสบู่ สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุลบชนิดอื่น สารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีประจุ สารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวก สารลดแรงตึงผิวที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบ และสารลดแรงตึงผิวอื่น ๆ ซึ่งมีปริมาณการใช้เท่ากับ 9, 4.5, 1.7, 0.5, 0.1 และ 2.4 ล้านตัน ตามลำดับ (Mungray & Kumar, 2009) ถึงแม้ว่าปริมาณการบริโภคในปัจจุบันมีทิศทางที่น้อยลงเนื่องจากมีการเพิ่มตัวเลือกอื่นเข้าไป แต่ปริมาณการใช้สารลดแรงตึงผิว LAS ก็ยังสูงถึง 40% ของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้กันทั้งหมดจึงไม่น่าแปลกใจที่งานวิจัยส่วนใหญ่จะเน้นในด้านของปัญหาสิ่งแวดล้อมที่อาจเกิดจากการใช้สารลดแรงตึงผิว LAS (Modler, Willhalm & Yoshida, 1993)

แรงตึงผิว (Surface tension force)

แรงตึงผิวเป็นการวัดพลังงานเชื่อมแน่น (Cohesive energy) ซึ่งอยู่ที่รอยต่อระหว่างของเหลวกับก๊าซ โมเลกุลของของเหลวใด ๆ จะมีการดึงดูดซึ่งกันและกัน ซึ่งอันตรกิริยาของ

โมเลกุลในเนื้อของเหลวจะถูกทำให้สมดุล โดยแรงดึงดูดที่เท่า ๆ กันในทุกทิศทาง มีเฉพาะโมเลกุลที่อยู่บริเวณผิวของเหลวเท่านั้นที่แรงดึงดูดไม่สมดุล ซึ่งผลลัพธ์ของสถานการณ์นี้จะทำให้เกิดพลังงานอิสระที่ผิวของเหลวเรียกว่า พลังงานอิสระที่ผิว (Surface free energy) และสามารถหาค่าได้ เช่นเดียวกับการวัดค่าพลังงานต่อพื้นที่โดยทั่วไป ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะอธิบายการไม่สมดุลของแรงนี้เหมือนกับกรณีแรงดึงเส้นหรือแรงดึงผิวซึ่งหาค่าได้จากการวัดแรงต่อความยาว โดยทั่วไปแล้วหน่วยของแรงดึงผิวคือ ไดน์ต่อเซนติเมตร (dynes/cm) หรือมิลลินิวตันต่อเมตร (mN/m) ซึ่งสามารถวัดได้จากเครื่อง Tensiometer K6 ดังภาพที่ 2-5

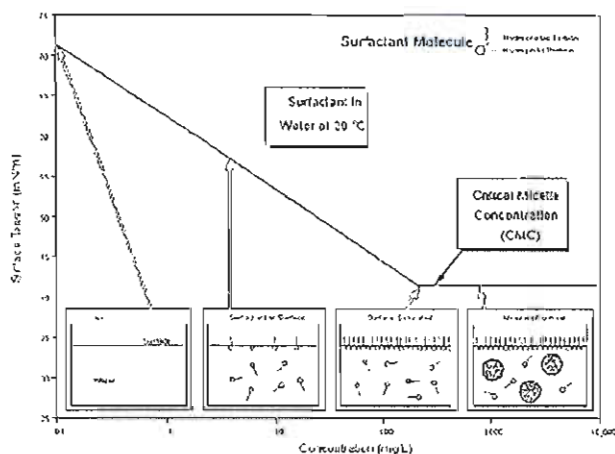
ค่าของความตึงผิวนี้นั้นขึ้นอยู่กับธรรมชาติของของเหลวและอุณหภูมิ เช่น ค่าความตึงผิวของน้ำจะมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยทั่วไปสารลดแรงตึงผิวสามารถทำหน้าที่ลดแรงตึงผิวระหว่างสองพื้นที่ผิวสัมผัสกันได้ เช่น สารลดแรงตึงผิวระหว่างของแข็งกับของเหลว ระหว่างของเหลวกับของเหลว และระหว่างของเหลวกับก๊าซ



ภาพที่ 2-5 เครื่องวัดค่าแรงตึงผิว Tensiometer K6 (KRÜSS, n.d.)

เมื่อสารลดแรงตึงผิวมีความเข้มข้นสูงในตัวทำละลาย โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าหากันด้วยแรงจับกันของสารลดแรงตึงผิว (Surfactant self-association) เกิดเป็นโครงสร้างที่เรียกว่าไมเซลล์ ซึ่งความเข้มข้น ณ จุดที่ทำให้โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวมารวมกันนี้ เป็นคุณสมบัติเฉพาะของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด เรียกความเข้มข้น ณ จุดนี้ว่า (Critical micelle concentration, CMC) การเกิดไมเซลล์ส่งผลต่อค่าแรงตึงผิวของสารละลาย คือเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในสารละลายเพิ่มมากขึ้น ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะลดต่ำลง

จนถึงจุด CMC คือค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะไม่ลดลงอีก ถึงแม้จะเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวลงไป สารละลายก็ตาม ซึ่งแสดงได้ดังภาพที่ 2-6



ภาพที่ 2-6 แผนภาพการเข้าสู่จุด CMC ของสารลดแรงตึงผิว (KRÜSS, n.d.)

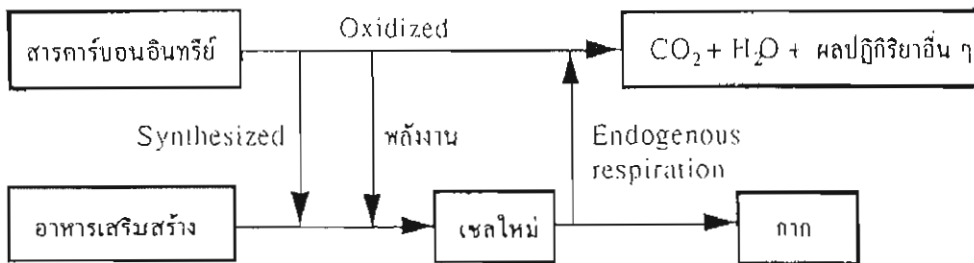
การบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยา

1. ทฤษฎี

การบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยามีจุดประสงค์เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในน้ำเสีย หรือกล่าวได้อีกนัยหนึ่งคือการแปรสภาพตะกอนและสารอินทรีย์ในน้ำเสียไปเป็นตะกอนที่มีคุณสมบัติที่สามารถตกตะกอนได้โดยอาศัยแรงโน้มถ่วงโลก อย่างเช่น สารอินทรีย์ (คาร์บอน, ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ฯลฯ) ที่อยู่ในน้ำเสียจากชุมชนจำเป็นต้องถูกกำจัดออก สำหรับน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมจะมีสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ต่าง ๆ ซึ่งบางตัวอาจเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยา ดังนั้นจึงจำเป็นต้องให้น้ำเสียที่มีสารพิษต่อจุลินทรีย์ผ่านกระบวนการบำบัดน้ำเสียขั้นต้น เพื่อกำจัดสารพิษในน้ำเสียออกให้หมด ก่อนที่จะเข้าสู่กระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยา

การบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีนี้จำเป็นต้องใช้จุลินทรีย์หรือจุลินทรีย์ต่าง ๆ (Microorganism) อย่างเช่นแบคทีเรียในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในน้ำเสีย จุลินทรีย์เหล่านี้สามารถแปรสภาพหรือย่อยสลายสารคาร์บอนอินทรีย์ (Carbonaceous organic matter) ไปเป็นก๊าซต่าง ๆ และเนื้อเยื่อเซลล์ เนื่องจากเนื้อเยื่อเซลล์มีค่าความต่างจำเพาะมากกว่าน้ำเล็กน้อย ดังนั้นเนื้อเยื่อเซลล์เหล่านี้สามารถถูกแยกออกจากน้ำได้ด้วยวิธีตกตะกอน ถ้าในกรณีที่พวกเนื้อเยื่อเซลล์ไม่สามารถ

ถูกแยกออกจากน้ำได้ง่าย ก็อาจเลือกวิธีการกำจัดพวกเนื้อเยื่อเซลล์แบบอื่นคือ การย่อยสลาย หรือ การแปรสภาพไปเป็นก๊าซต่าง ๆ ดังภาพที่ 2-7 (เกรียงศักดิ์ อุดมสิน โรจน์, 2537)



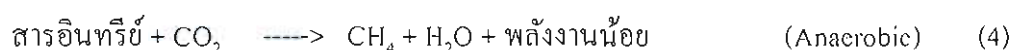
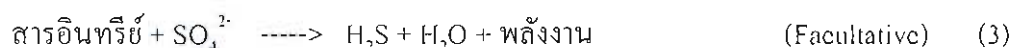
ภาพที่ 2-7 ระบบการย่อยสลายของสารคาร์บอนอินทรีย์ในน้ำเสียโดยจุลินทรีย์

อีกทั้งกระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยนี้ยังเป็นวิธีที่ง่าย มีค่าใช้จ่ายต่ำ และนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เนื่องจากจุลินทรีย์จะใช้สารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสียเป็นแหล่งอาหารและพลังงาน ทำให้สามารถเจริญและเพิ่มปริมาณขึ้นมาใหม่ได้โดยไม่หมดไป อีกทั้งยังเสียดำ้จ่ายสำหรับสารเคมีต่ำกว่ากระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางเคมีอีกด้วย ตัวอย่างการนำจุลินทรีย์ไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียได้แก่ การย่อยสลายฟีนอล (Phenol) โดยใช้จุลินทรีย์ *Pseudomonas putida* ภายใต้สภาวะมีออกซิเจน โดยจุลินทรีย์จะย่อยสลายฟีนอลและเปลี่ยนเป็นเนื้อเยื่อเซลล์คาร์บอนไดออกไซด์ และสารอื่นที่มีความเป็นพิษน้อยกว่า เช่น เบนโซเอท (Benzoate) และอะซิเตท (Acetate) เป็นต้น (Tepc & Dursun, 2008; El-Naas, Al-Muhtaseb & Makhlof, 2009) อีกทั้งยังมีการนำจุลินทรีย์ *Paracoccus* sp. ไปใช้ในการย่อยสลายไพริดีน (Pyridine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งที่มีอันตรายต่อมนุษย์และจุลินทรีย์ประเภทอื่น และพบว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงอีกด้วย (Lin, Donghui & Jianlong, 2010)

2. วัฏจักรของแอโรบิก (Aerobic) และแอนแอโรบิก (Anaerobic)

วัฏจักรทั้งสองนี้ได้เกี่ยวข้องกับกระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยา ถ้าเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศวัฏจักรของ Aerobic จะเข้ามาเกี่ยวข้อง และถ้าเป็นระบบบำบัดน้ำเสียแบบไม่เติมอากาศวัฏจักรของ Anaerobic จะเข้ามาเกี่ยวข้อง วัฏจักรทั้งสองแบบนี้จะเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารอินทรีย์ ซึ่งวัฏจักร Aerobic จะมีทั้งการย่อยสลายและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation-Reduction Reaction) ส่วนวัฏจักร Anaerobic จะมีแต่การย่อยสลายเท่านั้น เพราะฉะนั้นในระบบบำบัดน้ำเสียแบบ Aerobic จะปล่อยพลังงานเนื่องจากปฏิกิริยาชีวเคมีสูงกว่าแบบ Anaerobic สมการ (1) ถึง (4) ได้แสดงไว้อย่างชัดเจน หรืออาจกล่าวได้อีกนัยหนึ่งว่า

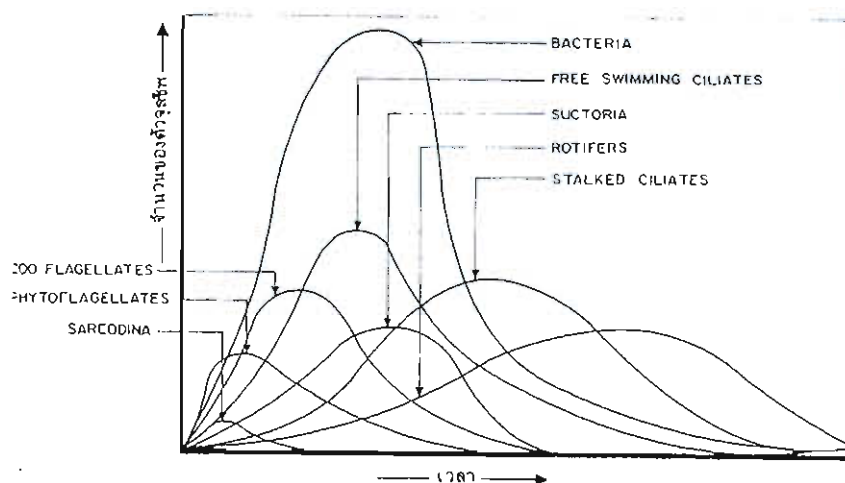
กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ด้วยวิธี Aerobic จะเป็นกระบวนการที่รวดเร็วกว่าวิธี Anaerobic ปฏิริยาชีวเคมีต่อไปนี้จะได้แสดงให้เห็นชัดเจนยิ่งขึ้น



3. การเจริญของจุลินทรีย์

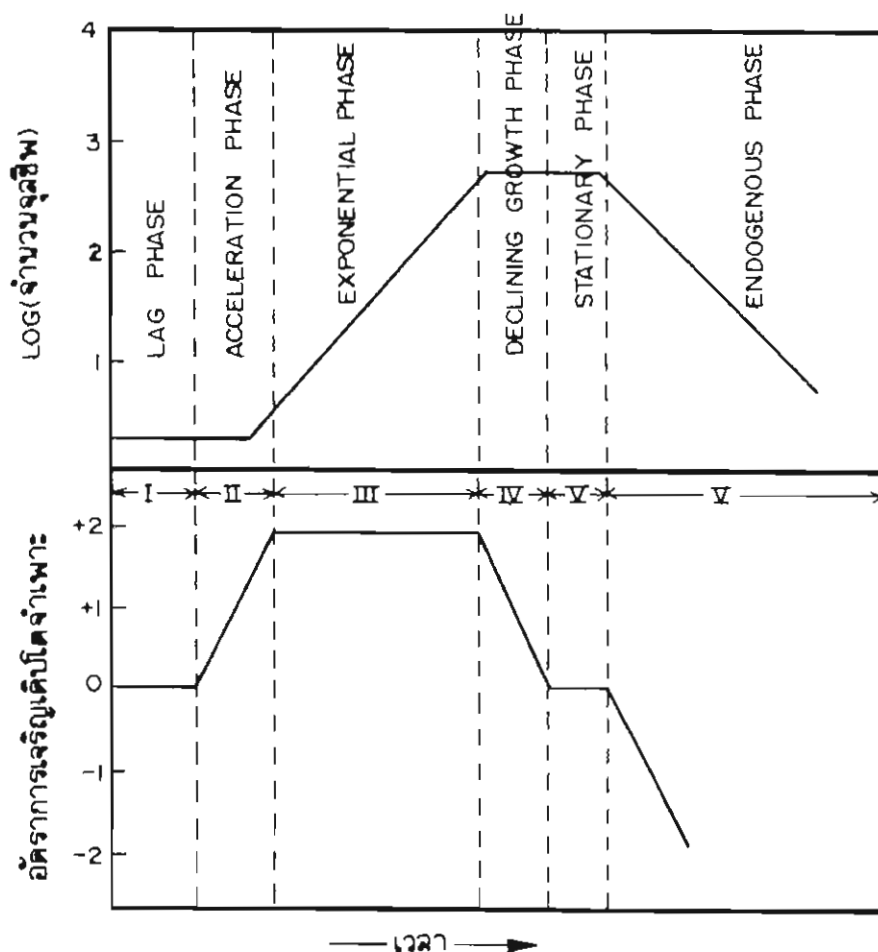
ในระบบบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยาจะมีพวกจุลินทรีย์ต่าง ๆ ซึ่งจะช่วยทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในน้ำเสียไปเป็นก๊าซและผลปฏิกิริยาสุดท้ายต่าง ๆ โดยอาจอยู่ในสถานะ Aerobic หรือ Anaerobic หรือ Facultative โดยทั่วไปแล้วระบบบำบัดน้ำเสียทางชีววิทยาจะมีจุลินทรีย์ต่าง ๆ มากมายหลายชนิดปะปนกันอยู่ ซึ่งมีการเจริญไม่เหมือนกันซึ่งขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยด้วยกัน ได้แก่ ประเภทของน้ำเสีย อุณหภูมิ ค่าพีเอช และสถานะมีหรือไม่มีออกซิเจน ดังนั้นจึงต้องเข้าใจถึงการเจริญของจุลินทรีย์ เพราะถ้ามีการเจริญของจุลินทรีย์ที่เหมาะสมจะทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียสูงไปด้วย ภาพที่ 2-8 ได้แสดงการเจริญของจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในน้ำเสียที่อยู่ในสถานะ Aerobic (เกรียงศักดิ์, 2537)

จากภาพที่ 2-8 แสดงให้เห็นว่าจำนวนแบคทีเรียในระบบบำบัดน้ำเสียมีจำนวนมากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ดังนั้นแบคทีเรียจึงเป็นตัวสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย



ภาพที่ 2-8 กราฟแสดงการเจริญของจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย

เมื่อปี ค.ศ. 1949 Monod ได้อธิบายการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย ดังแสดงไว้ในภาพที่ 2-9 ซึ่งได้แสดงทั้งจำนวนจุลินทรีย์ที่มีในระบบและอัตราการเจริญจำเพาะอีกด้วย Monod ได้แบ่งการเจริญของจุลินทรีย์ออกเป็น 6 ช่วงเวลาดังต่อไปนี้ (Monod, 1949)



ภาพที่ 2-9 กราฟแสดงการเจริญของจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย

3.1 ช่วงที่ 1 Lag phase ช่วงแรกนี้จะไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์ เป็นช่วงที่จุลินทรีย์เริ่มปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ในการดำเนินระบบบำบัดน้ำเสียในช่วงเริ่มต้น อาจมีช่วง Lag phase สั้นหรือยาวขึ้นอยู่กับการได้นำจุลินทรีย์จากถังที่บำบัดน้ำเสียอยู่ตัวแล้วมาเติมลงในถังบำบัดน้ำเสียใหม่เล็กน้อยเพียงใด ถ้าเติมจุลินทรีย์เหล่านั้นมากจะทำให้ระบบบำบัดน้ำเสียใหม่มีช่วงเวลา Lag phase สั้นหรือไม่มีเลยก็เป็นได้

3.2 ช่วงที่ 2 Acceleration phase ช่วงที่สองนี้จะมีการเจริญของจุลินทรีย์ จากภาพที่ 2-9 จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าอัตราการเจริญจำเพาะที่เพิ่มขึ้นอย่างมาก แสดงว่าจำนวนจุลินทรีย์ค่อย ๆ เพิ่มขึ้น

3.3 ช่วงที่ 3 Exponential phase ช่วงที่สามนี้จะมีการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์อย่างมาก แต่จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าอัตราการเจริญจำเพาะ ช่วงที่สามนี้จะมีอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือพวก Substrate ในน้ำเสียสูงที่สุด โดยทั่วไปนิยมเรียกช่วงที่สามนี้ว่า ช่วงสถานะคงที่ (Steady state) คือจะมีค่าความหนาแน่นเซลล์คงที่ หรือค่าความเข้มข้นตะกอนคงที่ ช่วงที่สามนี้เป็นช่วงที่มีความสำคัญอย่างมากในการดำเนินงานของระบบบำบัดน้ำเสีย เพราะเป็นช่วงที่มีการบำบัดน้ำเสียสูงที่สุดในถังบำบัดน้ำเสียนี้

3.4 ช่วงที่ 4 Declining phase ช่วงที่สี่นี้จะมีจำนวนจุลินทรีย์คงที่ โดยมีอัตราการเจริญจำเพาะค่อย ๆ ลดลง เนื่องจากปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำเสียที่ลดลงและ/หรือเกิดการสะสมสารพิษในจุลินทรีย์เองด้วย

3.5 ช่วงที่ 5 Stationary phase ช่วงที่ห้านี้จะมีจำนวนจุลินทรีย์คงที่ โดยมีอัตราการเจริญเท่ากับอัตราการตาย

3.6 ช่วงที่ 6 Endogenous phase ช่วงที่หกนี้ มีอัตราการตายของจุลินทรีย์จำนวนมาก จากภาพที่ 2-9 จะเห็นได้ว่าค่าอัตราการเจริญจำเพาะมีค่าติดลบ คือจำนวนจุลินทรีย์ในระบบค่อย ๆ ลดลงเรื่อย ๆ

กระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยาแบบต่าง ๆ (เกรียงศักดิ์, 2537)

กระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยามีอยู่ด้วยกันหลายวิธี โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ Aerobic processes, Anoxic processes, Anaerobic processes และ Aerobic/ Anoxic (Anaerobic/ Aerobic processes) ซึ่งในแต่ละกลุ่มข้างต้นยังสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระบบใหญ่ ๆ คือ Suspended-growth systems, Attached-growth systems และ Suspended & Attached-growth systems ในแต่ละระบบดังกล่าวยังสามารถแยกออกได้อีกหลายแบบ ขึ้นอยู่กับลักษณะการทำงานของระบบ ซึ่งสามารถจำแนกได้ดังนี้ คือ

1 Aerobic process

1.1 ระบบ Suspended-growth

1.1.1 Activated sludge processes

1.1.1.1 Conventional (Plug flow type)

1.1.1.2 Continuous-flow stirred tank

- 1.1.1.3 Step aeration
- 1.1.1.4 Pure oxygen
- 1.1.1.5 Contact stabilization
- 1.1.1.6 Oxidation ditch

1.1.2 Suspended-growth nitrification

1.1.3 Aerated lagoons

1.1.4 Aerobic Digestion

1.1.4.1 Conventional air

1.1.4.2 Pure oxygen

1.1.5 High-rate aerobic algal ponds

1.2 រូបមន្ត Attached growth

1.2.1 Trickling filters

1.2.1.1 Low-rate

1.2.1.2 High-rate

1.2.2 Roughing Filters

1.2.3 Rotating biological contactor

1.2.4 Packed-bed reactor

1.3 រូបមន្ត Suspended & Attached-growth

1.3.1 Activated sludge & Trickling filter

1.3.2 Trickling filter & Activated sludge

2. Anoxic processes

2.1 រូបមន្ត Suspended-growth

2.1.1 Suspended-growth denitrification

2.2 រូបមន្ត Attached growth

2.2.1 Fixed-film denitrification

3. Anaerobic processes

3.1 រូបមន្ត Suspended-growth

3.1.1 Anaerobic digestion

3.1.1.1 Standard-rate, single-stage

3.1.1.2 High-rate, single stage

- 3.1.1.3 Two-stage
- 3.1.2 Anaerobic contact process
- 3.2 ระบบ Attached growth
 - 3.2.1 Anaerobic filter
 - 3.2.2 Anaerobic rotating biological contactors
- 3.3 ระบบบ่อธรรมชาติ
 - 3.3.1 Anaerobic lagoons
- 4. Aerobic/Anoxic หรือ Anaerobic/Aerobic processes
 - 4.1 ระบบ Suspended-growth
 - 4.1.1 Nitrification-denitrification
 - 4.1.2 Phosphorus release-uptake
 - 4.2 ระบบ Attached growth
 - 4.2.1 Nitrification-denitrification
 - 4.3 ระบบบ่อธรรมชาติ
 - 4.3.1 Facultative lagoons
 - 4.3.2 Maturation หรือ Tertiary ponds
 - 4.3.3 Anaerobic-facultative lagoons
 - 4.3.4 Anaerobic-facultative-aerobic lagoons

ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพของสารอินทรีย์

1. ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารอินทรีย์

ปริมาณสารอินทรีย์เริ่มต้นที่ใช้ในการย่อยสลายเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีการทำวิจัยกันมาก เนื่องจากปริมาณสารอินทรีย์ที่เหมาะสมจะทำให้เกิดประสิทธิผลในการย่อยสลายสูงสุด หากมีปริมาณน้อยเกินไปทำให้มีประสิทธิภาพสูงก็จริงแต่จะเกิดความไม่คุ้มค่าในการดำเนินระบบ หรือถ้ามีปริมาณมากเกินไปก็จะทำให้เป็นพิษกับตัวจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์ตายและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายต่ำได้ มีงานวิจัยได้ศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นเริ่มต้นของโพรไพโอไนไตรล์ (Propionitrile) ที่ใช้ในการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ *Klebsiella oxytoca* โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้น 25, 50 และ 100 mM ซึ่งพบว่าทั้ง 3 ระบบใช้เวลา 5 วันเท่ากันในการย่อยสลายโพรไพโอไนไตรล์จนหมด ดังนั้นที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 mM จึงเหมาะสมที่สุดในการดำเนินระบบ (Chen, Chen,

Fingas & Kao, 2010) และยังมีงานวิจัยที่ได้ศึกษาการย่อยสลายฟีนอลโดยจุลินทรีย์ *Pseudomonas putida* ที่ถูกตรึงบนตัวรองรับ Polyvinyl alcohol (PVA) gel โดยศึกษาความเข้มข้นเริ่มต้นของฟีนอลที่อยู่ในช่วง 5-150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงสุด (El-Naas et al., 2009)

2. ค่าพีเอช

ค่าพีเอชเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายทางชีวภาพ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่นำมาใช้งานนั้นมีหลากหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดก็ย่อยสลายได้อย่างมีประสิทธิภาพที่ค่าพีเอชแตกต่างกันไป มีงานวิจัยที่ศึกษาผลกระทบของค่าพีเอชที่มีต่อการย่อยสลายฟีนอลด้วยจุลินทรีย์ *Acinetobacter sp.* XA05 และ *Sphingomonas sp.* FG03 พบว่าประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงในช่วงค่าพีเอช 7 และ 8 (Liu, Zhang & Wang, 2009) อีกทั้งยังมีการศึกษาการย่อยสลาย Cu(II) โดยจุลินทรีย์ B350 ที่ถูกตรึงบนตัวรองรับ Composite polyurethane พบว่าสามารถย่อยสลายได้ดีที่ค่าพีเอชเท่ากับ 6 (Zhou, Li, Bai & Zhao, 2009) จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์นั้นต้นตัวและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้สูงที่ค่าพีเอชที่แตกต่างออกไป ตามชนิดของจุลินทรีย์ด้วยเหตุนี้จึงต้องทำการศึกษาเพื่อให้ทราบสภาวะที่เหมาะสม

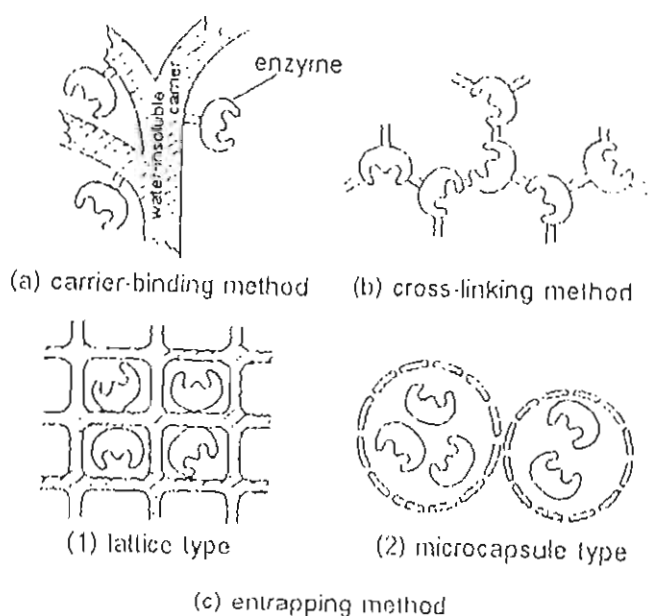
3. ปริมาณเซลล์

ปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการย่อยสลายเป็นปัจจัยหนึ่งที่ต้องศึกษา ซึ่งตามความเข้าใจโดยทั่วไปจะทราบว่าปริมาณเซลล์ยิ่งมากจะให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูง ซึ่งในทางกลับกันหากใช้ปริมาณที่มากเกินไปจะต้องเสียค่าใช้จ่ายในการเตรียมเซลล์มากขึ้นด้วย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการดำเนินระบบด้วย มีงานวิจัยที่ได้ศึกษาปัจจัยปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ *K. oxytoca* ที่ใช้ในการย่อยสลายไซยาไนด์ (Cyanide) ในน้ำเสีย โดยใช้ปริมาณเซลล์ 10.70 และ 42.80 มิลลิกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งพบว่าที่ปริมาณเซลล์ 42.80 มิลลิกรัม ๑ ให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายถึงร้อยละ 22 ในขณะที่ปริมาณเซลล์ 10.70 มิลลิกรัม ๑ ให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายเพียงร้อยละ 14 (Chen, Kao & Chen, 2008) และยังมี การนำจุลินทรีย์นี้ไปใช้ในการย่อยสลายโพไฟโอไนด์โรล โดยใช้ปริมาณเซลล์ 11 และ 22 มิลลิกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่าที่ปริมาณเซลล์ 22 มิลลิกรัม ๑ มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโพไฟโอไนด์โรลสูงกว่า (Chen et al., 2010)

การตรึงเซลล์จุลินทรีย์ (Immobilized microorganism)

การตรึงเซลล์จุลินทรีย์ หมายถึงเซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกจำกัดขอบเขตหรือบริเวณทางฟิสิกส์ ซึ่งไม่สูญเสียความสามารถในการย่อยสลายหรือเป็นตัวเร่ง และสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้หลายครั้งหรือใช้ได้อย่างต่อเนื่อง โดยเซลล์ที่ถูกตรึงอาจอยู่ในสภาพเซลล์ที่กำลังเจริญ เซลล์ระยะพัก หรือเซลล์ที่ตายแล้วก็ได้ วิธีการตรึงเซลล์แบ่งได้เป็น 3 วิธีใหญ่ ๆ เช่นเดียวกับการตรึงเอนไซม์ คือ การยึดด้วยตัวนำ (Carrier-binding method) การเชื่อมแบบไขว้ (Cross-linking method) และการห่อหุ้ม (Entrapping method) ดังแสดงในภาพที่ 2-10 (สมใจ ศิริ โภค, 2545)

1. การยึดด้วยตัวนำ หมายถึง การเชื่อมเซลล์จุลินทรีย์โดยตรงกับตัวนำที่ไม่ละลายน้ำ (Water-insoluble carrier) ซึ่งอาจแบ่งย่อยได้ 2 วิธี คือ Adsorption method และ Covalent binding method



ภาพที่ 2-10 การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีต่าง ๆ (สมใจ, 2545)

1.1 Adsorption method เป็นวิธีการตรึงเซลล์โดยให้เซลล์ดูดซับอยู่กับสารที่เป็นตัวนำด้วยพันธะไอออนิก พันธะไฮโดรโฟบิก หรือพันธะไฮโดรเจน โดยอาศัยหลักการรวมชาติทางเคมี เนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียหรือยีสต์จะประกอบด้วย Diaminopimelic acid และ Hexosamines ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยากับตัวนำที่ใช้ได้ โดยแรงดูดซับนี้จะขึ้นอยู่กับขนาดและอายุของเซลล์รวมทั้งปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องด้วย การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย แต่มีข้อเสียคือ

แรงดูดซับค่อนข้างอ่อนและมีการสูญเสียเซลล์ได้ง่ายเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช อัตราการไหล หรือเมื่อมีการแบ่งเซลล์ ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่เหมาะสำหรับการตรึงเซลล์ในกรณีที่ต้องการผลผลิตที่ปราศจากการปนเปื้อนของเซลล์ นอกจากนี้การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้ยังมีข้อเสียอีกประการหนึ่งคือ อัตราการดูดซับเซลล์ต่อหนึ่งหน่วยของตัวนำค่อนข้างต่ำ แต่ก็อาจแก้ไขได้โดยใช้สารที่มีรูพรุนเป็นตัวดูดซับ ตัวอย่างสารที่เป็นตัวดูดซับเซลล์ด้วยวิธีนี้ได้แก่ โพลีเมทคราไรด์ไม่ละลายน้ำ (อนุพันธ์ของเซลลูโลส เด็กซ์แทรน และอะกาโรส) โปรตีน (เจลาตินและอัลบูมิน) โพลีเมอร์สังเคราะห์ (โพลีไวนิลคลอไรด์) และสารอนินทรีย์ (อิฐ ทราย) เป็นต้น

1.2 Covalent binding method เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการตรึงเอนไซม์ เนื่องจากได้ผลดี แต่ไม่นิยมใช้ในการตรึงเซลล์ เนื่องจากจำเป็นต้องใช้สารเคมีซึ่งมากพิเศษ จึงอาจทำให้เซลล์ถูกทำลายและตายได้ การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้เป็นการเชื่อมเซลล์โดยตรงกับตัวนำ โดยสารที่ใช้เป็นตัวยึดจึงนั้นสามารถเชื่อมต่อกับหมู่อะตอมซึ่งเป็นส่วนประกอบที่ผิวเซลล์ เช่น หมู่อะมิโน หมู่คาร์บอกซิล หรือหมู่ฟีนอลของโปรตีน วิธีนี้มีข้อดีคือเซลล์จะเชื่อมอยู่กับผิวหน้าของตัวนำอย่างสม่ำเสมอ มีความคงตัวดี และมีการรั่วไหลของเซลล์ได้น้อย แต่จะมีข้อเสียคือ การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ค่อนข้างรุนแรง เนื่องจากการสร้างพันธะโควาเลนต์ตามปกติจำเป็นต้องใช้สารตัวนำที่มีการดัดแปลงโดยใช้สารเคมี ซึ่งมักจะมีความเป็นพิษ และอาจทำให้เซลล์สูญเสียความสามารถได้ สารที่ใช้เป็นตัวยึดเซลล์ด้วยวิธีนี้ได้แก่ Boro-silicate glass Zirconia ceramic และ Agarose bead ส่วนสารเคมีที่ใช้ในการทำให้เกิดพันธะโควาเลนต์ เช่น Glutaraldehyde Isocyanate และ Carbodiimide เป็นต้น

2. การเชื่อมแบบไขว้ หมายถึง การเชื่อมจุลินทรีย์เข้าด้วยกันโดยใช้สารพวก

Multifunctional reagent เช่น Glutaraldehyde และ Toluene diisocyanate เป็นต้น การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้ต่างจากวิธีอื่น ๆ คือ เซลล์ไม่ได้ถูกตรึงหรือถูกห่อหุ้มอยู่ในสารที่เป็นตัวนำ แต่เป็นการเชื่อมเซลล์เข้าด้วยกันโดยใช้สารเคมีภายใต้สภาวะที่ค่อนข้างรุนแรงซึ่งอาจทำให้เซลล์ตายได้ ดังนั้นการตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้จึงเหมาะสำหรับกรณีที่ต้องการใช้ปฏิกิริยาเชิงเดี่ยว (Single reaction) เท่านั้น

3. การห่อหุ้ม การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้แบ่งเป็น 2 แบบคือ Microencapsulation และ Lattice type

3.1 Microencapsulation หมายถึง การห่อหุ้มเซลล์ไว้ในเยื่อหุ้มเลือกผ่าน (Semipermeable membrane) เช่น คอลโลอิดีอีน (Collodian) หรือซิลิโคน (Silicone) ซึ่งป้องกันการซึมผ่านของเซลล์ได้แต่ยอมให้สารตั้งต้นหรือผลผลิตผ่านได้อย่างอิสระ การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายแต่ไม่แข็งแรงพอที่จะใช้ในอุตสาหกรรม และอาจมีปัญหาคัดกรองของเซลล์

เกิดขึ้นด้วย ดังนั้นการนำไปใช้ประโยชน์จึงมีอย่างจำกัด ซึ่งนิยมใช้ในการผลิตยาและการวิเคราะห์เท่านั้น

3.2 Lattice type หมายถึง การตรึงเซลล์โดยการห่อหุ้มเซลล์ไว้ภายในช่องว่างของเจลที่เป็นสาร โพลีเมอร์ การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมและประสบความสำเร็จมากที่สุด เนื่องจากใช้ได้ดีกับเซลล์เกือบทุกชนิด สารที่นิยมใช้ในการตรึงเซลล์ด้วยวิธีการห่อหุ้ม ได้แก่ สารพวก Biochemically inert hydrogel โดยใช้หลักการการเกิดเจลซึ่งทำให้เกิดโครงร่างสามมิติที่มีลักษณะเป็นรูพรุน กลไกการเกิดเจลนั้นมีหลายแบบคือ คือ

3.2.1 Covalent binding เช่น การเกิด โพลีเมอร์ไรซ์ของ โพลีอะครีลาไมด์

3.2.2 Ionic forces เช่น แคลเซียมอัลจินต

3.2.3 Precipitation โดยค่าพีเอช อุณหภูมิ หรือ โดยการเปลี่ยนตัวทำละลาย เช่น คอลลาเจน (Collagen) คาราจีแนน (Carragenan) และ โพลีสไตรอลีน (Polystyrene) สำหรับสารที่นิยมใช้เป็นตัวห่อหุ้ม และประสบความสำเร็จใช้ในระดับอุตสาหกรรมแล้ว ได้แก่ โพลีอะครีลาไมด์ (Polyacrylamide) คาราจีแนน และแคลเซียมอัลจินต

เราสามารถนำเทคโนโลยีการตรึงเซลล์ไปประยุกต์ใช้กับกระบวนการบำบัดทางชีวภาพได้โดยเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและประสิทธิผลของการย่อยสลายทางชีวภาพ ดังงานวิจัยได้รายงานถึงประโยชน์ของการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ (Chen, Lin, Huang, Lin & Hsieh, 2007; Chen et al., 2010) ซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้คือ

- ช่วยปกป้องจุลินทรีย์จากสภาวะที่เป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ เช่น สารตั้งต้นที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและอุณหภูมิ เป็นต้น
- เป็นวิธีที่ง่ายและช่วยลดค่าใช้จ่ายในการนำจุลินทรีย์กลับมาใช้ใหม่ หรือทำให้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์
- ช่วยลดปริมาณ(ขนาด)ของเครื่องปฏิกรณ์ได้ เนื่องจากจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพมากขึ้น

มีงานวิจัยได้ศึกษาประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ โดยศึกษาการย่อยสลายฟีนอลที่มีความเข้มข้น 100-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้จุลินทรีย์ *Acinetobacter* sp. XA05 และ *Sphingomonas* sp. FG03 ในรูปเซลล์อิสระ และเซลล์ที่ถูกตรึงบนตัวรองรับ Polyvinyl alcohol (PVA) gel พบว่าที่ความเข้มข้นมากกว่า 400 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป เซลล์ที่ถูกตรึงจะให้อัตราการย่อยสลายสูงกว่าเซลล์ที่ไม่ถูกตรึง และยังพบว่าเมื่อดำเนินระบบไปถึง 50 วัน ก็ยังมีประสิทธิภาพการย่อยสลายที่สูงอยู่ (Liu et al., 2009) ซึ่งให้เห็นว่าการตรึงจุลินทรีย์บนตัวรองรับ

สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายสารที่มีความเข้มข้นสูงได้ และยังสามารถย่อยสลายได้นานขึ้นอีกด้วย

การตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมอัลจิเนท (สมใจ, 2545)

อัลจิเนทเป็นสาร โพลีเมอร์ที่ประกอบด้วย D-mannuronic acid และ L-guluronic acid สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล อัลจิเนทสามารถเกิดเป็นเจลได้เมื่ออยู่ในสารละลายที่มีไอออนของโลหะโพลิวาเลนต์ เช่น Al^{3+} และ Ca^{2+} การตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมอัลจิเนทสามารถทำได้โดยผสมเซลล์ลงในสารละลายโซเดียมอัลจิเนท แล้วนำไปหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ จะเกิดแคลเซียมอัลจิเนทเจลขึ้นทันที จากนั้นควรแช่เซลล์อย่างน้อย 20 นาที เพื่อให้เกิดเจลอย่างสมบูรณ์ ตารางที่ 2.2 เป็นตัวอย่างเจลที่ถูกตรึงด้วยแคลเซียมอัลจิเนท

ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของเซลล์ที่ถูกตรึงด้วยอัลจิเนท ได้แก่ น้ำหนักโมเลกุลและองค์ประกอบทางเคมีของอัลจิเนท (อัตราส่วนระหว่าง D-mannuronic acid และ L-guluronic acid) ความเข้มข้นของอัลจิเนท (ร้อยละ 0.5-10) และแคลเซียมคลอไรด์ (ร้อยละ 0.5-2) อุณหภูมิ (0-80 องศาเซลเซียส) ขนาดของเม็ดเจล (เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.1-5 มิลลิเมตร) และปริมาณเซลล์ที่ใช้ (สูงสุดได้ถึง 30 กรัมต่อมิลลิลิตร)

ตารางที่ 2-2 ตัวอย่างเซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึงด้วยแคลเซียมอัลจิเนทและผลพลอยได้

Microorganism	Product
<i>Aspergillus niger</i>	Citric acid
<i>Clostridium butyricum</i>	Isopropanol n-Butanol
<i>Lactobacillus lactis</i>	Lactic acid
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Penicillin G
<i>Propionibacterium</i> sp.	Vitamin B12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ethanol
<i>Streptomyces tendae</i>	Nikkomycin

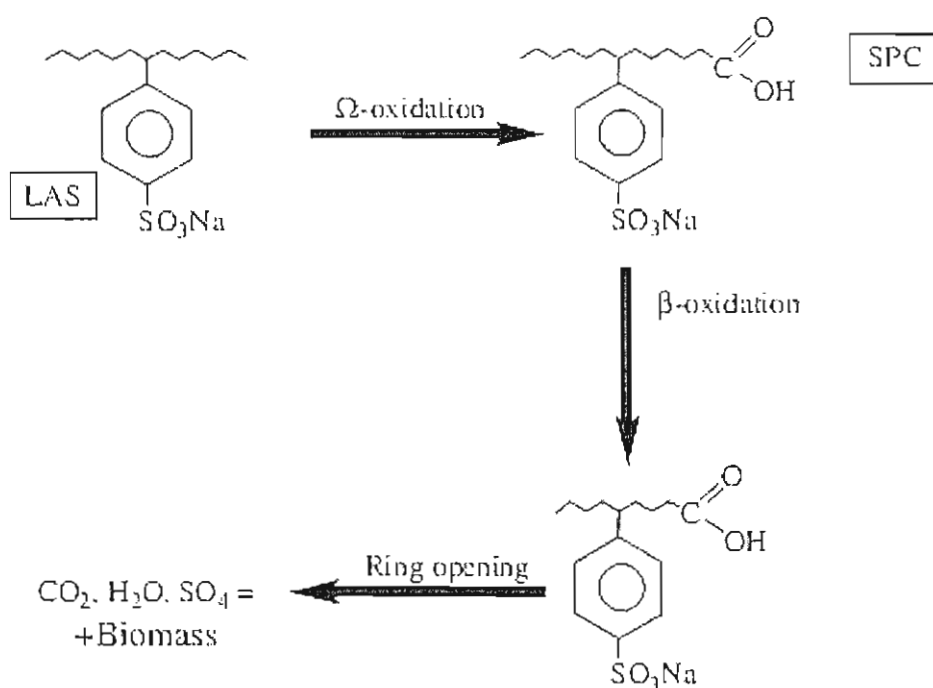
การตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้มีข้อดีหลายประการคือ ทำได้ง่ายภายใต้สภาวะปกติ สะดวกและรวดเร็ว ดังนั้นจึงนิยมใช้กับเซลล์ที่มีชีวิตนอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่ปลอดภัย เนื่องจากอัลจิเนทได้รับ

การยอมรับให้ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารมานานแล้วเช่นเดียวกับคาร์โบนิเจน เซลล์ที่ถูกตรึงสามารถเพิ่มจำนวนได้ภายในเจล ทำให้ใช้ได้เป็นเวลานาน ส่วนข้อเสียของการตรึงเซลล์ด้วยวิธีนี้คือ เจลจะไม่แข็งแรง เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีตัวจับแคลเซียม (Calcium-chelating agent) เช่น ฟอสเฟตและ Ethylenediaminetetra acetic acid (EDTA) ซึ่งสามารถดึง Ca^{2+} ออกจากเจลได้ หรือเมื่อมี แคทไอออน (Cation) บางชนิด เช่น Mg^{2+} หรือ K^+ ซึ่งสามารถเข้าไปแทนที่ Ca^{2+} ได้ ทำให้เจลไม่คงตัว เกิดการละลาย และเซลล์รั่วออกมาจากเจลได้

การย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ด้วยจุลินทรีย์

การย่อยสลายทางชีวภาพเป็นกระบวนการที่สำคัญในการบำบัดน้ำเสียที่เจือปนสารลดแรงตึงผิว LAS ในโรงงานบำบัดน้ำเสีย โดยกระบวนการนี้จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดสารลดแรงตึงผิวก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ ซึ่งเป็นการช่วยลดผลกระทบที่จะเกิดต่อระบบนิเวศวิทยา LAS เป็นไอโซเมอร์ผสมระหว่างอะโรมาติกซิงซ์ล ฟีนอลและลิเนียร์แอลคิลเซน ซึ่งมีอะตอมคาร์บอนอยู่ด้วย ดังนั้นจุลินทรีย์จึงสามารถใช้สารลดแรงตึงผิว LAS เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน (carbon source) เพื่อให้ในการเจริญได้ แต่ยังคงเติมธาตุอาหารอื่น ๆ เสริมเข้าไปด้วย มีปัจจัยมากมายที่มีผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพของ LAS ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลกระทบมากที่สุด ได้แก่ โครงสร้างทางเคมี สภาวะแอโรบิกและสภาวะแอนแอโรบิก เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นชนิดแอโรบิก จึงมุ่งเน้นศึกษากระบวนการนี้ ซึ่งในกระบวนการนี้จะเริ่มด้วยการเกิดปฏิกิริยา ω -oxidation ขึ้นที่ลิเนียร์แอลคิลเซน โดยเป็นกระบวนการที่ส่วนที่เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนสายยาวถูกเปลี่ยนเป็นกรดโอเมก้าคาร์บอกซี จากนั้นถูกเปลี่ยนเป็นกรดโอเมก้าคาร์บอกซิลิก (คาร์ลซ์ ฉิมภู, 2548) ทำให้เกิดเป็นสารประกอบซัลโฟฟีนิลคาร์บอกซีเลท (Sulpho phenyl carboxylate, SPCs) จากนั้นจึงเกิดปฏิกิริยา β -oxidation ซึ่งเป็นกระบวนการที่กรดไขมันถูกออกซิไดส์และเสียคาร์บอนไปเรื่อยๆ ทำให้เกิดการเสียสภาพความตึงผิวและความเป็นพิษ กลายเป็นก๊าซคาร์บอน ไดออกไซด์ น้ำ ซัลเฟอร์ ไดออกไซด์ และสารอื่น ๆ (Swisher, 1987) ซึ่งสามารถสรุปได้ดังภาพที่ 2-11

ซึ่งในปัจจุบันมีการศึกษาการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ด้วยจุลินทรีย์หลากหลายชนิด เช่น *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter braukii* และ จุลินทรีย์ที่ได้มาจากน้ำเสีย/ ตะกอนน้ำเสีย เป็นต้น ซึ่งในกลุ่มหลังนี้อาจเป็นจุลินทรีย์ชนิดเดียวหรือหลากหลายชนิดในกันแต่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิวได้



ภาพที่ 2-11 กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพของสารลดแรงตึงผิว LAS โดยจุลินทรีย์

(Swisher, 1987)

ซึ่งได้มี การศึกษาวิจัยการย่อยสลายนี้ทั้งในระบบกะและระบบการไหลต่อเนื่อง ซึ่งให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายที่แตกต่างกันตามสภาวะที่ได้ทำการศึกษา และยังมีการศึกษาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS โดยนำจุลินทรีย์ไปตรึงบนตัวรองรับ จากนั้นนำไปศึกษาในระบบเครื่องปฏิกรณ์แบบกะ เครื่องปฏิกรณ์แบบถังกวนที่มีการไหลต่อเนื่อง และเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลาง ซึ่งทั้งหมดได้ให้ผลการทดลองคือ มีประสิทธิภาพในการการย่อยสลายเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้จุลินทรีย์ที่ไม่ถูกตรึง อีกทั้งยังมีการศึกษาเพิ่มเติม โดยการให้คลื่นเสียงอัลตราโซนิค (ultrasonic) พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายขึ้นได้อีกด้วย (Dhouib, Hamad, Hassalri & Sayadi, 2003; Lijun, Bochu, Zhimin, Chuanren, Qinghong & Liu, 2005; Lima de Oliveira et al., 2009; Jangiam, Oum-in & Thongnoppakun, 2010)

จลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS

ความรู้ทางด้านจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาเป็นพื้นฐานที่สำคัญในการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ โดยจะช่วยให้ทราบถึงประสิทธิภาพในการเกิดปฏิกิริยานั้น ๆ ปฏิกิริยาทางเคมี/ชีวเคมีจะเกิดขึ้นเมื่อสารตั้งต้นหรือสารที่ทำปฏิกิริยามีการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะไปหรือมีปริมาณ

ลดลง และเกิดสารประกอบชนิดใหม่ที่มีคุณสมบัติต่างออกไป แต่เนื่องจากการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS นั้นมีความยากมาก เนื่องจากในปฏิกิริยาการย่อยสลายมีความซับซ้อนและมีหลายขั้นตอน จึงได้มีผู้คิดค้นเทคนิคการศึกษาจลนพลศาสตร์โดยการใช้ข้อมูลจากผลการทดลองมาทำนายแบบจำลองจลนพลศาสตร์โดยใช้โปรแกรมคำนวณทางคณิตศาสตร์และพบว่าแบบจำลองที่ได้นั้นสอดคล้องกับผลการทดลอง ดังเช่นมีงานวิจัยที่ได้ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS โดยใช้จุลินทรีย์ *Aerugo Pseudomonas* (ASI.860) ที่อยู่ในรูปเซลล์ที่ถูกตรึงร่วมกับการใช้คลื่นเสียงอัลตราโซนิค ซึ่งได้มีการนำเสนอแบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลาย LAS คือ $-r_v = \frac{-r_{s,max}S}{k_v + S}$ ซึ่งมีความแม่นยำสูงและสอดคล้องกับผลการทดลอง ซึ่งเป็นการดัดแปลงมาจากแบบจำลองการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของ Monod's (Lijun, Bochu, Qinghong & Liu, 2005)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ขวดขนาด 250, 1000 มิลลิลิตร
2. เครื่องกรองที่มีกระดาษกรองรูพรุนขนาด 0.45 ไมครอน
3. เครื่องกวนผสมสาร
4. เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ
5. เครื่องชั่งสาร
6. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ
7. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน
8. เครื่องวัดแรงดึงผิวของของเหลว
9. จานเพาะเชื้อ
10. ตะเกียงแอลกอฮอล์
11. ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ
12. ตู้ปลอดเชื้อ
13. ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส
14. บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
15. ปิเปต
16. ฟลasks ขนาด 250 มิลลิลิตร
17. หลอดเซนตริฟิวส์ขนาด 50 มิลลิลิตร
18. หลอดไมโครเซนตริฟิวส์
19. หัวเข็มเชื้อ
20. กรดไฮโดรคลอริก
21. กลูโคส
22. แคลเซียมคลอไรด์
23. แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต
24. แคลเซียมคาร์บอเนต
25. โซเดียมคลอไรด์

26. โซเดียมอัลจินเทต
27. โซเดียมไฮดรอกไซด์
28. ไคโทแซตเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต
29. น้ำกลั่น
30. เปปโตน
31. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต
32. เฟอร์ริกคลอไรด์
33. แมกนีเซียมซัลเฟตไฮเดรต
34. ยีสต์เอกซ์แทรกซ์
35. ไข่ขาว
36. สารลดแรงตึงผิวลิเนียร์อัลคิลเบนซีนซัลโฟเนต
37. อะซิโตน
38. แอมโมเนียมซัลเฟต

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 ได้จากการแยกเชื้อที่อยู่ในบ่อบำบัดน้ำเสียในโรงงานของบริษัท ไล้ออน (ประเทศไทย) จำกัด

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15

1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ LB Agar

ชั่งสารต่อไปนี้ใส่ลงในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร

เปปโตน	2	กรัม
ยีสต์ เอกซ์แทรกซ์	1	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	1	กรัม
ไข่ขาว	3	กรัม

เติมน้ำกลั่นลงไป 200 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ

121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.2 การเพาะเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 (เทคนิคปลอดเชื้อ)

1.2.1 เทอาหาร LB Agar ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ

1.2.2 รอกอาหารในจานเพาะเชื้อเย็นลงและแข็งตัว

1.2.3 นำหลอดเก็บเชื้อเพื่อใช้ ออกมาจากตู้เย็น -80 องศาเซลเซียส

1.2.4 นำหัวเข็มเชื้อจุ่มลงไป ในหลอดเก็บเชื้อเพื่อใช้แค่หัวเข็ม จากนั้นนำไป
เกลี่ย (streak) ลงบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้

1.2.5 วางจานเพาะเชื้อให้กั้นจานอยู่ด้านบนในตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิที่ 37
องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง

1.2.6 นำจานเพาะเชื้อออกจากตู้ จะสังเกตเห็นว่าเกิดเชื้อขึ้นเป็น โค โกลนี

1.2.7 นำเชื้อที่ได้ไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป หรือหุ้มจานเพาะเชื้อด้วยพาราฟิล์ม
แล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บไว้ใช้ต่อไป

2. ศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ

2.1 เตรียมสารละลายเพื่อใช้สารลดแรงตึงผิว LAS

ชั่งสารลดแรงตึงผิว LAS (%AI 42.1) 47.5 กรัม ใส่ลงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 100 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวน ผสมสาร จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (ความเข้มข้นของสารละลายเพื่อใช้ สารลดแรงตึงผิว LAS เท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร)

2.2 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ

2.2.1 LB medium

เปปโตน	10	กรัม
ยีสต์ เอ็กซ์แทรกซ์	5	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	5	กรัม
เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร		

2.2.2 Define medium (Dhouib et al., 2003)

โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	420	มิลลิกรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต	375	มิลลิกรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	244	มิลลิกรัม
แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต	39.73	มิลลิกรัม
โซเดียมคลอไรด์	30	มิลลิกรัม

แมกนีเซียมซัลเฟตไฮเดรต	30	มิลลิกรัม
เฟอร์ริกคลอไรด์	3	มิลลิกรัม

ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ผสมให้เข้ากันจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

2.2.3 Synthetic medium

แบ่งสารละลาย Define medium ที่เตรียมไว้มา 200 มิลลิลิตร ชั่งกลูโคส ใส่ลงไป 0.2 กรัม จากนั้นผสมให้เข้ากันจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งความเข้มข้นของกลูโคสคือ 1 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีงานวิจัยรายงานว่า การเติมกลูโคส ลงไปจะช่วยให้จุลินทรีย์เจริญได้ดีขึ้น เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถนำกลูโคส มาใช้เป็นพลังงานได้ง่าย (El-Naas et al., 2009)

2.3 เพาะเชื้อเริ่มต้น (starter) ของจุลินทรีย์ AOS-15

2.3.1 เชื้อเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 โคโลนีเดี่ยว ที่ได้จากข้อ 1.2 ใส่ลงในหลอด ทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ LB medium ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้จาก ข้อ 2.2

2.3.2 นำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 175 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง

2.3.3 นำหลอดทดลองออกมาจากเครื่อง จะสังเกตเห็นว่าอาหารขุ่นมากขึ้นเมื่อ เทียบกับตอนเริ่มต้น

2.3.4 นำเชื้อที่ได้ไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2.4 ทดสอบการเจริญของจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

2.4.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ทำเช่นนี้กับอาหารทั้ง 3 ชนิด

2.4.2 ปิเปตเชื้อเริ่มต้นที่ได้จากข้อ 2.3 ลงไปในแต่ละพลาสติก ๆ ละ 1 มิลลิลิตร (1% inoculum)

2.4.3 นำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 175 รอบต่อนาที

2.4.4 เก็บตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ($O.D_{600}$) ทุก ๆ 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้อาหารเลี้ยง เชื้อเริ่มต้นของตัวอย่างนั้น ๆ เป็นตัวทดสอบไร้สิ่งตัวอย่าง (Blank)

2.4.5 ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2.4.1-2.4.4 อีก 2 ครั้ง

2.4.6 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเขียนกราฟเทียบกับเวลา เพื่อประมาณค่า

หาช่วงที่จุลินทรีย์ AOS-15 เจริญได้ดีที่สุด (Logarithmic phase) และ
คำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะในอาหารเลี้ยงแต่ละชนิด

3. ศึกษาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) ของสารลดแรงตึงผิว LAS ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium

3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานของสารลดแรงตึงผิว LAS ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium

3.1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium (ตามวิธีในข้อ 2.2) ปริมาตร 50
มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายเพื่อใช้สารลดแรงตึงผิว LAS ลงไป 0.25 มิลลิลิตร
(ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว LAS เท่ากับ 1 กรัมต่อลิตร)

3.1.2 เจือจางสารละลายจากข้อ 3.1.1 ให้มีความเข้มข้น 1, 0.50, 0.25, 0.10, 0.05,
0.01 และ 0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3.2 วัดแรงตึงผิวด้วยเครื่อง Tensiometer

3.2.1 ปรับอุณหภูมิสารละลายให้อยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส

3.2.2 ล้างหัวหลอดนิ้ม (จุด C ในภาพที่ 3.1) ด้วยอะซิโตน จากนั้นนำหัว
หลอดนิ้มไปแขวนที่ตะขอ (จุด B)

3.2.3 เทตัวอย่างสารลดแรงตึงผิวที่ต้องการวัดค่าความตึงผิวลงในจานแก้ว (plate)
ที่สะอาดปริมาตร 50 มิลลิลิตร (จุด D) แล้ววางบนแท่นวาง (จุด E)

3.2.4 หมุนป้อนวัดแรงตึงผิว (จุด G) ให้อยู่ที่สเกลศูนย์

3.2.5 หมุนสกรู (จุด F) ขึ้นจนหัวหลอดนิ้มแตะที่ผิวของเหลว โดยให้กาน (จุด A)
อยู่ในตำแหน่งสมดุล

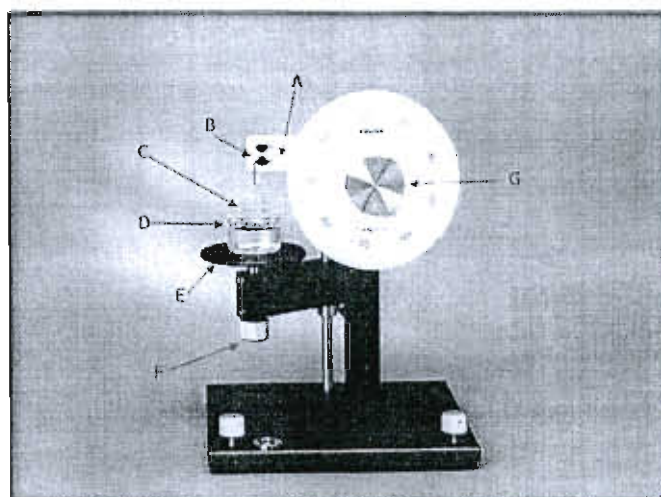
3.2.6 หมุนป้อนวัดแรงตึงผิว (จุด G) อย่างช้า ๆ จนกระทั่งฟิล์มของของเหลวแตก

3.2.7 อ่านค่าความตึงผิวจากสเกล โดยมีหน่วยเป็น mN/m

3.2.8 ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้งเพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลอง

3.2.9 นำข้อมูลที่ได้นมาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตึงผิวกับ
ความเข้มข้นของสารละลาย

3.2.10 หาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ของสารละลายนี้



ภาพที่ 3-1 การใช้เครื่องวัดค่าความตึงผิวของของเหลว Tensiometer

4. ศึกษากราฟมาตรฐาน (Standard Curve) ของสารลดแรงตึงผิว LAS ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium

4.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานของสารลดแรงตึงผิว LAS ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium

เตรียมสารละลายมาตรฐานตามขั้นตอนในข้อ 3.1 แต่ให้ความเข้มข้น 0.10, 0.08, 0.06, 0.04, 0.02 และ 0.01 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

4.2 วัดแรงตึงผิวด้วยเครื่อง Tensiometer

ทำตามขั้นตอนในข้อ 3.2

5. ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกัน

5.1 เเพาะเชื้อเริ่มต้นของจุลินทรีย์ AOS-15 (ตามวิธีในข้อ 2.3)

5.2 เตรียมสารละลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium

5.2.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จำนวน 3 ฟลาस्क ปิเปตสารละลายเพื่อให้สารลดแรงตึงผิว LAS ลงไป 0.75, 1.5 และ 2.5 มิลลิลิตรตามลำดับ (ความเข้มข้นสุดท้ายของสารลดแรงตึงผิว LAS เท่ากับ 1.5, 3 และ 5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) ปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 7 จากนั้นนำไปนิ่งมาเชื้อ

5.3 เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 ที่ใช้ในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS

5.3.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ LB medium ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงในพลาสติก ขนาด 1 ลิตร จำนวน 3 พลาสติก

5.3.2 ปิเปตเชื้อเริ่มต้นที่ได้จากข้อ 5.1 ลงไปในแต่ละพลาสติก ๆ ละ 2.5 มิลลิลิตร

5.3.3 นำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 175 รอบต่อนาที

5.3.4 เก็บตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่า 1.8-2.0 (ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ LB medium เป็นตัวทดสอบไว้สิ่งตัวอย่าง

5.3.5 นำเชื้อที่ได้ไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

5.4 ทดสอบการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS

5.4.1 เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 จากข้อ 5.3 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด เชนทรีฟิวจขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 6 หลอด

5.4.2 นำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 5,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

5.4.3 เทส่วนใสทิ้งให้หมด

5.4.4 ทำซ้ำจนได้ปริมาณเซลล์ที่ต้องการ

5.4.5 ชั่งเซลล์ที่ตกตะกอนน้ำหนัก 0.6 กรัม นำไปใส่ในพลาสติกอาหารที่ได้จากข้อ 5.2 ทั้ง 3 พลาสติก

5.4.6 นำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 175 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร ทุก ๆ 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ต่อไป

5.5 วิเคราะห์ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว LAS ที่เหลืออยู่

5.5.1 นำตัวอย่างที่ได้จากข้อ 5.4.6 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากัน

5.5.2 นำไปวัดแรงตึงผิวด้วยเครื่อง Tensiometer

6. ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ค่าพีเอชต่างกัน

6.1 เตรียมสารละลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium

6.1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จำนวน 4 พลาสติก ปิเปตสารละลายเพื่อใช้สารลดแรงตึงผิว LAS ลงไป 1.5 มิลลิลิตร

(ความเข้มข้นสุดท้ายของสารลดแรงตึงผิว LAS เท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร)

ปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 6, 7, 8 และ 9 ตามลำดับ จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

6.2 เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 ที่ใช้ในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS (ตามวิธีในข้อ 5.3)

6.3 ทดสอบการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS

6.3.1 เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 จากข้อ 6.2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 6 หลอด

6.3.2 นำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 5,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

6.3.3 เทส่วนใสทิ้งให้หมด

6.3.4 ทำซ้ำจนได้ปริมาณเซลล์ที่ต้องการ

6.3.5 ชั่งเซลล์ที่ตกตะกอนน้ำหนัก 1.5 กรัม นำไปใส่ในพลาสติกอาหารที่ได้จากข้อ 6.1 ทั้ง 4 พลาสติก

6.3.6 นำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 175 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร ทุก ๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ต่อไป

6.4 วิเคราะห์ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว LAS ที่เหลืออยู่ (ตามวิธีในข้อ 5.5)

7. ศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ปริมาณเซลล์จุลินทรีย์

ต่างกัน

7.1 เตรียมสารละลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium

7.1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จำนวน 7 พลาสติก ปิเปิดสารละลายเพื่อให้สารลดแรงตึงผิว LAS ลงไป 1.5 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นสุดท้ายของสารลดแรงตึงผิว LAS เท่ากับ 3.0 กรัมต่อลิตร) ปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 7 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

7.2 เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 ที่ใช้ในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS (ตามวิธีในข้อ 5.3)

7.3 ทดสอบการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS

7.3.1 เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 จากข้อ 7.2 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์ขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 6 หลอด

7.3.2 นำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 5,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

7.3.3 เทส่วนใสทิ้งให้หมด

7.3.4 ทำซ้ำจนได้ปริมาณเซลล์ที่ต้องการ

7.3.5 ชั่งเซลล์ที่ตกตะกอนน้ำหนัก 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, 1.8, 2.1 และ 2.4 กรัม ตามลำดับ นำไปใส่ในพลาสติกอาหารที่ได้จากข้อ 7.1 ทั้ง 7 พลาสติก

7.3.6 นำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 175 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร ทุก ๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ต่อไป

7.4 วิเคราะห์ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว LAS ที่เหลืออยู่ (ตามวิธีในข้อ 5.5)

8. ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบกะ และทำนายแบบจำลองโดยใช้โปรแกรม POLYMATH™

นำผลการทดลองที่ได้การศึกษาศามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ กันจากข้อที่ 5 มาคำนวณอัตราการย่อยสลาย LAS และนำค่าที่ได้ไปทำนายแบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลาย LAS ด้วยโปรแกรม POLYMATH™ เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลาย LAS ในสภาวะความเข้มข้นเริ่มต้น 1.5 ถึง 5 กรัมต่อลิตร ค่าพีเอชเท่ากับ 7 โดยใช้ปริมาณเซลล์ 2.1 กรัม

9. ตรึงจุลินทรีย์ AOS-15 บนตัวรองรับแคลเซียมอัลจิเนทเจล (calcium alginate gel)

9.1 เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 ที่ใช้ในการตรึงบนตัวรองรับ (ตามวิธีในข้อ 5.3)

9.2 ตรึงจุลินทรีย์บนตัวรองรับ

9.2.1 เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 จากข้อ 9.1 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด เชนตริฟิวซ์ขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 6 หลอด

9.2.2 นำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็วรอบ 5,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

9.2.3 เทส่วนใสทิ้งให้หมด

9.2.4 ทำซ้ำจนได้ปริมาณเซลล์ที่ต้องการ

9.2.5 ชั่งเซลล์ที่ตกตะกอนน้ำหนัก 2 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร

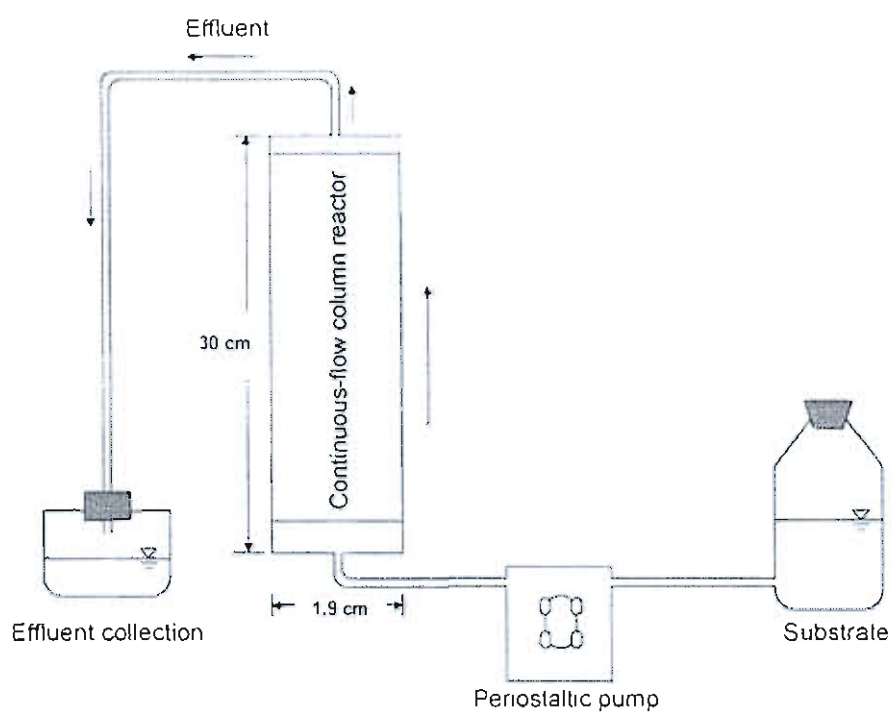
9.2.6 ชั่งสาร โซเดียมอัลจิเนท 3 กรัม (3% (w/v)) และแคลเซียมคาร์บอเนต 3 กรัม (3% (w/v)) ใส่ลงในบีกเกอร์ข้อ 9.2.5 จากนั้นเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

- 9.2.7 ชั่งสารแคลเซียมคลอไรด์ 0.4 กรัม (4% (w/v)) ใส่ลงในบีกเกอร์อีกใบ จากนั้นเติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
- 9.2.8 ป้อนสารละลายจากข้อ 9.2.7 โดยใช้ Peristaltic pump ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีการกวนอย่างเบา ๆ
- 9.2.9 นำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 9.2.10 นำไปกรองเอาสารละลายออก จากนั้นเติม Synthetic medium ปริมาตร 200 มิลลิลิตรลงไป
- 9.2.11 นำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 175 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- 9.2.12 นำไปกรองเอาสารละลายออกให้เหลือแต่เม็ดยูลินทรีซ์
- 9.2.13 ตรวจสอบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเม็ดยูลินทรีซ์ และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

10. ออกแบบและสร้างเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง (Pack-Bed Reactor, PBR) เพื่อศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบการไหลแบบต่อเนื่อง

เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ PBR มีลักษณะเป็นคอลัมน์ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 1.9 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร ปริมาตรสุทธิ 85 มิลลิลิตร ภายในเป็นที่บรรจุเม็ดยูลินทรีซ์ AOS-15 โดยมีลักษณะการไหลจากด้านล่างขึ้นด้านบน (Up-Flow) และมีระบบเติมอากาศที่สารตั้งต้นขาเข้า ดังภาพที่ 3-2 นอกจากนี้ยังมี Water jacket ควบคุมอุณหภูมิภายในเครื่องปฏิกรณ์ให้อยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส

จากนั้นทำการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS โดยการดำเนินระบบที่สภาวะความเข้มข้นเริ่มต้นของ LAS เท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร ค่าพีเอชเท่ากับ 7 และปริมาณเซลล์ต่อปริมาณตัวรองรับเท่ากับ 0.02 กรัม/ มิลลิลิตร โดยทำการบรรจุเม็ดยูลินทรีซ์ AOS-15 จนเต็มคอลัมน์ และป้อนสารอาหาร Synthetic medium เข้าไปในคอลัมน์จนเต็มความจุ จากนั้นจึงทำการปั้มน้ำเสียสังเคราะห์เข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ด้วยอัตราการไหล 0.06 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งเท่ากับระยะเวลาพักทางชลศาสตร์ 24 ชั่วโมง หลังจากผ่านไป 24 ชั่วโมงจึงเริ่มเก็บตัวอย่าง และนำไปวิเคราะห์ปริมาณ LAS ที่เหลืออยู่ โดยเก็บตัวอย่างทุก ๆ 4 ชั่วโมง ไปจนกว่าเม็ดยูลินทรีซ์จะเสื่อมประสิทธิภาพในการย่อยสลาย



ภาพที่ 3.2 โคอะแกรมของระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพที่ได้รับการออกแบบ

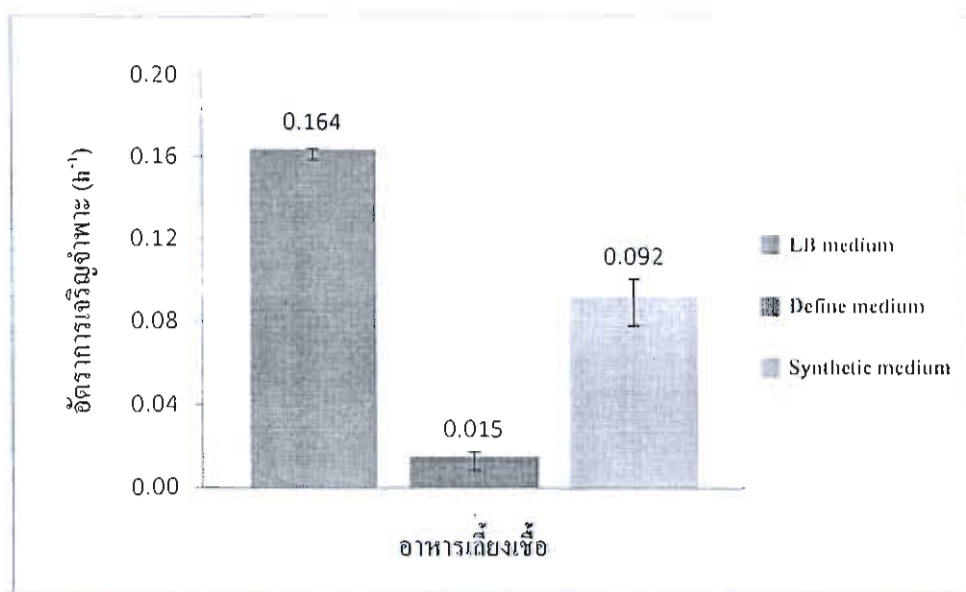
บทที่ 4

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ

การศึกษากการเจริญของจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาอาหารชนิดอื่นที่จุลินทรีย์สามารถเจริญได้นอกจาก LB medium ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีราคาแพง ไม่เหมาะสมหากจะนำไปประยุกต์ใช้กับการทดลองที่มีขนาดใหญ่ซึ่งต้องใช้อาหารในปริมาณมาก และตัวอาหารเองมีลักษณะเป็นสีเหลืองซึ่งเป็นอนุภาคของสารอินทรีย์ซึ่งจะทำให้เกิดการสะสมและอุดตันในเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึงได้ จึงได้ทำการศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะใสไม่มีสี ซึ่ง ได้แก่ Define medium ซึ่ง ได้มีงานวิจัยได้รายงานว่าสามารถใช้ในการศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพของสารลดแรงตึงผิวประจุลบได้ (Dhouib et al., 2003) และอาหารเลี้ยงเชื้ออีกชนิดคือ Synthetic medium ซึ่งเป็นการปรับปรุงอาหาร Define medium โดยการเติมกลูโคสลงไปด้วยความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร โดยมีการรายงานถึงการใส่สารละลายกลูโคสในการปรับสภาพจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการย่อยสลายสารฟีนอล เพื่อให้จุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้ดี (El-Naas et al., 2009)

จากผลการทดลองเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารทั้ง 3 ชนิด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร พบว่าอัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ในช่วงการเจริญสูงสุด เท่ากับ 0.164, 0.092 และ 0.015 ซึ่งได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ LB medium Synthetic medium และ Define medium ตามลำดับ ดังภาพที่ 4-1 จะเห็นได้ว่าอัตราการเจริญจำเพาะของ AOS-15 ในอาหาร Define medium ต่ำกว่าในอาหาร LB medium ถึง 10 เท่า ในขณะที่จุลินทรีย์ที่ถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium จะมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงกว่าใน Define medium

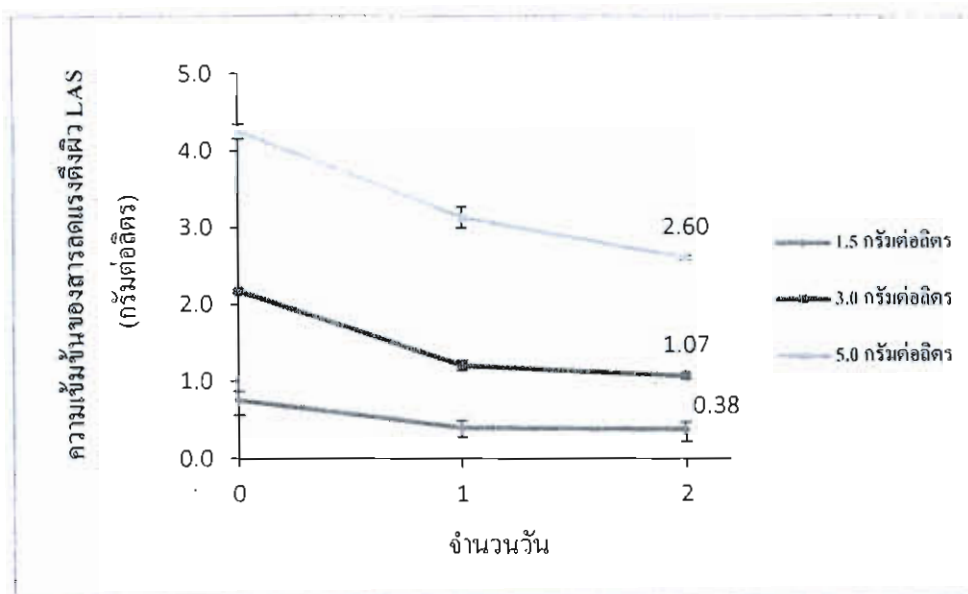


ภาพที่ 4-1 อัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ

ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกัน

จากผลการศึกษาความเข้มข้นเริ่มต้นในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7 และใช้ปริมาณเซลล์ 0.6 กรัม เป็นเวลา 2 วัน พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นให้มากขึ้นประสิทธิภาพในการย่อยสลายจะลดลง โดยที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 1.5 กรัมต่อลิตร หลังจากผ่านการทดลองปริมาณ LAS เหลืออยู่ 0.38 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นการย่อยสลายร้อยละ 67.92 ในขณะที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของ LAS เท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร ปริมาณ LAS เหลืออยู่ 1.07 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นการย่อยสลายร้อยละ 65.35 และที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 5 กรัมต่อลิตร หลังจากการทดลองปริมาณ LAS เหลืออยู่ 2.60 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นการย่อยสลายร้อยละ 46.31 ดังภาพที่ 4-2

จากผลการทดสอบสามารถบ่งชี้ได้ว่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว LAS ที่เหมาะสมจะใช้ในการทดลองขั้นต่อไปคือ 3 กรัมต่อลิตร เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงใกล้เคียงกับที่ความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร แต่มีความสามารถในการย่อยสลาย LAS ได้สูงกว่า ในขณะที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 5 กรัมต่อลิตรนั้นไม่เหมาะสมเนื่องจากมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายต่ำที่สุด

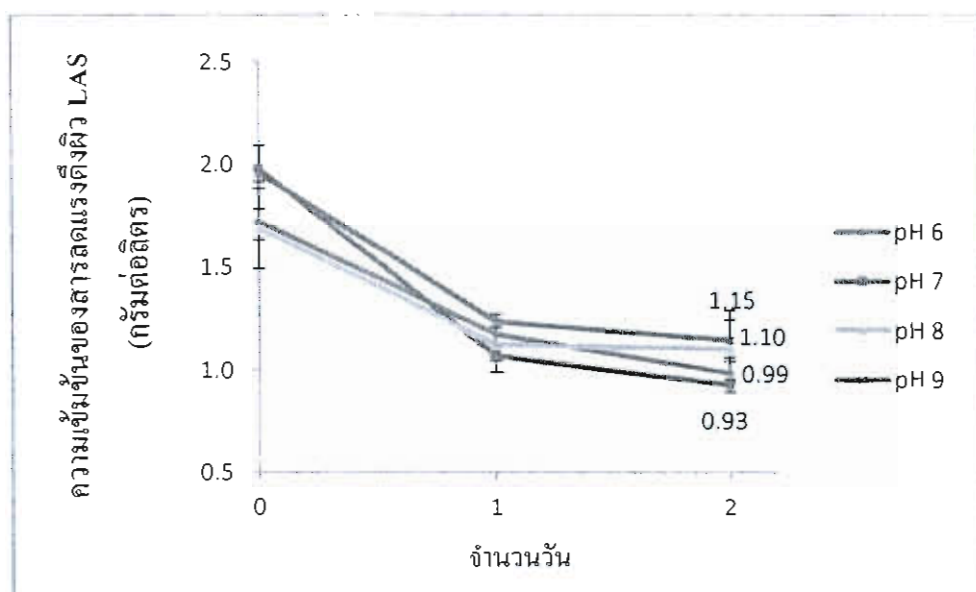


ภาพที่ 4-2 ความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกัน

ผลการศึกษาศักยภาพในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ค่าพีเอชต่างกัน

ผลการศึกษาค่าพีเอช ที่เหมาะสมในการในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS โดย จุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium ที่ความเข้มข้นของ LAS เริ่มต้นเท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร และใช้ปริมาณเซลล์ 1.5 กรัม เป็นเวลา 2 วัน พบว่าที่ค่าพีเอชทั้ง 4 ค่าให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายต่างกันเล็กน้อย โดยที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7 ให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงที่สุด โดยเหลือความเข้มข้น LAS หลังการทดลอง 0.93 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นการย่อยสลายร้อยละ 68.24 ในขณะที่ค่าพีเอช 6, 8 และ 9 ให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายรองลงมา โดยเหลือความเข้มข้น LAS หลังการทดลอง 0.99, 1.10 และ 1.15 ซึ่งคิดเป็นการย่อยสลายร้อยละ 66.27, 64.80 และ 59.02 ตามลำดับ ดังภาพที่ 4-3

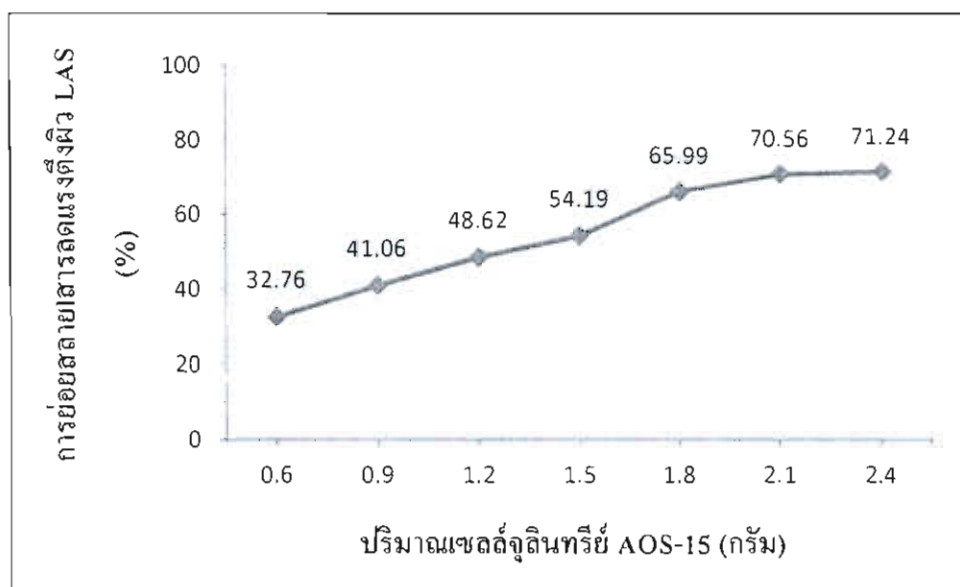
จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าพีเอชที่ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลาย LAS สูงที่สุดคือค่าพีเอชเท่ากับ 7 ซึ่งจะใช้เป็นค่าเริ่มต้นในการทดลองต่อ ๆ ไป



ภาพที่ 4-3 ความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ค่าพีเอชต่างกัน

ผลการศึกษาศามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ปริมาณเซลล์ จุลินทรีย์ต่างกัน

ในขั้นตอนนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ AOS-15 ที่มีเหมาะสมในการย่อยสลาย LAS โดยกำหนดให้ปริมาณเซลล์เปียกเท่ากับ 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, 1.8, 2.1 และ 2.4 กรัม ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของ LAS เท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร ค่าพีเอชเท่ากับ 7 ในการย่อยสลายเป็นเวลา 2 วัน ซึ่งพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณเซลล์มากขึ้น ประสิทธิภาพในการย่อยสลายจะเพิ่มสูงขึ้นด้วยตามลำดับ โดยที่ปริมาณเซลล์ 2.1 กรัมให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงถึงร้อยละ 70.56 ในขณะที่เพิ่มปริมาณเซลล์เป็น 2.4 กรัมประสิทธิภาพในการย่อยสลายเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 71.24 ซึ่งเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ดังนั้นปริมาณเซลล์ที่เหมาะสมคือ 2.1 กรัม ซึ่งคิดเป็นปริมาณเซลล์ดังภาพที่ 4-4



ภาพที่ 4-4 ประสิทธิภาพการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ปริมาณเซลล์ต่างกัน

ผลการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบกะ และทำนายแบบจำลองโดยใช้โปรแกรม POLYMATH™

หลังจากนำผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 1.5, 3 และ 5 กรัมต่อลิตร มาคำนวณอัตราการย่อยสลายของแต่ละความเข้มข้น ภายหลังจากการย่อยสลายผ่านไป 48 ชั่วโมง ได้ข้อมูลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 อัตราการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS โดยจุลินทรีย์ AOS-15 ที่ในระบบกะ

ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว LAS (กรัมต่อลิตร)	อัตราการย่อยสลาย (กรัมต่อลิตร-ชั่วโมง)
1.5	0.0344
3	0.0229
5	0.0077

จากนั้นจึงทำนายแบบจำลองจลนพลศาสตร์ (Regression) ของการย่อยสลายนี้โดยใช้โปรแกรม POLYMATH™ ซึ่งเป็นการหาความสัมพันธ์ระหว่างผลการทดลองกับตัวแปรในแบบจำลอง จลนพลศาสตร์ที่มาจากทฤษฎี เพื่อให้ได้แบบจำลองที่มีความเฉพาะเจาะจงกับงานวิจัยนี้และยัง

สามารถนำไปใช้ในการออกแบบเครื่องปฏิกรณ์ในขนาดได้อีกด้วย โดยที่งานวิจัยนี้จะใช้แบบจำลองจลนพลศาสตร์

$$-r_s = \frac{-r_{s,max}S}{K_s+S} \quad (1)$$

โดยที่	$-r_s$	คือ อัตราการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS (กรัมต่อลิตร-ชั่วโมง)
	$-r_{s,max}$	คือ อัตราการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS สูงสุด (กรัมต่อลิตร-ชั่วโมง)
	s	คือ ความเข้มข้นของ LAS (กรัมต่อลิตร)
	K_s	คือ ความเข้มข้นที่ทำให้อัตราการย่อยสลาย LAS เป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการย่อยสลายสูงสุด (กรัมต่อลิตร)

ซึ่งเป็นแบบจำลองที่ดัดแปลงมาจากแบบจำลอง Monod's ซึ่งถูกนำมาพิจารณาในทอมของการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS มีการพิจารณาความเป็นพิษของสารตั้งต้นที่ส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Lijun et al., 2005)

ขั้นตอนที่ใช้โปรแกรม POLYMATH™ ในการทำนายแบบจำลองได้แสดงไว้ในภาคผนวกง ผลจากการคำนวณแสดงให้เห็นการถึงสมการจลนพลศาสตร์ คือ

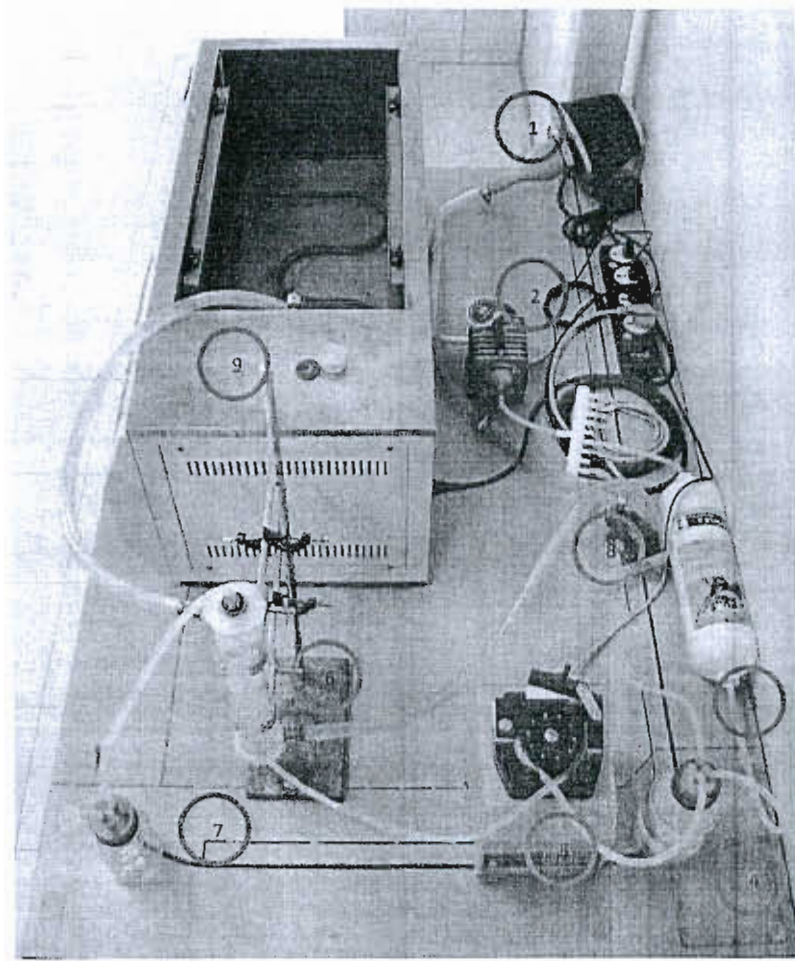
$$-r_s = \frac{0.0540s}{4.0299+s} \quad (2)$$

ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R square, R²) เท่ากับ 0.80 ดังนั้นสมการที่ 2 นี้เป็นแบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ด้วยจุลินทรีย์ AOS-15 ในการทดลองแบบกะที่สถานะความเข้มข้นเริ่มต้น 1.5 ถึง 5 กรัมต่อลิตร ค่าพีเอชเท่ากับ 7 และใช้ปริมาตรเซลล์จุลินทรีย์ 2.1 กรัม

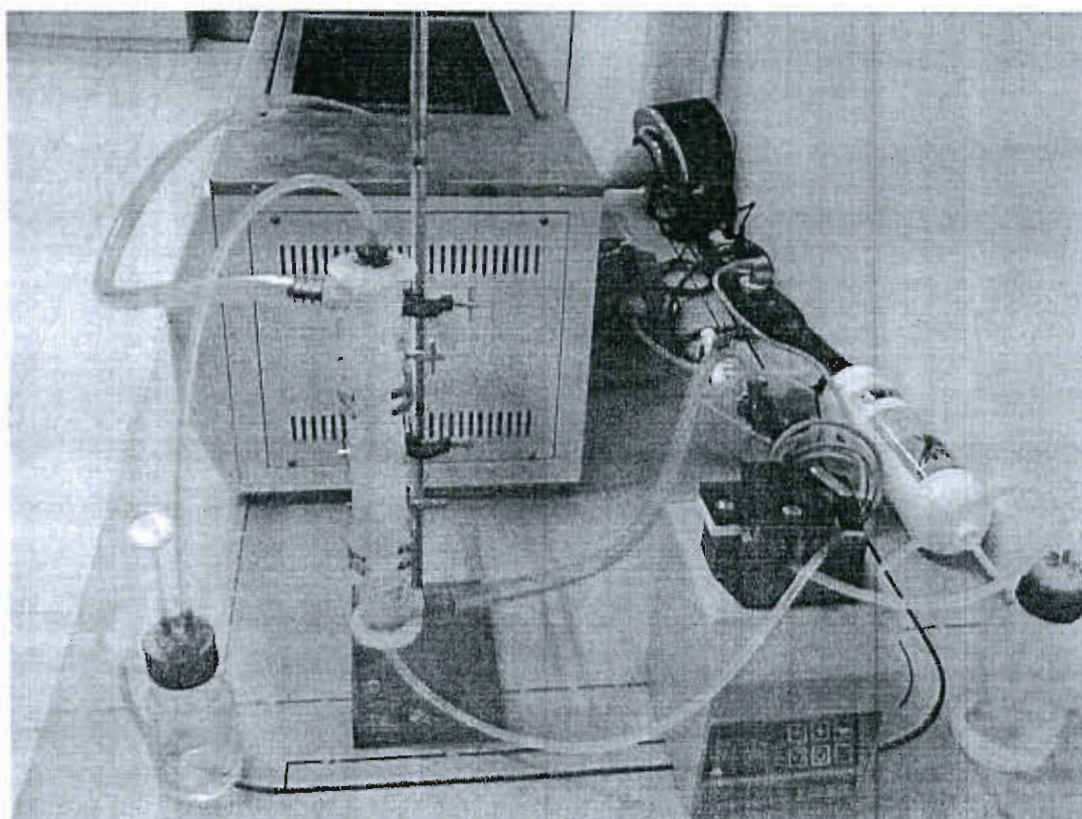
การสร้างเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง (Pack-Bed Reactor) เพื่อการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบการไหลแบบต่อเนื่อง

ระบบเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง (PBR) ที่ได้สร้างขึ้นนี้มีส่วนประกอบหลัก ๆ 3 ส่วนคือ ระบบเติมอากาศให้สารตั้งต้น ระบบเครื่องปฏิกรณ์ซึ่งมีการนำสารตั้งต้นเข้า-ออก และระบบควบคุมอุณหภูมิ โดยมีรายละเอียดดังนี้ (ภาพที่ 4-5 และ 4-6)

1. กรองอากาศ (กรองหยาบ) เพื่อการกรองฝุ่นผงที่อยู่ในอากาศ ก่อนเข้าสู่ระบบ
2. ปั่นอัดอากาศ
3. กรองอากาศ (กรองละเอียด) ใช้ได้กรอง Ethylene oxide และกรองผ่าน Syringe filter ที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมครอน เพื่อกรองเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ออกให้ได้อากาศที่มีความบริสุทธิ์ ก่อนเข้าสู่สารตั้งต้น
4. ภาชนะเก็บสารตั้งต้น
5. Peristaltic pump
6. เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง มีลักษณะเป็นคอลัมน์ปริมาตรสุทธิ 85 มิลลิลิตร สารตั้งต้นไหลจากด้านล่างสู่ด้านบน (Up-flow) ไปสู่ภาชนะเก็บตัวอย่าง และยังมีระบบ Water jacket ที่มีลักษณะเป็นคอลัมน์อีกชั้นซ้อนกันอยู่ เพื่อใช้ในการควบคุมอุณหภูมิ
7. ภาชนะเก็บตัวอย่าง
8. ปั่นน้ำ เพื่อใช้ในการเวียนน้ำจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิเข้าสู่ Water jacket
9. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ



ภาพที่ 4-5 ระบบเครื่องอิเล็กทรอนิกส์แบบท่อ โวลท์ที่มีตัวกลางตรง (1)



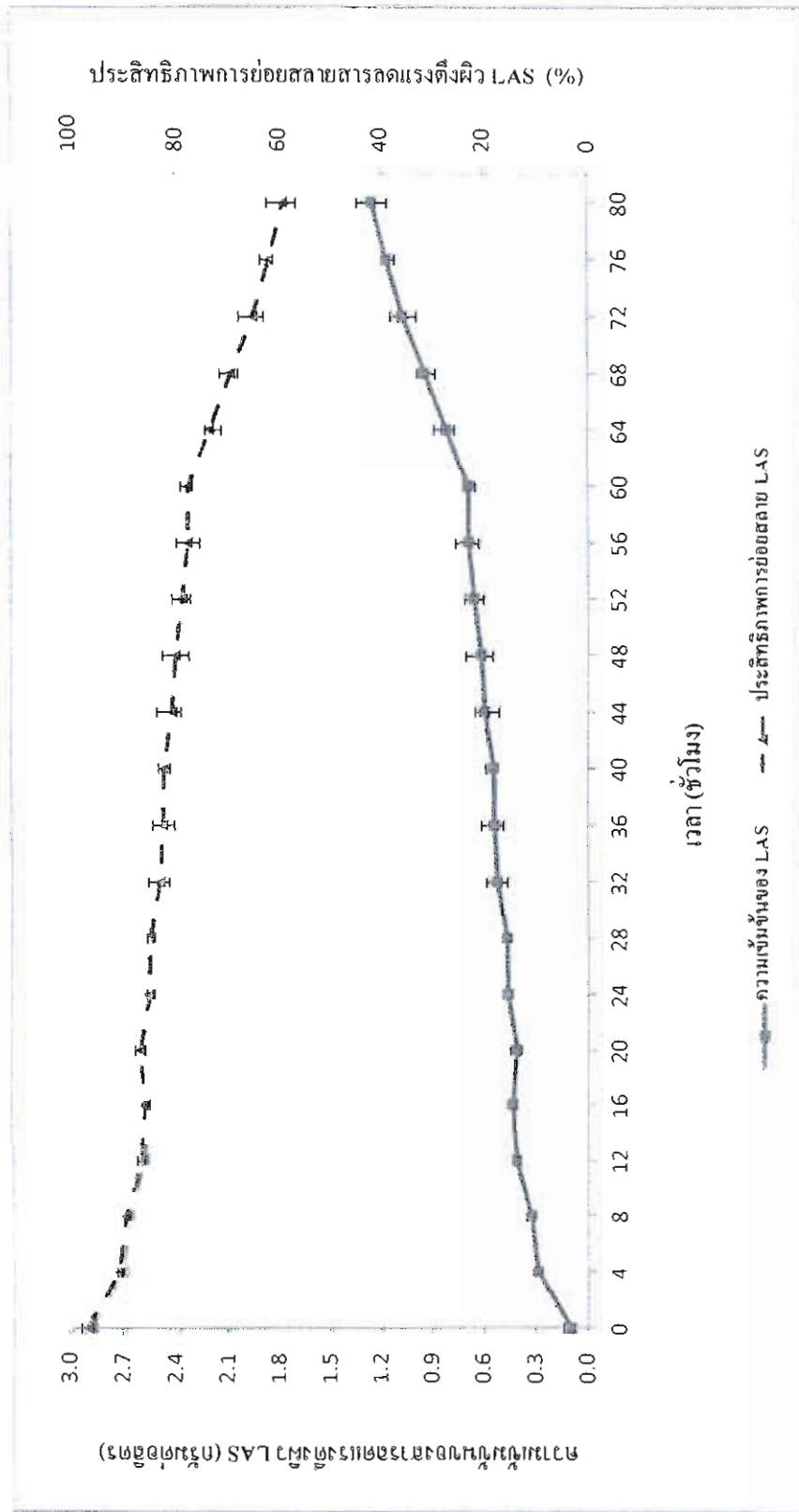
ภาพที่ 4-6 ระบบเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง (2)

ผลการศึกษาการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง

การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสารพิษด้วยการย่อยสลายทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์นั้นมีความสำคัญและถูกใช้งานมาเป็นระยะเวลานานแล้ว ซึ่งเป็นวิธีที่ประหยัดและที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดสารปนเปื้อน แต่ยังมีข้อด้อยคือการใช้เซลล์ในรูปอิสระซึ่งหลังจากการย่อยสลายจะสูญเสียเซลล์ไปหรือต้องเสียค่าใช้จ่ายในการแยกเซลล์ออกนำกลับมาใช้ใหม่ จนกระทั่งมีเทคโนโลยีการตรึงเซลล์จุลินทรีย์เกิดขึ้นซึ่งสามารถแก้ปัญหานี้ได้ และระบบการกำจัดสารพิษแบบต่อเนื่องได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ยิ่งไปกว่านั้นมีงานวิจัยที่ได้ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากชุมชนที่ปนเปื้อนด้วยอะซิโตน ไตรล โดยให้ระบบการย่อยสลายแบบต่อเนื่องในระดับ Pilot-scale ซึ่งมีลักษณะเป็นเครื่องปฏิกรณ์แบบคอลัมน์ที่มีตัวกลางเป็นจุลินทรีย์ที่ตรึง (Manolov, Kristina & Benoit, 2005; Chen et al., 2010)

ในงานวิจัยนี้ได้การศึกษาการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีเม็ดจุลินทรีย์ AOS-15 เป็นตัวกลางครึ่งเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของระบบการย่อยสลายทางชีวภาพ โดยสามารถทำการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ปนเปื้อน LAS ได้มากขึ้นและลดขั้นตอนในการนำเซลล์จุลินทรีย์กลับมาใช้ใหม่ โดยเม็ดจุลินทรีย์ถูกบรรจุอยู่เต็มความจุของเครื่องปฏิกรณ์ 85 มิลลิลิตร และจากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ Synthetic medium เข้าไปให้เต็มเครื่องปฏิกรณ์เพื่อเป็นสารอาหารให้กับเม็ดจุลินทรีย์ใช้ในการปรับสภาพ และเริ่มดำเนินระบบโดยการปั๊มสารตั้งต้นเข้าไปด้วยอัตราการไหล 0.06 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งจะเท่ากับระยะเวลาพักทางกลศาสตร์ 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บผลการทดลองมาวิเคราะห์และเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ LAS และประสิทธิภาพในการย่อยสลายเทียบกับเวลาดังภาพที่ 4-7

จากกราฟผลการทดลองจะเห็นได้ว่าที่เวลา 0 ชั่วโมง (ระบบดำเนินการย่อยสลายไป 24 ชั่วโมง) ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ออกจากเครื่องปฏิกรณ์เท่ากับ 0.10 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นประสิทธิภาพการย่อยสูงมากถึงร้อยละ 96.80 และระบบยังคงประสิทธิภาพในระดับที่สูงกว่าร้อยละ 80 จนถึงเวลา 48 ชั่วโมง (ระบบดำเนินการไป 72 ชั่วโมง) หลังจากนั้นประสิทธิภาพในการย่อยสลายลดลงอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งที่เวลา 60 ชั่วโมง (ระบบดำเนินการไป 84 ชั่วโมง) ความเข้มข้นของ LAS ที่ออกจากเครื่องปฏิกรณ์เท่ากับ 0.69 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นประสิทธิภาพการย่อยสลายร้อยละ 77.56 และหลังจากนั้นประสิทธิภาพของเครื่องปฏิกรณ์ลดลงอย่างมากจนกระทั่งที่เวลา 80 ชั่วโมง (ระบบดำเนินการไป 104 ชั่วโมง) ความเข้มข้นของ LAS ที่ออกจากเครื่องปฏิกรณ์เท่ากับ 1.26 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นประสิทธิภาพการย่อยสลายร้อยละ 59.23



ภาพที่ 4-7 การย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS โดยจุลินทรีย์ AOS-15 ในระบบการไหลแบบต่อเนื่อง

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผล

อภิปรายผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ศึกษาการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS โดยจุลินทรีย์ AOS-15 ที่อยู่ในรูปเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงบนแคลเซียมอัลจินเทเจลซึ่งอยู่ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ โดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและสารลดแรงตึงผิว LAS ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Khleifat (2006) ที่ใช้น้ำเสียสังเคราะห์ในลักษณะนี้ในการย่อยสลาย LAS เช่นกัน จากนั้นทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายทางชีวภาพ

ผลการทดสอบความสามารถในการเจริญของจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิด พบว่า AOS-15 สามารถเจริญในอาหาร Synthetic medium ได้ดีกว่าใน Define medium ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มกลูโคสลงไป เนื่องจากกลูโคสเป็นแหล่งพลังงานคาร์บอนที่สำคัญที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ง่าย สอดคล้องกับรายงานของ El-Naas และคณะ (2009) ซึ่งได้ใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ในการปรับสภาพจุลินทรีย์ให้พร้อมในการย่อยสลายสารอินทรีย์

จากการทดสอบความสามารถในการย่อยสลาย LAS ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้น จะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายลดลงตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Abboud และคณะ (2007) ซึ่งได้รายงานว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ LAS มากขึ้น จะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายลดลงตามลำดับ ซึ่งมีสาเหตุมาจากความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ของ LAS ยิ่งความเข้มข้นเพิ่มขึ้นสูงจะยิ่งเป็นพิษมากขึ้น โดยที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 3 กรัมต่อลิตรนั้นเหมาะสมที่สุดเนื่องจากสามารถรองรับความเข้มข้นได้สูงในขณะที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายอยู่ในระดับที่ดี (ร้อยละ 65.35)

Khleifat (2006) ได้ทำการศึกษาการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ด้วยจุลินทรีย์สองชนิดร่วมกันคือ *Pantoea agglomerans* และ *Serratia odorifera* โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้น 200-700 ppm ซึ่งพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นประสิทธิภาพในการย่อยสลายจะลดลง โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดเท่ากับ 200 ppm โดยมีประสิทธิภาพในการย่อยสลavr้อยละ 68 ภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง

ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลาย LAS ที่ค่าพีเอชต่าง ๆ ได้แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ AOS-15 ศึกษาภาพในการย่อยสลายที่ค่าพีเอช 6-9 ซึ่งมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน โดยที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7 นั้นให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงที่สุดถึงร้อยละ 66.27 ซึ่งสอดคล้องกับรายงาน

ของ Lijun และคณะ (2005) ซึ่งได้ศึกษาการย่อยสลาย LAS ด้วยจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa* พบว่าประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงในช่วงค่าพีเอช 6, 8 และ 10 แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นก็ขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ว่าสามารถเจริญได้ดีภายใต้สภาวะใด

ผลการศึกษาปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ AOS-15 ที่มีผลต่อความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ได้แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการย่อยสลายนั้นแปรผันตามปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้น โดยที่ปริมาณเซลล์ 2.1 กรัม่นั้นเหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงถึงร้อยละ 70.56 ในขณะที่การเพิ่มปริมาณเซลล์ให้มากขึ้นมีผลให้ประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยโดยจะต้องใช้ค่าใช้จ่ายและเวลาในการเตรียมเซลล์มากขึ้น สอดคล้องกับหลายงานวิจัยที่ศึกษาผลกระทบของปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ โดยพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณเซลล์จุลินทรีย์มากขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงขึ้นไปด้วย (Chen et al., 2008; Chen et al., 2010)

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลาย LAS ในระบบกะ พบว่าจุลินทรีย์ AOS-15 มีอัตราการย่อยสลาย LAS สูงในช่วง 4 ชั่วโมงแรก โดยคิดเป็นการย่อยสลวยร้อยละ 68.24 หลังจากนั้นประสิทธิภาพในการย่อยสลายเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยจนกระทั่งคงที่ที่เวลา 36 ชั่วโมง โดยคิดเป็นการย่อยสลวยร้อยละ 79.33 สาเหตุที่ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลวยคงที่นั้นมาจากความเป็นพิษของ LAS ที่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ของจุลินทรีย์ AOS-15 จึงต้องใช้วิธีการเพิ่มประสิทธิภาพโดยใช้เทคนิคการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกับเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

Khleifal (2006) ได้ทำการศึกษาการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ด้วยจุลินทรีย์ 2 ชนิดคือ *P. agglomerans* และ *S. odorifera* พบว่าเมื่อระยะเวลาในการทดลองผ่านไป ประสิทธิภาพในการย่อยสลวยจะลดลงจนคงที่ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นให้มากขึ้น ประสิทธิภาพจะลดลงจนคงที่เร็วขึ้นอีกด้วย

ผลการทำนายแบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลวยสารลดแรงตึงผิว LAS ได้แบบจำลองคือ

$$-r_s = \frac{0.0540s}{4.0299 + s}$$

ซึ่งเป็นแบบจำลองที่ใช้อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการย่อยสลวยกับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว LAS ภายใต้ที่สภาวะในการทดลองนี้ และยังมีประโยชน์ในการนำไปใช้ออกแบบระบบการย่อยสลวย LAS ในเครื่องปฏิกรณ์แบบกะที่มีขนาดใหญ่ขึ้นได้อีกด้วย

ผลการทดสอบการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในเครื่องปฏิกรณ์แบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึงเป็นเม็ดจุลินทรีย์ AOS-15 ได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการย่อยสลายในระบบต่อเนื่อง ซึ่งมีข้อดีคือสามารถทำการย่อยสลายได้อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลาอันยาวนาน โดยยังคงมีประสิทธิภาพสูงอยู่และสามารถรองรับปริมาณน้ำเสียสังเคราะห์ได้สูง ซึ่งมีสาเหตุมาจากการที่จุลินทรีย์ AOS-15 ได้รับการห่อหุ้มจากแคลเซียมอัลจิเนตเจลซึ่งเป็นตัวรองรับที่มีลักษณะเป็นรูพรุนทำให้ LAS ที่เป็นพิษนั้นค่อย ๆ แพร่เข้าไปยังจุลินทรีย์จึงทำให้ไม่ได้สัมผัสโดยตรงกับ LAS ที่มีปริมาณมากและมีความเข้มข้นสูง สอดคล้องกับรายงานของ Lijun และคณะ (2005) ซึ่งได้ศึกษาการย่อยสลาย LAS ด้วยจุลินทรีย์ *P. aeruginosa* ซึ่งพบว่าจุลินทรีย์ที่ถูกตรึงบนตัวรองรับแคลเซียมอัลจิเนตเจลมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงกว่าจุลินทรีย์ในรูปเซลล์อิสระ

จากผลการทดลองได้แสดงให้เห็นว่าระบบเครื่องปฏิกรณ์นี้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย LAS สูง โดยในช่วงเวลา 0-84 ชั่วโมง ระบบมีการย่อยสลายสูงถึงร้อยละ 80 ถึงร้อยละ 96 หลังจากนั้นลดลงตามระยะเวลาที่ดำเนินไป เนื่องจากเม็ดจุลินทรีย์เริ่มเสื่อมสภาพ

สรุปผลการวิจัย

1. อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ AOS-15 คือ Synthetic medium
2. ความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS เท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร โดยมีประสิทธิภาพการย่อยสลายร้อยละ 65.35
3. ค่าพีเอชที่ดีที่สุดในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS คือค่าพีเอช 7 โดยมีประสิทธิภาพการย่อยสลายร้อยละ 66.27
4. ปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ AOS-15 ที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS เท่ากับ 2.1 กรัม โดยมีประสิทธิภาพการย่อยสลายร้อยละ 70.56
5. จุลินทรีย์ AOS-15 สามารถย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ได้ร้อยละ 79.33 ภายในระยะเวลา 36 ชั่วโมง ในการศึกษาด้วยระบบกะ โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้น 3 กรัมต่อลิตร ค่าพีเอชเท่ากับ 7 และปริมาณเซลล์เท่ากับ 2.1 กรัม
6. แบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบกะ ได้แก่

$$-r_s = \frac{0.0540s}{4.0299 + s}$$

7. ผลการศึกษาการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบท่อไหล ที่มีตัวกลางตรึงเป็นเม็ดจุลินทรีย์ AOS-15 พบว่าระบบสามารถย่อยสลาย LAS ได้ร้อยละ 80 ถึงร้อยละ 96 ภายในระยะเวลา 0-84 ชั่วโมงของการดำเนินระบบ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรพิจารณาเลือกใช้วัสดุในการตรึงเซลล์ชนิดอื่นที่มีความคงทนกว่า เช่น โพลีไวนิลแอลกอฮอล์เจล (Polyvinil Alcohol gel, PVA) เนื่องจากในการดำเนินระบบ เครื่องปฏิกรณ์พบว่าเม็ดจุลินทรีย์ที่ใช้วัสดุอัลจินเนทเจล ได้เสียรูปทรงและเกิดการอุดตัน ทำให้ไม่มีช่องว่างให้สารตั้งต้นไหลผ่าน ระบบจึงไม่สามารถดำเนินต่อได้
2. ในการศึกษาการย่อยสลาย LAS ด้วยระบบเครื่องปฏิกรณ์ ควรมีการเพิ่มขั้นตอนการปรับสภาพจุลินทรีย์เมื่อระบบมีประสิทธิภาพการย่อยสลายลดลง โดยการหยุดให้น้ำเสียสังเคราะห์และเปลี่ยนเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว จากนั้นจึงกลับมาให้น้ำเสียสังเคราะห์อีกครั้งเพื่อดำเนินการย่อยสลายต่อไป

บรรณานุกรม

- เกรียงศักดิ์ อุดมสิน โรจน์. (2537). *วิศวกรรมสารกำจัดน้ำเสีย เล่มที่ 3*. กรุงเทพฯ: มิตรนราการพิมพ์.
- กฤษฎา อ่วมอินทร์, พรพิมล ทองทับทิม, อรทัย ทองนพคุณ และ วิทวัส แจ่มเอี่ยม. (2552). การสืบทอดจุลินทรีย์จากบ่อบำบัดน้ำเสีย เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิวของจุลินทรีย์ในบ่อบำบัดน้ำเสีย.
- ดาวลัย ฉิมภู. (2548). *ชีวเคมี*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย..
- พรเพ็ญ วีระวัฒนกันนธ์. (2548). การเกิดปฏิกิริยาเคมีในสารละลายไมเซลล์. *วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์* 19(2).
- สนใจ ศิริโชค. (2545). *จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม*. กรุงเทพฯ: ศูนย์สื่อส่งเสริม.
- Antonio, D. C. (1998). Characterization of surfactants and their biointermediates by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 794(1-2), 165-185.
- Chen, C. Y., Chen, S. C., Fingas, M., & Kao, C. M. (2010). Biodegradation of propionitrile by *Klebsiella oxytoca* immobilized in alginate and cellulose triacetate gel. *Journal of Hazardous Materials*, 177(1-3), 856-863.
- Chen, C. Y., Kao, C. M., & Chen, S. C. (2008). Application of *Klebsiella oxytoca* immobilized cells on the treatment of cyanide wastewater. *Chemosphere*, 71(1), 133-139.
- Chen, Y.-M., Lin, T.-F., Huang, C., Lin, J.-C., & Hsieh, F.-M. (2007). Degradation of phenol and TCE using suspended and chitosan-bead immobilized *Pseudomonas putida*. *Journal of Hazardous Materials*, 148(3), 660-670.
- Dehghani, M. H., Najafpoor, A. A., & Azam, K. (2010). Using sonochemical reactor for degradation of LAS from effluent of wastewater treatment plant. *Desalination*, 250(1), 82-86.
- Dhouib, A., Hamad, N., Hassaïri, I., & Sayadi, S. (2003). Degradation of anionic surfactants by *Citrobacter braakii*. *Process Biochemistry*, 38(8), 1245-1250.
- El-Naas, M. H., Al-Muhtaseb, S. A., & Makhlof, S. (2009). Biodegradation of phenol by *Pseudomonas putida* immobilized in polyvinyl alcohol (PVA) gel. *Journal of Hazardous Materials*, 164(2-3), 720-725.

- Jangiam, W., Oum-in, K., & Thongnoppakun, O. (2010). The selection of bacterial consortium for the biodegradation of sodium dodecyl sulfate and linear alkylbenzene sulfonate. *Journal of Science, Technology and Humanities*, 8(1), 25-32.
- Karsa, D. R., & Porter, M. R. (1995). *Biodegradability of surfactants* Blackie Academic & Professional.
- Khleifat, K.M. (2006). Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate by a two-member facultative anaerobic bacterial consortium. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(5), 1030-1035.
- KRÜSS. (n.d.). *Educational tensiometer K6*. Retrieved 8 November 2010, from <http://www.kruss.de/en/products/tensiometer/educational-tensiometer-k6.html>
- KRÜSS. (n.d.). *Surface tension*. Retrieved 8 November 2010, from <http://www.kruss.de/en/theory/measurements/surface-tension/cmc-measurement.html>
- Lijun, X., Bochu, W., Qinghong, W., & Liu, L. (2005). Kinetics of degradation by immobilized cells with ultrasonic irradiation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 45(3-4), 162-166.
- Lijun, X., Bochu, W., Zhimin, L., Chuanren, D., Qinghong, W., & Liu, L. (2005). Linear alkyl benzene sulphonate (LAS) degradation by immobilized *Pseudomonas aeruginosa* under low intensity ultrasound. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 40(1), 25-29.
- Lima de Oliveira, L., Silveira Duarte, I. C., Sakamoto, I. K., & Amâncio Varesche, M. B. (2009). Influence of support material on the immobilization of biomass for the degradation of linear alkylbenzene sulfonate in anaerobic reactors. *Journal of Environmental Management*, 90(2), 1261-1268.
- Lin, Q., Donghui, W., & Jianlong, W. (2010). Biodegradation of pyridine by *Paracoccus* sp. KT-5 immobilized on bamboo-based activated carbon. *Bioresource Technology*, 101(14), 5229-5234.
- Liu, Y. J., Zhang, A. N., & Wang, X. C. (2009). Biodegradation of phenol by using free and immobilized cells of *Acinetobacter* sp. XA05 and *Sphingomonas* sp. FG03. *Biochemical Engineering Journal*, 44(2-3), 187-192.
- Manolov, T., Kristina, H., & Benoit, G. (2005). Continuous acetonitrile degradation in a packed-bed bioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 66(5), 567-574.

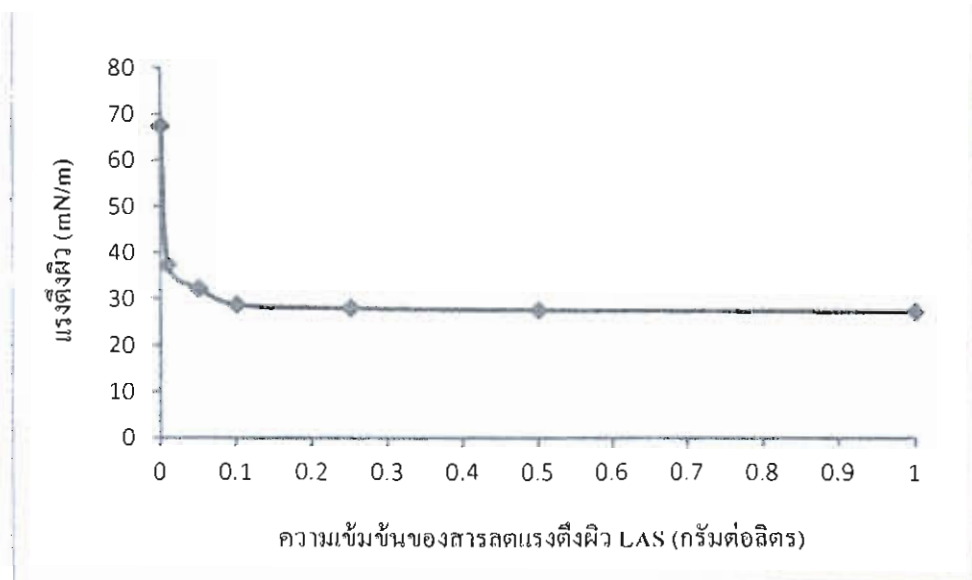
- Modler, R. F., Willhalm, R., & Yoshida, Y. (1993). *Chemical economics handbook* Menlo park, CA: SRI International.
- Monod, J. (1949). The growth of bacterial culture. *Microbiol*, 3(Annu. Rev), 371-373.
- Mungray, A. K., & Kumar, P. (2009). Fate of linear alkylbenzene sulfonates in the environment: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63(8), 981-987.
- Myers, D. (2005). *Surfactant science and technology* (3rd ed.). John Wiley & Sons, Inc.
- Swisher, R. D. (1987). *Surfactant Biodegradation* (2nd ed.). New York: Marcel Dekker.
- Topc, O., & Dursun, A. Y. (2008). Combined effects of external mass transfer and biodegradation rates on removal of phenol by immobilized *Ralstonia cutropha* in a packed bed reactor. *Journal of Hazardous Materials*. 151(1), 9-16.
- Zhou, L.-C., Li, Y.-F., Bai, X., & Zhao, G.-H. (2009). Use of microorganisms immobilized on composite polyurethane foam to remove Cu(II) from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials*, 167(1-3), 1106-1113.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิว LAS

การวัดค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อหาความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (Critical Micelle Concentration, CMC) ซึ่งจะทราบได้จากการวิเคราะห์กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวกับแรงตึงผิว ดังภาพที่ ก-1 จากผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเท่ากับศูนย์กรัมต่อลิตร แรงตึงผิวมีค่าเท่ากับ 67.33 มิลลินิวตันต่อเมตร ที่ความเข้มข้น 0.01 กรัมต่อลิตร ค่าแรงตึงผิวของสารละลายมีค่าเท่ากับ 28.70 มิลลินิวตันต่อเมตร และที่ความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 1 กรัมต่อลิตร ค่าแรงตึงผิวของสารละลายมีค่าเท่ากันคือ 28 มิลลินิวตันต่อเมตร เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาทำการเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตึงผิวกับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว พบว่าค่าแรงตึงผิวของสารละลายเริ่มคงที่ที่ความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร ที่ค่าแรงตึงผิวเท่ากับ 28 มิลลินิวตันต่อเมตร



ภาพที่ ก-1 ความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) ของสารลดแรงตึงผิว LAS

ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวคือ เมื่อเราเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวลงในสารละลาย ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะมีค่าลดลงจนถึงจุด CMC และจะไม่ลดลงอีกถึงแม้จะเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวลงไป ในสารละลายก็ตาม

ดังนั้นจากการทดลองวัดค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิว Linear Alkylbenzene Sulphonate เพื่อหาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิด ไมเซลล์ พบว่าค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิด ไมเซลล์ของสารละลายนี้อยู่ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1 กรัมต่อลิตร และจะกำหนดให้ความเข้มข้นนี้เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นในศึกษากราฟมาตรฐานของสารลดแรงตึงผิว LAS ต่อไป

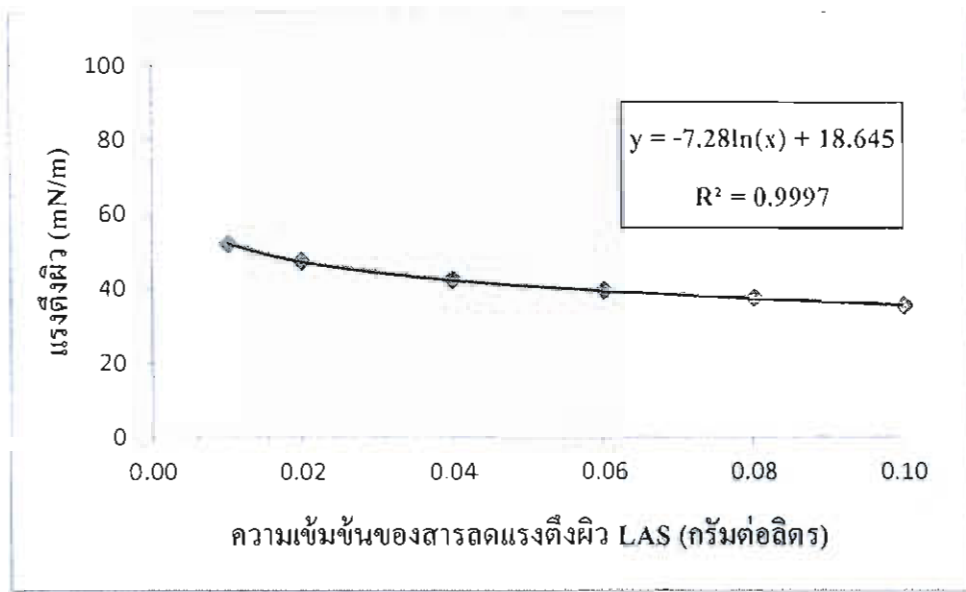
ภาคผนวก ข

กราฟมาตรฐานของสารลดแรงตึงผิว LAS

แรงตึงผิวของสารละลายมาตรฐานสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แสดงดังตารางที่ ข-1 จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตึงผิวกับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว ดังภาพที่ ข-2 และสร้างสมการการวิเคราะห์การถดถอยในการศึกษารูปแบบความสัมพันธ์ เพื่อทำนายหรือพยากรณ์ค่าของตัวแปรที่ต้องการศึกษาในรูปของเลขยกกำลัง ซึ่งได้สมการดังนี้คือ ดังนี้คือ $y = -7.28\ln(x)+18.645$ และได้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination, R^2) เท่ากับ 0.99 ซึ่งถ้า R^2 มีค่าใกล้เคียง 1 แสดงว่าตัวแปรตามและตัวแปรอิสระมีความสัมพันธ์กันมาก

ตารางที่ ข.1 ผลการวัดแรงตึงผิวของสารละลายมาตรฐานสารลดแรงตึงผิว LAS

ความเข้มข้นของ LAS (กรัมต่อลิตร)	แรงตึงผิว (มิลลินิวตันต่อเมตร)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0.01	52.1	50.2	54.0	52.10
0.02	48.5	45.6	47.3	47.13
0.04	41.9	41.8	42.8	42.17
0.06	39.3	39.0	39.3	39.20
0.08	37.0	36.2	38.2	37.13
0.10	34.8	34.9	35.9	35.20



ภาพที่ ข-2 กราฟมาตรฐานของสารลดแรงตึงผิว LAS

ภาคผนวก ค

ข้อมูลดิบ

ตารางที่ ค-1 การเจริญของจุลินทรีย์ AOS-15 ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ

เวลา (ชั่วโมง)	อาหารเลี้ยงเชื้อ	การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
4	LB Medium	1.506	1.546	1.542	1.531
	Define Medium	0.136	0.132	0.136	0.135
	Synthetic Medium	0.360	0.297	0.323	0.327
8	LB Medium	1.656	1.648	1.708	1.671
	Define Medium	0.213	0.205	0.167	0.195
	Synthetic Medium	0.507	0.436	0.458	0.467
12	LB Medium	2.364	2.331	2.283	2.326
	Define Medium	0.223	0.217	0.167	0.202
	Synthetic Medium	0.843	0.748	0.908	0.833
16	LB Medium	2.496	2.583	2.601	2.560
	Define Medium	0.194	0.183	0.189	0.189
	Synthetic Medium	0.914	0.998	0.724	0.879
20	LB Medium	2.181	2.445	2.316	2.314
	Define Medium	0.194	0.188	0.193	0.192
	Synthetic Medium	0.708	0.731	0.811	0.750
24	LB Medium	2.127	2.433	2.175	2.245
	Define Medium	0.148	0.170	0.182	0.167
	Synthetic Medium	0.857	0.868	0.767	0.831

ตารางที่ ค-2 ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกัน (ค่าพืชอบเท่ากับ 7 ปริมาณเซลล์ 0.6 กรัม)

วัน	ความเข้มข้นเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)	แรงตึงผิว (มิลลินิวตันต่อเมตร)			ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0	1.5	38.1	36.1	36.3	36.83	0.56	0.87	0.83	0.75
	3.0	34.4	33.8	33.7	34.43	2.17	2.14	2.19	2.17
	5.0	33.3	33.1	32.9	33.37	4.25	4.16	4.34	4.25
1	1.5	41.3	39.3	38.7	39.77	0.28	0.43	0.49	0.40
	3.0	37.3	36.7	36.2	37.33	1.21	1.14	1.27	1.20
	5.0	35.2	34.6	34.2	35.20	3.13	3.00	3.27	3.14
2	1.5	42.3	38.9	39	40.07	0.22	0.47	0.46	0.38
	3.0	38.0	37.1	36.9	38.03	1.08	1.04	1.09	1.07
	5.0	36.2	35.3	35.2	36.17	2.59	2.58	2.63	2.60

ตารางที่ ค-3 ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ที่ค่าพีเอชต่างกัน
(ความเข้มข้นเริ่มต้น 3 กรัมต่อลิตร ปริมาณเซลล์ 0.6 กรัม)

วัน	pH	แรงตึงผิว (มิลลินิวตันต่อเมตร)				ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0	6	35.8	37.2	36.3	36.43	1.92	1.49	1.75	1.72
	7	35.3	35.9	35.7	35.63	2.09	1.88	1.95	1.98
	8	36.7	36.7	36.2	36.53	1.63	1.63	1.78	1.68
	9	36.2	35.6	35.3	35.70	1.78	1.99	2.09	1.96
1	6	38.5	39.1	38.1	38.57	1.18	1.06	1.27	1.17
	7	38.9	39.2	39.1	39.07	1.10	1.05	1.06	1.07
	8	39.5	38.1	38.9	38.83	0.99	1.27	1.10	1.12
	9	38.4	38.3	38.1	38.27	1.21	1.23	1.27	1.24
2	6	39.7	39.1	39.8	39.53	0.96	1.06	0.94	0.99
	7	39.7	39.8	40.1	39.87	0.96	0.94	0.89	0.93
	8	39.7	38.9	38.2	38.93	0.96	1.10	1.25	1.10
	9	39.2	38.9	38.0	38.70	1.05	1.10	1.30	1.15

ตารางที่ ค-4 ผลการศึกษาปริมาณธาตุอินทรีย์ AOS-15 ที่มีผลต่อความสามารถในการย่อยสลาย
สารลดแรงตึงผิว LAS (ความเข้มข้นเริ่มต้น 3 กรัมต่อลิตร ค่าพีเอชเท่ากับ 7)

วัน	ปริมาณเซลล์ (กรัม)	แรงตึงผิว (มิลลินิวตันต่อเมตร)				ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)			
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0	0.6	32.9	32.4	33.1	32.80	2.90	3.23	2.77	2.97
	0.9	33.0	33.2	32.7	32.97	2.83	2.71	3.03	2.86
	1.2	33.5	32.9	33.9	33.43	2.54	2.90	2.33	2.59
	1.5	34.0	33.2	33.8	33.67	2.28	2.71	2.38	2.46
	1.8	34.7	34.1	34.9	34.57	1.96	2.23	1.87	2.02
	2.1	34.6	35.5	35.1	35.07	2.00	1.64	1.79	1.81
1	0.6	35.8	34.9	36.1	35.60	1.54	1.87	1.44	1.62
	0.9	33.1	33.9	33.4	33.47	2.77	2.33	2.60	2.57
	1.2	34.2	34.1	33.7	34.23	2.18	2.32	2.43	2.31
	1.5	34.2	35.0	34.6	34.60	2.18	1.83	2.00	2.00
	1.8	35.7	35.0	35.1	35.67	1.80	1.83	1.79	1.81
	2.1	36.0	35.7	36.5	36.07	1.47	1.57	1.32	1.46
2	0.6	37.1	37.6	37.5	37.40	1.16	1.04	1.06	1.09
	0.9	38.3	37.9	37.7	37.97	0.89	0.97	1.02	0.96
	1.2	34.3	34.5	34.9	34.57	2.13	2.04	1.87	2.02
	1.5	35.3	35.0	35.2	35.17	1.72	1.83	1.75	1.77
	1.8	36.1	35.6	35.7	35.80	1.44	1.61	1.57	1.54
	2.1	36.1	36.8	36.1	36.33	1.44	1.24	1.44	1.37

ตารางที่ ค-5 ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารลดแรงตึงผิว LAS ในระบบเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบท่อไหลที่มีตัวกลางตรึง

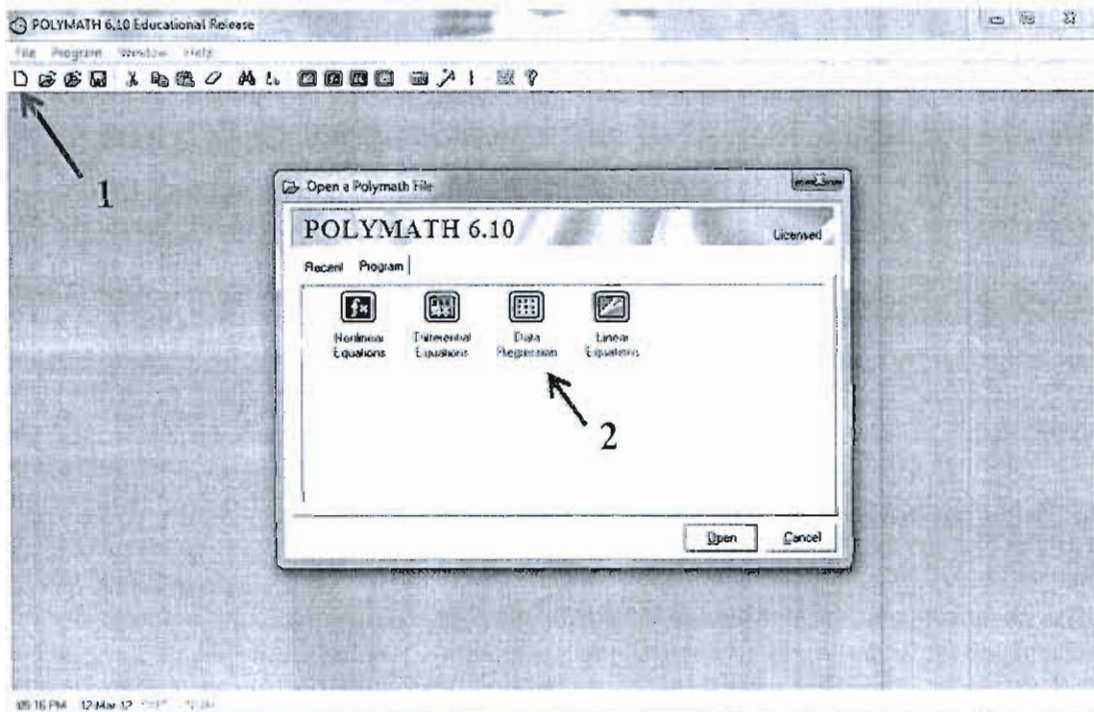
เวลา (ชั่วโมง)	แรงตึงผิว (มิลลินิวตันต่อเมตร)				ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0	58.8	61.1	61.2	60.37	0.12	0.09	0.09	0.10
4	52.8	52.6	52.1	52.50	0.28	0.28	0.30	0.29
8	50.4	51.4	53.1	51.63	0.38	0.33	0.26	0.33
12	53.9	47.7	50	50.53	0.24	0.55	0.40	0.40
16	49.5	49.6	49.9	49.67	0.43	0.43	0.41	0.42
20	49.0	51.6	49.3	49.97	0.46	0.32	0.45	0.41
24	50.2	47.8	49.2	49.07	0.39	0.55	0.45	0.46
28	48.2	49.9	48.8	48.97	0.52	0.41	0.48	0.47
32	46.2	48.2	50.1	48.17	0.68	0.52	0.40	0.53
36	46.5	47.7	49.5	47.90	0.65	0.55	0.43	0.55
40	48.1	46.9	48.5	47.83	0.52	0.62	0.50	0.55
44	48.1	46.9	46.7	47.23	0.52	0.62	0.64	0.59
48	48.0	46.2	46.8	47.00	0.53	0.68	0.63	0.61
52	47.1	46.2	46.2	46.50	0.60	0.68	0.68	0.66
56	46.0	47.2	45.3	46.17	0.70	0.59	0.77	0.69
60	44.2	46.3	47.1	45.87	0.90	0.67	0.60	0.72
64	44.2	44.5	46.1	44.93	0.90	0.86	0.69	0.82
68	43.1	44.3	44.1	43.83	1.04	0.88	0.91	0.95
72	42.2	43.4	43.1	42.90	1.18	1.00	1.04	1.08
76	42.8	41.9	42.1	42.27	1.09	1.23	1.20	1.17
80	41.1	42.2	42.0	41.77	1.37	1.18	1.21	1.26

ภาคผนวก ง

การทำนายแบบจำลองจลนพลศาสตร์โดยใช้โปรแกรม POLYMATH™

มีขั้นตอนดังนี้

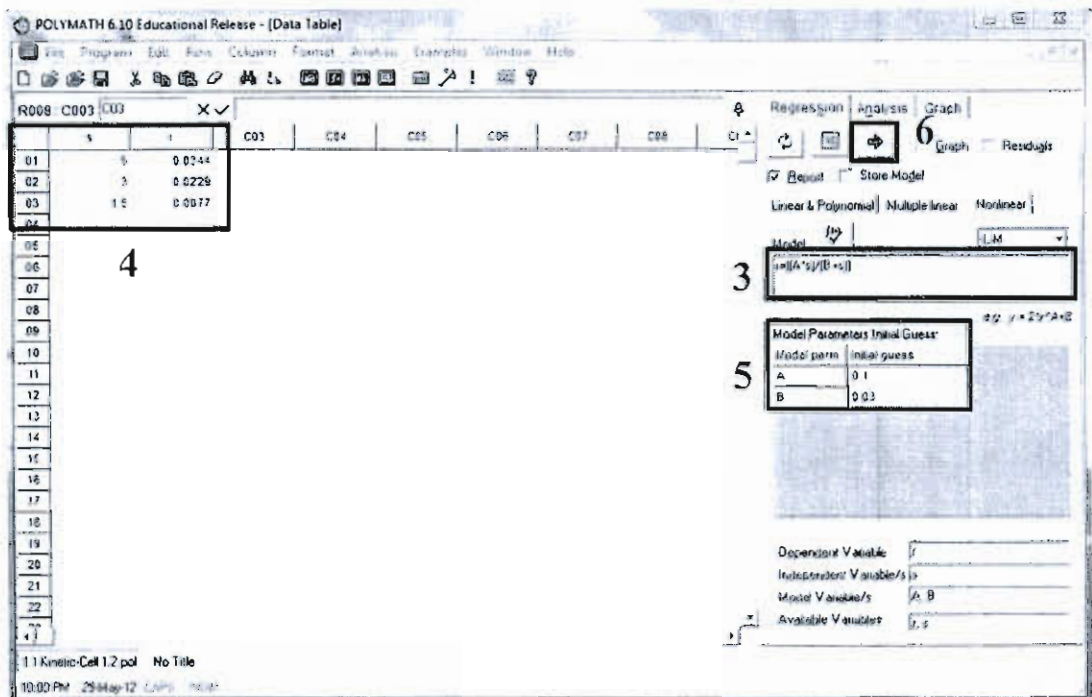
1. เปิดโปรแกรม POLYMATH ซึ่งสามารถดาวน์โหลดได้จาก www.polymath-software.com จากนั้นกดปุ่ม New Polymath program (หมายเลข 1) จากนั้นให้เลือก Data Regression (หมายเลข 2) และกด Open ดังภาพที่ ง-1



ภาพที่ ง-1 ขั้นตอนการทำนายแบบจำลองจลนพลศาสตร์ด้วยโปรแกรม POLYMATH (1)

2. กรอกแบบจำลองจลนพลศาสตร์ที่ได้จากทฤษฎีลงไป โดยกำหนดให้เป็น $r = ((A*s)/(B+s))$ โดยที่ r แทนตัวแปร $-r_u$ (เครื่องหมายลบไม่นำมาใส่เนื่องจากการบ่งชี้ว่าเป็นการย่อยสลายลดลง) A แทนตัวแปร $-r_{s,max}$ s คือค่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว LAS และ B แทนตัวแปร K_d ดังภาพที่ ง.2 จากนั้นทำการกรอกข้อมูลความเข้มข้นของ LAS

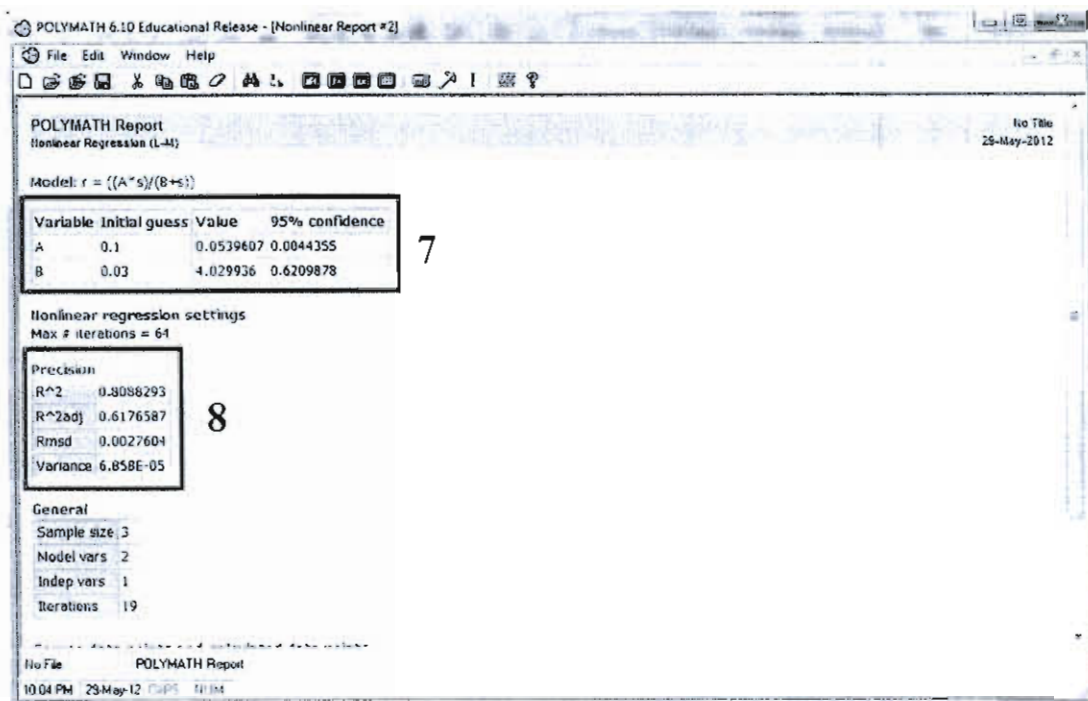
และอัตราการย่อยสลายจากตารางที่ 4-1 ซึ่งแทนด้วยตัวแปรให้เป็น s และ r ตามลำดับ (หมายเลข 4) จะเห็นได้ว่ามีตัวแปรที่ไม่ทราบค่า 3 ตัว ซึ่งจะต้องทำการกำหนดค่าเริ่มต้นให้กับโปรแกรม (หมายเลข 5) และทำการเริ่มดำเนินโปรแกรมโดยกดปุ่มลูกศร (หมายเลข 6) โปรแกรมจะคำนวณและแสดงค่าออกมา



ภาพที่ ๒-2 ขั้นตอนการทำนายแบบจำลองจลนพลศาสตร์ด้วยโปรแกรม POLYMATH (2)

3. โปรแกรมจะแสดงผลค่าที่คำนวณได้ออกมา ซึ่งส่วนที่สำคัญคือค่าของตัวแปรที่ไม่ทราบค่า (หมายเลข 7) และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) (หมายเลข 8) ดังภาพที่ ๒-3 ค่า R^2 นี้อธิบายได้ว่า ผลที่ได้เป็นผลหรืออิทธิพลจากตัวแปร s และ r 99.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่เหลืออีก 0.33 เปอร์เซ็นต์ เป็นผลจากตัวแปรหรือปัจจัยอื่นที่ไม่ทราบได้ ดังนั้นหากแบบจำลองมีค่า R^2 ยิ่งสูงเท่าใด ความแม่นยำของการนำแบบจำลองไปใช้เพื่อทำนายหรือคาดคะเนผลลัพธ์ย่อมมีสูงมากยิ่งขึ้น โดยทั่วไปแบบจำลองที่มักนำไปใช้ควรมีค่า

R^2 อย่างน้อย 0.75 หากสูงกว่า 0.90 ถือว่าดีมาก (R^2 มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 1 โดยที่ 0 แสดงว่าไม่มี ความสัมพันธ์ใด ๆ ระหว่างตัวแปรตามและอิสระ และ 1 แสดงว่ามีความสัมพันธ์กันอย่าง สมบูรณ์)



ภาพที่ 3-3 ขั้นตอนการทำนายแบบจำลองจลนพลศาสตร์ด้วยโปรแกรม POLYMATH (3)

4. หากแบบจำลองที่ได้มีค่าตัวแปรไม่ถูกต้องหรือมีค่า R^2 น้อยมาก ให้ทำซ้ำข้อ 3 (สุ่มค่า เริ่มต้น) จนกว่าจะได้ผลที่ต้องการ

ภาคผนวก จ

เอกสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการระดับนานาชาติ

Isolation of the High Powerful Anionic Surfactant Degrading Bacteria and the Optimum Conditions for the Biodegradation of Linear Alkylbenzene Sulfonate

Sarayut Petra, Kritsada Oum-in, Oratai Thongnoppakun, Witawat Jangiam
Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Burapha University
Saensook, Maung, Chonburi 20131, Thailand
E-mail: witawat.@eng.buu.ac.th

Abstract

Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) is an anionic surfactant, which most widely used in synthetic detergent ingredients, and is released to the environment in large quantities. Generally, it is decomposed by a group of facultative bacteria. The main objective of this study was to screen the facultative bacteria that highly effective for anionic surfactant biodegradation. Firstly, the bacterial strains were isolated from sludge degrade many types of surfactant. Then, the selected bacteria that has the best powerful to degrade of the LAS anionic surfactant was chosen. Many factors were studied about the effect on biodegradation to find proper conditions. The result showed that AOS-15 bacterium has the best ability to degrade LAS. It degraded LAS resulting in 2.156% remaining (initial concentration 0.05 g/L) after two days of the degradation. After that, the optimum conditions of LAS degradation by AOS-15 was tested i.e. initial LAS concentration, pH and cell density. We found that the initial concentration of LAS was 3.0 g/L and it could be degraded resulting in 34.65% remaining after two days. And pH 7 was the suitable condition for degrading of LAS which was 31.76% remaining after two days. Lastly, the amount of cell that appropriated for LAS degradation was to 2.1 g (per substrate 100 mL.) resulting 28.40% remaining after two days of biodegradation.

Keywords: Biodegradation, Surfactant, LAS, facultative bacteria

1. Introduction

Surfactant or "SURFace ACTive AgeNT" are organic compounds combined with hydrophobic group which includes saturated hydrocarbon, natural fatty acid, paraffin and hydrophilic group are polarity or non-polarity. When put surfactant into water, hydrophobic group has reacted less than hydrophilic group thus imparting emulsification, foaming and particle suspension [1].

Synthetic surfactant has been produced in the world amounts to 7.2 million tons annually [2]. It is used as major ingredient of synthetic detergent for domestic and industrial application such as personal care product, cosmetic, food packaging, petroleum production and pharmaceuticals, etc. There are mainly four types of surfactant i.e. cationic, anionic,

nonionic and amphoteric surfactant. Among the different types, anionic surfactant is the most widely used as primary surfactant including sodium dodecyl sulfate (SDS), linear alkylbenzene sulfonate (LAS), alpha olefin sulfonate (AOS), alcohol ester sulfate (AES) and fatty alcohol sulfate (FAS) [3]. Especially LAS was used in global consumption of 18 million tons in 2003 compared with 9, 1.7, 0.5, 0.1, and 2.4 million tons of soap, nonionic, cationic, amphoteric, and other surfactants, respectively [4].

LAS is a mixture of aromatic ring sulfonate in the *p*-position and linked to the linear alkyl chain (ranging from 10 to 14 carbon atoms) at any position except terminal ones [5]. Wastewater containing LAS has been increasing over the years from usage household product

and other cleaning process. The LAS contamination has a major impact on the ecosystem into which it is released and also toxic to aquatic life [6].

One of the most advantage technology for treat wastewater containing LAS is biological treatment because of low cost operation compared with chemical treatment. It's occurred under aerobic and anaerobic conditions, previous research has shown LAS biodegradation by microorganisms including the studies of pure culture or mixed culture bacteria, kinetics of degradation and the use of some technics for improved effectiveness of degradation i.e. ultrasound irradiation, immobilization on different supports, and apply to continuous system such as up-flow anaerobic sludge blanked (UASB), fluidized bed bioreactor, etc. [1, 5-9].

The aim of this research was to select the microorganism from the surfactant industrial sludge which has the best rate of anionic surfactant degradation (SDS, LAS, AOS, AES and FAS). Then study the optimum conditions for the biodegradation of LAS i.e. initial concentration, pH and cell density.

2. Experimental

2.1 Material

Synthetic media was modified from [10] consisting KH_2PO_4 420 mg/L, K_2HPO_4 375 mg/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 244 mg/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 40 mg/L, NaCl 30 mg/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 30 mg/L, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 3 mg/L and glucose 1 g/L. All media were sterilized by autoclave at 1.1 atm and 121°C for 15 minutes. HCl and NaOH were used for pH adjustment. Most of chemicals were purchased from Fluka (Switzerland) or Sigma (USA) and other chemical are analytical grade. All surfactants (AOS, AES, FAS, SDS and LAS) were obtained from Lion Corporation Limited (Thailand).

2.2 Surfactant determination

The critical micelle concentration (CMC) and standard curve were used. Stock solutions of AOS, AES, FAS, SDS and LAS (concentration 1 g/L) were subsequently diluted in LB media and LAS was diluted in synthetic media also. Make the final concentrations of 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 and 1.0 g/L, respectively, then adjusted temperature to 37°C. The surface tension was measured by tensiometer (Tensiometer K6,

KRÜSS de), with the unit expressed as mN/m. Result of surface tension was plotted against the concentration of the solution.

2.3 Screening the microorganism from surfactant industrial sludge for biodegradation of AOS, AES and FAS

A sample from surfactant industrial sludge was serially diluted, spreaded on LB agar consisting 10 g/L of individual AOS, AES and FAS, and then incubated at 37°C for 12-16 h. Then the colonies of bacteria were selected on surface of the selected media and subcultured into 3 mL of LB media, and subsequently immobilized on the filter paper with the pore size of 0.45 micron, and then transferred into LB media containing individual AOS, AES and FAS at concentration equal to CMC. The solution was shaken continuously at 175 rpm, 37°C, for 2 days. A sample was collected and filtered through the 0.45 micron filter paper, and then the surface tension was determined by tensiometer. The microorganisms were screened from SDS and LAS obtained from recently research [6].

2.4 Selection of the microorganism that had the most powerful ability to degrade all surfactants

The five bacteria selected from earlier step were tested for the biodegradation of all types of surfactant individually. Procedures in this step were immobilized cell on the filter paper then transferred into LB media containing surfactant as an earlier method [6]. The effectiveness of bacteria to degrade all surfactants was determined by surface tension method.

2.5 Study the parameters for the biodegradation of LAS by AOS-15

The parameters that effect on the biodegradation of LAS by AOS-15 were studied. Firstly, the initial concentration that was suitable for the biodegradation of synthetic wastewater was determined by 100 mL synthetic media containing LAS. Concentration of LAS varies from 1.5, 3.0 and 5.0 g/L, respectively. Bacterial AOS-15 was cultured in LB media until log phase then cell was separated by the 5,000 g centrifuge for 15 min. The 0.6 g wet cell was used in degradation at pH 7. Secondly, the effect of pH on the degradation of LAS was researched. The value of pH varies

from 6 to 9, the wet cells 0.6 g. was prepared from previous method and the concentration of LAS started at 3.0 g/L. Finally, the effect of an amount of wet cell varies from 0.9, 1.5 and 2.1 g. Synthetic wastewater containing LAS 3.0 g/L and pH 7. In all experiment, an amount of oxygen and temperature were controlled by the incubator shaker at 175 rpm, 37°C for 2 days. The sample was collected then precipitated cells by centrifugal method and kept supernatant by diluting equal to CMC concentration. The surface tension was determined by tensiometer.

3. Results and Discussions

The CMC of AOS, AES and FAS were 0.04, 0.06 and 0.1 g/L respectively, when increasing concentrations of surfactant the surface tension was unchanged. It was found that the CMC of LAS was 0.1 g/L. The determination of standard curve of each surfactant was conducted (data not shown). The CMC concentrations were used to determine the suitable conditions.

3.1 The most powerful microorganism for the biodegradation of all surfactants

The microorganisms that isolated from surfactant industrial sludge on selected media containing AOS, AES and FAS by the individual culture were AOS-01 to AOS-16, AES-01 to AES-16 and FAS-01 to FAS-08 respectively, the colonies of all microorganisms were selected by different morphology.

The biodegradation of AOS, AES and FAS were summarized by using the results from individual result of bacterial culture selected from the earlier step. The capability of degraded were expressed in disappearance of each surfactant in 2 days. The best result of AOS, AES and FAS degradation came from AOS-15, AES-15 and FAS-08 which AOS, AES and FAS remaining 2.147%, 6.943% and 3.565% respectively, then studied capability of biodegradation of each microorganism for five surfactants. The result was summarized in Fig. 1. The best microorganism is AOS-15 because it absolutely degraded five types of surfactant especially LAS, with the remaining value of LAS as 2.156%. This result is contributed to the previous studies because AOS-15 has the enzymatic activity for cleavage of the benzene ring [11-13].

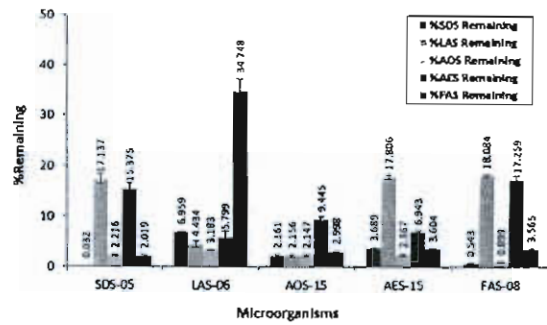


Fig. 1 Biodegradation of anionic surfactant by different microorganisms

3.2 Study the parameters for the biodegradation of LAS by AOS-15

The parameters that effect on the biodegradation of LAS by AOS-15 were found as the following results.

3.2.1 Effect of initial LAS concentration for LAS degradation

The initial concentration of LAS was 3.0 g/L and it could be degraded resulting in 34.65% remaining after two days as shown in Fig. 2. With the increase of the initial LAS concentration, the degradation decrease increasingly.

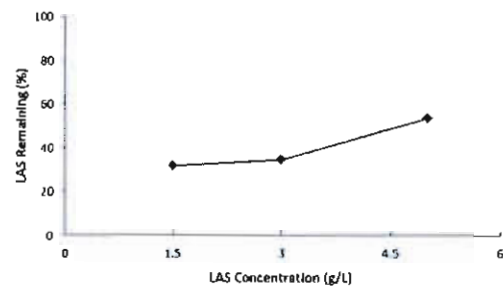


Fig. 2 Biodegradation of LAS by AOS-15 at different concentrations (1.5, 3 and 5 g/L)

3.2.2 Effect of pH for LAS degradation

Fig. 3 has shown different value of pH, the effectiveness of degradation about 60-68%. And pH 7 was the suitable condition for degrading of LAS which was 31.76% remaining after two days.

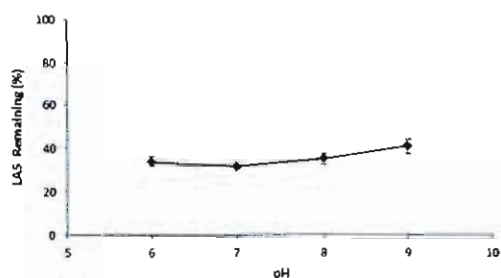


Fig. 3 Biodegradation of LAS by AOS-15 at different pH (6-9)

3.2.3 Effect of cell density for LAS degradation

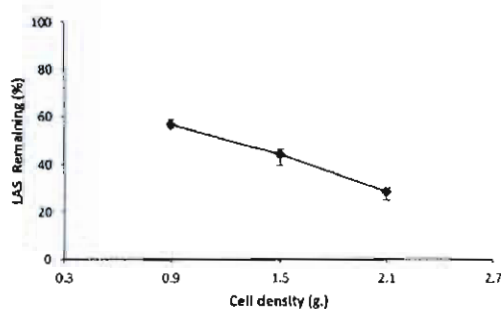


Fig. 4 Biodegradation of LAS by AOS-15 at different cell densities (0.9, 1.5 and 2.1 g/L)

Finally, the amount of cell that appropriated for LAS degradation was 2.1 g (per substrate 100 mL.) resulting 28.40% remaining after two days of biodegradation.

4. Conclusion

The screening of the microorganism that has a high powerful to degrade surfactants widely used in the detergent ingredients in the developing country, especially Thailand, is very interesting to use with the surfactant degradation in many situations. From this research, we discovered a new finding AOS-15 bacteria which was the most powerfully degraded surfactant and responsible for the further applications.

5. Acknowledgement

This work was supported in part by a research grant, contract number 18/2552, from Faculty of Engineering, Burapha University and Industrial Projects for Undergraduate Students (IRPUS), contract number I252A11007. Lastly, anionic surfactants were supported by Lion Corporation Limited (Thailand).

6. References

- [1] M. H. Dehghani, A. A. Najafpoor, and K. Azam, Using sonochemical reactor for degradation of LAS from effluent of wastewater treatment plant. *Desalination* 250(1), (2010), pp. 82-86.
- [2] G. G. Ying, Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. *Environment International* 32(3), (2006), pp. 417-431.
- [3] D.R. Karsa and M.R. Porter, Biodegradability of surfactants, Blackie Academic & Professional, 1995.
- [4] A. K. Mungray and P. Kumar, Fate of linear alkylbenzene sulfonates in the environment: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation* 63(8), (2009), pp. 981-987.
- [5] L. L. de Oliveira, I. C. Silveira Duarte, I. K. Sakamoto and M. B. Amâncio Varesche, Influence of support material on the immobilization of biomass for the degradation of linear alkylbenzene sulfonate in anaerobic reactors. *Journal of Environmental Management* 90(2), (2009), pp. 1261-1268.
- [6] W. Jangiam, K. Oum-in, and O. Thongnoppakun, The selection of bacterial consortium for the biodegradation of sodium dodecyl sulfate and linear alkylbenzene sulfonate. *Journal of Science, Technology and Humanities* 8(1), (2010), pp. 25-32.
- [7] X. Lijun, W. Bochu, L. Zhimin, D. Chuanren, W. Qinghong and L. Liu, Linear alkyl benzene sulphonate (LAS) degradation by immobilized *Pseudomonas aeruginosa* under low intensity ultrasound. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 40(1), (2005), pp. 25-29.
- [8] K. M. Khleifat, Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate by a two-member facultative anaerobic bacterial consortium. *Enzyme and Microbial Technology* 39(5), (2006), pp. 1030-1035.
- [9] L. L. de Oliveira, R. B. Costa, D. Y. Okada, D. V. Vich, I. C. Silveira Duarte, E. L. Silva, and M. B. Amâncio Varesche, Anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in fluidized bed reactor by microbial consortia in different support materials. *Bioresource Technology* 101(14), (2010), pp. 5112-5122.
- [10] Y. M. Chen, T. F. Lin, C. Huang, J. C. Lin and F. M. Hsieh, Degradation of phenol and TCE using suspended and chitosan-bead immobilized *Pseudomonas putida*. *Journal of*

Hazardous Materials 148(3), (2007), pp. 660-670.

[11] J. C. Sigoillot and M. H. Nguyen, Isolation and characterization of surfactant degrading bacteria in a marine environment. *FEMS Microbiology Letters* 73, (1990), pp. 59-68.

[12] R.D. Swisher, *Surfactant Biodegradation* Vol. 18, 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., New York, 1987.

[13] L. Jimenez, A. Breen, N. Thomas, T. W. Federle, and G. S. Sayler, Mineralization of linear alkylbenzene sulfonate by a four-member aerobic bacterial consortium. *Applied and Environmental Microbiology* 57, (1991), pp. 1566-1569.