

(ร่าง)

รายงานการวิจัย

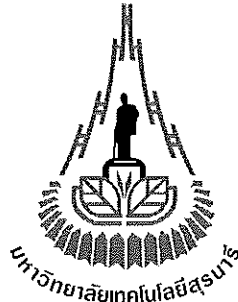
การพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์รวมกลุ่มในการย่อยสลาย
ไซโอไซยาเนตและโลหะไซยาไนด์

(Mixed culture microbial development for thiocyanate and metal
cyanide degradation)



ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



(ร่าง)

รายงานการวิจัย

การพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์รวมกลุ่มในการย่อยสลาย
ไซโอไซยาเนตและโลหะไซยาไนด์
(Mixed culture microbial development for thiocyanate and metal
cyanide degradation)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ดร. สिरาภรณ์ โพธิวิฆานนท์

สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม

สำนักวิชาแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ 2555 ซึ่งสำเร็จลุล่วงด้วยดี คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ได้ให้โอกาสและให้การสนับสนุนแก่คณะวิจัยในการศึกษาวิจัย ทำให้งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ท้ายนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานการวิจัยฉบับนี้จะประโยชน์และเป็นแนวทางหนึ่งในการนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์แก่วงการวิจัย และเกิดประโยชน์ต่อภาคอุตสาหกรรมของประเทศไทยต่อไป

คณะผู้วิจัย



บทคัดย่อ

การพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม(Mixed culture) ของ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 ในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ ในรูปของไซโอไซยานตและโลหะไซยาไนด์ในรูปของสังกะสีและแคดเมียมไซยาไนด์นี้ได้พัฒนา เพื่อให้จุลินทรีย์สามารถบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ได้หลากหลายชนิดมากขึ้นซึ่งน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสารประกอบไซยาไนด์กำลังเป็นปัญหาของอุตสาหกรรมหลายแห่งที่มีการใช้สารประกอบดังกล่าวในกระบวนการผลิต ดังนั้นจึงศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์รวมกลุ่มในสารประกอบนี้พร้อมทั้งพัฒนาเป็นระบบฟิซ-ฟิล์มไบโอสคริปเบอร์และศึกษาประสิทธิภาพของระบบเพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป ผลการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์รวมกลุ่ม SUTS 1 และ SUTS 2 สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซโอไซยานตและโลหะไซยาไนด์ โดยมีจำนวนเซลล์จุลินทรีย์มากที่สุดในวันที่ 3 ของการศึกษาเท่ากับ 1.03×10^8 cfu/ml. จากนั้นทำการศึกษาระยะแรกของระบบฟิซ-ฟิล์มไบโอสคริปเบอร์ในการเดินระบบต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบในส่วนของอัตราการไหลและระยะเวลาที่เก็บพบว่าที่อัตราการไหล 10 มล./นาที่ ที่ระยะเวลากักเก็บ 21 นาที่ ระบบสามารถบำบัดไซโอไซยานตและโลหะไซยาไนด์ได้ดีที่สุดจากความเข้มข้นเริ่มต้นของไซโอไซยานต 85 มก./ล.ลดลงเหลือ 65 มก./ล. ส่วนสังกะสีและแคดเมียมเริ่มต้น 0.44 และ 0.044 มก./ล. ลดลงเหลือ 0.21 และ 0.038 มก./ล. ตามลำดับ ขณะที่ไซยาไนด์ถูกกำจัดได้หมดภายใน 12 ชั่วโมงของการศึกษา จึงนำสภาวะดังกล่าวศึกษาระยะยาวต่อเนื่องเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ระบบฟิซ-ฟิล์มไบโอสคริปเบอร์มีประสิทธิภาพในการบำบัดไซโอไซยานตและโลหะไซยาไนด์ได้อย่างต่อเนื่องตลอด 30 วันของการศึกษา โดยพบไซโอไซยานต ไซยาไนด์ สังกะสีและแคดเมียม เหลืออยู่ 29.96, 0.16, 0.204 และ 0.085 มก./ล. ตามลำดับ คิดเป็นประสิทธิภาพในการบำบัดมากกว่าร้อยละ 50 ของสารประกอบทุกชนิดยกเว้นแคดเมียม ทั้งนี้จากการตรวจวิเคราะห์สารผลิตภัณฑ์ในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์พบปริมาณของซัลเฟตและไนเตรทตลอดระยะเวลาของการเดินระบบ ขณะที่ปริมาณของไบคาร์บอเนตและแอมโมเนียตรวจพบในบางช่วงของการศึกษา ขณะที่จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) สามารถเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์ได้อย่างต่อเนื่องจากการศึกษาน้ำหนักของตัวกลางที่ใช้เป็นตัวยึดเกาะของจุลินทรีย์มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าเมื่อพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์รวมกลุ่มของ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas*

monteilii SUTS 2 ในการบำบัดไซยาไนด์และโลหะไซยาไนด์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์นั้นระบบมีประสิทธิภาพเหมาะสมในการบำบัดสารประกอบดังกล่าว

คำสำคัญ (keywords): สารประกอบไซยาไนด์ (Cyanide compounds), ฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber), การย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradation), ประสิทธิภาพการบำบัด (Removal efficiency)



Abstract

The degradation capability of mixed culture of *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 and *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 for thiocyanate and metal cyanide; in form of zinc and cadmium, has been developed due to cyanide problems in industrial wastewater containing cyanide waste. The growth of mixed culture of SUTS 1 and SUTS 2 in cyanide complexes and the cyanide removal efficiency of fixed-film bioscrubber system were investigated. The results showed the mixed culture bacteria was able to survive and grow in broth solution containing thiocyanate and metal cyanide complexes with the maximum growth cells 1.03×10^8 cfu/ml on day 3. Then, the optimum conditions of fixed-film bioscrubber system in short term period were continuously tested for 24 hrs and found that the system revealed the highest removal efficiency at flow rate 10 ml/min and 21 mins of empty bed retention time with decreasing thiocyanate, zinc and cadmium from 85, 0.44, and 0.044 mg/l to 65, 0.21, and 0.038 mg/l, respectively whereas residual cyanide did not found within 12 hrs. After that, these conditions were set for 30 days continuous long term period and also found that the system still exhibited more than 50% of cyanide complexes removal efficiency except cadmium that the complex residues were 29.96, 0.16, 0.204, and 0.085 mg/l of thiocyanate, cyanide, zinc, and cadmium, respectively. In addition, the growth of mixed culture of SUTS 1 and SUTS 2 increased and cell weights of mixed culture immobilized on packing materials were also in the trend of increasing, the by-product compounds in form of sulfate and nitrate were found throughout the experiment whereas some of bicarbonate and ammonia were found. It can be concluded that the mixed culture of *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 and *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 in fixed-film bioscrubber system revealed the optimum capability to degrade thiocyanate and metal cyanide.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของ โครงการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของ โครงการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.5 กรอบแนวคิดของโครงการวิจัย (Conceptual Framework)	2
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	4
2.1 สารประกอบไซยาไนด์	4
2.2 ไธโอไซยาเนต (Thiocyanate: SCN ⁻)	5
2.3 โลหะหนัก (Heavy Metal)	5
2.3.1 แคดเมียม (Cadmium: Cd)	6
2.3.2 สังกะสี (Zinc: Zn)	6
2.3.3 ความเป็นพิษของโลหะหนัก	7
2.3.3.1 ความเป็นพิษของแคดเมียม	7
2.3.3.2 ความเป็นพิษของสังกะสี	8
2.4 สารประกอบโลหะไซยาไนด์ (Metal cyanide complexes)	9
2.4.1 สารประกอบไซยาไนด์เชิงเดี่ยว (Simple cyanide)	9
2.4.2 สารประกอบไซยาไนด์เชิงซ้อน (Cyanide complex)	9
2.4.2.1 Weak cyanide complex	10
2.4.2.2 Moderately strong cyanide complex	10
2.4.2.3 Strong cyanide complex	10
2.5 เสถียรภาพของสารประกอบไซยาไนด์	11

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6 กลไกการเกิดพิษของไซยาไนด์	12
2.6.1 ผลกระทบของไซยาไนด์ต่อสิ่งมีชีวิต	13
2.6.2.1 ผลกระทบต่อมนุษย์	13
2.6.1.2 ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ	14
2.6.1.3 ผลกระทบต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	14
2.7 มาตรฐานสากล	15
2.7.1 คำมาตรฐานสารประกอบไซยาไนด์	15
2.7.1.1 สารประกอบไซยาไนด์เชิงซ้อนกับโลหะ (Metal cyanide complexes)	15
2.7.1.2 ไธโอไซยาเนต (Thiocyanate)	15
2.8 การบำบัดไรโอไซยาเนตและโลหะไซยาไนด์โดยกระบวนการทางชีวภาพ	16
2.8.1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการบำบัดไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์	16
2.8.1.1 อุณหภูมิที่เหมาะสม	16
2.8.1.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	17
2.8.1.3 ปริมาณออกซิเจน	17
2.8.1.4 สารอาหารจำเป็น	17
2.8.2 กระบวนการย่อยสลายไรโอไซยาเนตและโลหะไซยาไนด์ทางชีวภาพ	17
2.9 กลไกการกำจัดโลหะหนักโดยแบคทีเรีย	18
2.9.1 ขึ้นอยู่กับเมตาบอลิซึมของเซลล์	18
2.9.1.1 การกำจัดโลหะหนักของแบคทีเรียโดยการใช้พลังงาน	18
2.9.1.2 การกำจัดโลหะหนักของแบคทีเรียโดยไม่ใช้พลังงาน	19
2.9.2 ขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่แบคทีเรียกำจัดโลหะหนัก	20
2.9.2.1 การสะสมโลหะหนักภายในเซลล์	20
2.9.2.2 การสะสมโลหะหนักภายนอกเซลล์	20
2.9.2.3 การจับโลหะหนักโดยสารที่แบคทีเรียปล่อยออกสู่ภายนอกเซลล์	21
2.10 การทนต่อพิษโลหะหนักของแบคทีเรีย	22
2.10.1 กลไกการทนต่อโลหะหนักของแบคทีเรีย	23
2.10.1.1 การใช้เอนไซม์	23
2.10.1.2 การจับโลหะที่ผนังเซลล์หรือภายในเซลล์	23

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.10.1.3 การลดการนำเข้า (Reduce uptake)	23
2.10.1.4 การปั๊มออกจากเซลล์ด้วยระบบการขนส่ง (Transport system)	23
2.10.1.5 การเปลี่ยนเป้าหมายภายในเซลล์	23
2.10.2 การทนต่อแคดเมียมของแบคทีเรีย	23
2.10.3 การทนต่อสังกะสีของแบคทีเรีย	25
2.10.3.1 การขนส่งสังกะสีโดยใช้ corA MIT	25
2.10.3.2 การใช้แรงดันออกสโมติก	25
2.10.3.3 การใช้ MgtA P-type ATPase	25
2.11 ระบบตรึงผิวชีวภาพ (Cell-immobilized/Fixed-film system)	25
2.11.1 फिल्मชีวภาพ (Bio-film)	26
2.11.2 การเกาะและการหลุดของฟิล์มชีวะ	27
2.11.3 องค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มชีวะ	27
2.11.4 กระบวนการกำจัดสารอินทรีย์	27
2.11.5 สภาพขาดแคลนสารอินทรีย์ และออกซิเจน	29
2.12 ปัจจัยที่มีผลต่อการกำจัดโลหะหนักของแบคทีเรีย	29
2.12.1 พีเอช (pH)	30
2.12.2 อุณหภูมิ (Temperature)	30
2.12.3 ระยะเวลาในการกำจัด	31
2.12.4 ชนิดและความเข้มข้นของโลหะหนัก	31
2.12.5 การแข่งขันกับ ไอออนโลหะชนิดอื่น	31
2.12.6 ความเข้มข้นของตัวกำจัด	32
2.13 ข้อดีและข้อเสียของการใช้จุลินทรีย์เพื่อบำบัดสารมลพิษ	32
2.13.1 ข้อดีของการใช้จุลินทรีย์เพื่อบำบัดสารมลพิษ	32
2.13.2 ข้อเสียของการใช้จุลินทรีย์เพื่อบำบัดสารมลพิษ	32
บทที่ 3 ระเบียบวิธีดำเนินงานวิจัย	34
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย (Instruments)	34

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย (Chemicals)	34
3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย	36
3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ (Media)	36
3.3.2 จุลินทรีย์ในการทดลอง	37
3.3.3 การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์	37
3.3.4 การตรึงจุลินทรีย์รวมกลุ่มบนผิวของตัวกลาง (Immobilization of mixed culture on packing materials)	37
3.4 ชุดพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber)	38
3.5 การทดลอง	40
3.6 วิธีการวิเคราะห์	40
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล	41
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	43
4.1 ผลการศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) และการทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อย สลายสารประกอบไซยาไนด์	43
4.2 ผลการศึกษาระยะแรก (Short term period) ของการพัฒนาความสามารถ ของจุลินทรีย์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber)	50
4.2.1 การบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของไซโอไซยานต (Thiocyanate: SCN ⁻)	51
4.2.2 การบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของโลหะไซยาไนด์ (Metal cyanide)	53
4.2.3 ผลิตภัณฑ์ (By-product) ที่เกิดขึ้นจากการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ ในรูปของไซโอไซยานตและโลหะไซยาไนด์	56
4.3 ผลการศึกษาระยะยาว (Long term period) ของการพัฒนาความสามารถ ของจุลินทรีย์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber)	60
4.3.1 การบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของไซโอไซยานต (Thiocyanate: SCN ⁻)	65

สารบัญ (ต่อ)

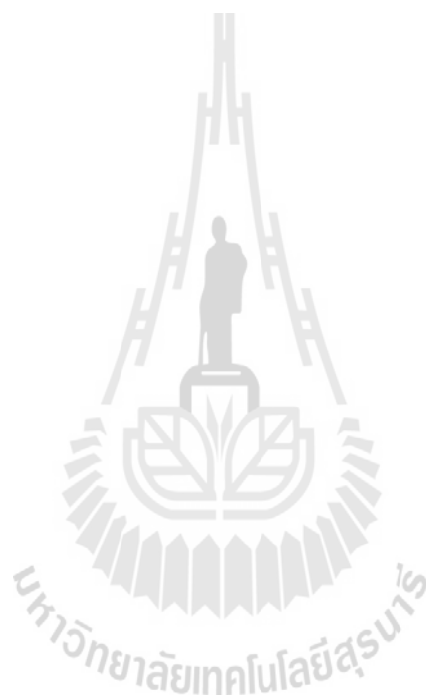
	หน้า
4.3.2 การบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของโลหะไซยาไนด์ (Metal cyanide)	66
4.3.3 ผลิตภัณฑ์ (By-products) ที่เกิดขึ้นหลังจากการย่อยสลายสาร ประกอบไซยาไนด์	72
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	78
5.1 การศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture)	78
5.2 การศึกษาระยะแรก (Short term period) ของการพัฒนาความสามารถ ของจุลินทรีย์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสคริบเบอร์ (Fixed-film bioscrubber)	78
5.3 การศึกษาระยะยาว (Long term period) ของการพัฒนาความสามารถ ของจุลินทรีย์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสคริบเบอร์ (Fixed-film bioscrubber)	79
5.4 ข้อเสนอแนะจากการศึกษาวิจัย	80
บรรณานุกรม	81
ภาคผนวก ก. วิธีการวิเคราะห์	89
ภาคผนวก ข. กราฟสารละลายมาตรฐาน	103
ประวัติผู้วิจัย	109

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ค่าคงที่ของค่าความคงตัว (β_1) ของสารประกอบเชิงซ้อนของไซยาไนด์	9
2.2	ค่าความเสถียร (Stability constant: $\log K$) ของสารประกอบไซยาไนด์	12
2.3	ความเข้มข้นของสารประกอบไซยาไนด์ที่ก่อให้เกิดพิษต่อสิ่งมีชีวิต	15
3.1	สภาวะและตัวแปรที่ใช้ในการวิจัย	40
4.1	ลักษณะทั่วไปของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture bacteria)	43
4.2	การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มในสารประกอบไซยาไนด์	44
4.3	การย่อยสลายโลหะไซยาไนด์และไซโอไซยานตด้วยจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) จากการศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม	48
4.4	ประสิทธิภาพการย่อยสลายโลหะไซยาไนด์และไซโอไซยานตจากการศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม	49
4.5	การสุ่ม (Random) ชั่งน้ำหนักตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring หลังจากการตรึงเซลล์ (Cell immobilization) ในวันที่ 15	51
4.6	ประสิทธิภาพการบำบัดไซโอไซยานตที่อัตราการไหล 10 มล./นาที และ 30 มล./นาที	52
4.7	การบำบัดโลหะไซยาไนด์ด้วยระบบฟิซซ์-ฟิล์มไบโอสคริบเบอร์ที่อัตราการไหล 10 มล./นาที และ 30 มล./นาที	54
4.8	ผลิตภัณฑ์ (By-product) ที่เกิดจากการย่อยสลายไซโอไซยานตและโลหะไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์รวมกลุ่ม	58
4.9	น้ำหนักของตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring ที่เพิ่มขึ้น ภายหลังจากการเดินระบบระยะแรก	60
4.10	การสุ่ม (Random) ชั่งน้ำหนักตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring หลังจากการตรึงเซลล์ (Cell immobilization) ในวันที่ 30	61
4.11	ผลการศึกษาการบำบัดโลหะไซยาไนด์และไซโอไซยานตด้วยระบบฟิซซ์-ฟิล์มไบโอสคริบเบอร์ ตลอดช่วง 30 วันของการศึกษา	62
4.12	ประสิทธิภาพการบำบัดโลหะไซยาไนด์และไซโอไซยานตด้วยระบบฟิซซ์-ฟิล์มไบโอสคริบเบอร์	63

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.13	73
ผลิตภัณฑ์ (By-product) ที่เกิดจากการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ โดยจุลินทรีย์รวมกลุ่มตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการศึกษา	
4.14	77
น้ำหนักของตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring ที่เพิ่มขึ้น ภายหลังจากการเดินระบบระยะยาวในวันที่ 30 ของการศึกษา	
ผ.1	98
การคำนวณหาค่าส่วนประกอบต่างๆของสภาพต่าง	



สารบัญภาพ

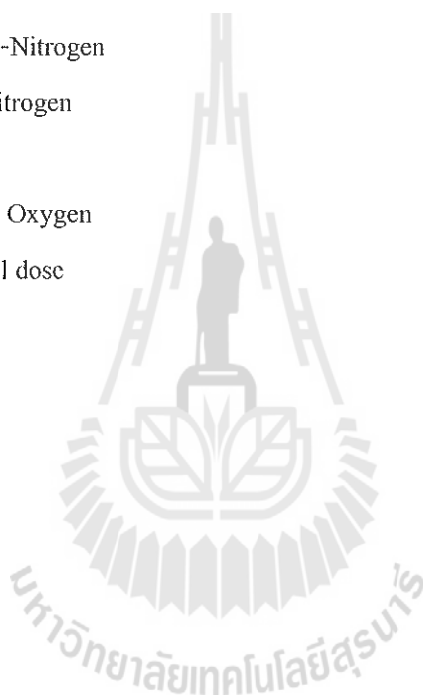
ภาพที่		หน้า
1.1	กรอบแนวคิดของการย่อยสลายไซโอไฮซานตและโลหะไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์รวมกลุ่มในระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์	3
2.1	กลไกการเกิดพิษของไซยาไนด์	13
2.2	กลไกการลดความเป็นพิษโลหะหนักของแบคทีเรีย	22
2.3	กลไกการทนต่อแคดเมียมและสังกะสีของแบคทีเรีย	24
2.4	ความหนาแน่นของจุลชีพในฟิล์มชีวภาพที่ขึ้นความหนาต่างๆ	28
2.5	สภาพขาดแคลนสารอินทรีย์ และออกซิเจนในระบบบำบัดน้ำเสียแบบฟิล์มชีวะ	29
3.1	ตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall ring สำหรับให้จุลินทรีย์แบบรวม (Mixed culture) ยึดเกาะ	38
3.2	รูปแบบการย่อยสลายไซโอไฮซานตและโลหะไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์รวมกลุ่มในระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์	39
3.3	ระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber system)	39
4.1	การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture microbial growth curve) ในช่วงระยะเวลา 7 วัน	45
4.2	ลักษณะโคโลนีที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซโอไฮซานตและโลหะไซยาไนด์	45
4.3	ความสามารถในการย่อยสลายไซโอไฮซานต (SCN) โดยจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture)	46
4.4	ความสามารถในการย่อยสลายโลหะไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์รวมกลุ่ม	48
4.5	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนเตรทที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายของไซโอไฮซานตและไซยาไนด์	50
4.6	ประสิทธิภาพในการบำบัดไซโอไฮซานต ที่อัตราการไหล 10 มล./นาที และ 30 มล./นาที	52
4.7	จำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่แขวนลอยอิสระในระบบ	59
4.8	เปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์แต่ละประเภท	64
4.9	ประสิทธิภาพการบำบัดไซโอไฮซานตด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์	65

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.10 แนวโน้มการกำจัดสังกะสี ด้วยระบบฟลักซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ ตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการศึกษา	67
4.11 แนวโน้มการกำจัดแคดเมียมโดยจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่ม (Mixed culture) ตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการศึกษา	68
4.12 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดสังกะสีและแคดเมียมด้วยระบบ ฟลักซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ ตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการเดินระบบ	69
4.13 ไซยาไนต์ที่เหลืออยู่และประสิทธิภาพในการบำบัดไซยาไนต์ด้วยระบบฟลักซ์-ฟิล์ม ไบโอสครับเบอร์	70
4.14 ความสัมพันธ์ของการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนต์โดยจุลินทรีย์แบบ รวมกลุ่มกับสารผลิตภัณฑ์ (By-products) ที่เกิดขึ้น	74
4.15 ความสัมพันธ์ของการย่อยสลายไซโอไธยาเนตโดยจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่ม กับซัลเฟตที่เกิดขึ้น	76
4.16 จุลินทรีย์ที่เขว่นลอยอิสระในระบบฟลักซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์	77
ผ.1 ชุดกลั่นไซยาไนต์	92
ผ.2 กราฟสารละลายมาตรฐานไซโอไธยาเนต (Thiocyanate: SCN ⁻)	104
ผ.3 กราฟสารละลายมาตรฐานสังกะสี (Zinc: Zn)	105
ผ.4 กราฟสารละลายมาตรฐานแคดเมียม (Cadmium: Cd)	106
ผ.5 กราฟสารละลายไนเตรท (Nitrate: NO ₃ ⁻)	107
ผ.6 กราฟสารละลายซัลเฟต (Sulfate: SO ₄ ²⁻)	108

คำอธิบายสัญลักษณ์

มก./กก.	= มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
มก./ล.	= มิลลิกรัมต่อลิตร
cfu/ml	= Colony forming unit per milliliter
ml/min	= Milliliter per minute
HCO_3^-	= Bicarbonate
CN^-	= Cyanide
SCN^-	= Thiocyanate
$\text{NH}_3\text{-N}$	= Ammonia-Nitrogen
$\text{NO}_3^-\text{-N}$	= Nitrate-Nitrogen
SO_4^{2-}	= Sulfate
DO	= Dissolved Oxygen
LD_{50}	= 50% lethal dose



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

อุตสาหกรรมที่กำลังพัฒนาและสร้างความก้าวหน้าให้กับประเทศนั้น ยังคงมีของเสียเกิดขึ้นตามมาอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมด้านปิโตรเคมี อุตสาหกรรมด้านพลังงาน อุตสาหกรรมด้านการผลิตเหล็กซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญทั้งในยานยนต์ คอมพิวเตอร์และอื่นๆ อุตสาหกรรมการผลิตสี อุตสาหกรรมการผลิตไม้และเคลือบผิวไม้ อุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ อุตสาหกรรมมันสำปะหลัง รวมทั้งอุตสาหกรรมเหมืองแร่ (Medwith and Lefelhocz, 1981; Melcer and Nutt, 1988; Aronstein et al., 1994; Liu et al., 1996; EPA, 1997) ซึ่งของเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตมักอยู่ในรูปของสารประกอบไซยาไนด์ ไซโอไซยานेट ฟีนอล และแอมโมเนีย เป็นต้น ไซโอไซยานेटอาจปนเปื้อนในน้ำเสียที่มาจากกระบวนการผลิตมากถึง 50-650 มก./ล. ขณะเดียวกัน สารประกอบไซยาไนด์อาจมีมากถึง 10-150 มก./ล. (Medwith and Lefelhocz, 1981; Melcer and Nutt, 1988; Liu et al., 1996) และความเป็นพิษอาจมากขึ้นหากไซยาไนด์ทำปฏิกิริยากับโลหะหนัก กลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ โลหะ (Metal cyanide complexes) เช่น $\text{Cu}(\text{CN})_2^-$, $\text{Ni}(\text{CN})_4^{2-}$, $\text{Ag}(\text{CN})_2^-$, $\text{Zn}(\text{CN})_4^{2-}$ และ $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ เป็นต้น ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อนเหล่านี้สามารถแตกตัวได้เล็กน้อยแตกต่างกันส่งผลทำให้เกิดปัญหามลพิษสิ่งแวดล้อม และยังส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยอีกด้วย ไซโอไซยานेटนั้นมีพิษเฉียบพลันสูงต่อระบบทางเดินหายใจ ทำให้เกิดการระคายเคืองตาและผิวหนังได้ หากมีการกลืนกินอาหารที่มีไซโอไซยานेटปนเปื้อนที่ความเข้มข้น 68.3-84.9 มก./กก. ของน้ำหนักตัว ทำให้เสียชีวิตได้ (LD_{50}) หรือหากหายใจเข้าไป 0.0077 มก./ล. ทำให้เสียชีวิตได้ (LD_{50}) (EPA, 1997) ในขณะเดียวกัน โลหะไซยาไนด์ในรูปของสังกะสีไซยาไนด์ (Zinc cyanide) ที่ระดับความเข้มข้น 0.02-0.3 มก./ล. และแคดเมียมไซยาไนด์ (Cadmium cyanide) ที่ระดับความเข้มข้น 0.02-0.3 มก./ล. ทำให้เกิดพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้ (จุฑารัตน์, 2547) ซึ่งการย่อยสลายไซโอไซยานेटและโลหะไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์ในระบบบำบัดที่มีประสิทธิภาพจึงมีความสำคัญที่ต้องพัฒนา ดังนั้นโครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์รวมกลุ่มของ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 ในการย่อยสลายไซโอไซยานेटและโลหะไซยาไนด์

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์รวมกลุ่มของ SUTS 1 และ SUTS 2 ในการย่อยสลายไรโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์

1.2.2 เพื่อศึกษาการย่อยสลายไรโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์ด้วยระบบฟิกส์-ฟิล์มไบโอสคริมเบอร์

1.2.3 เพื่อศึกษาตัวแปรในสถานะเหมาะสมที่ทำให้ระบบมีประสิทธิภาพดีที่สุด ได้แก่ ความเข้มข้นของไรโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์ อัตราการไหลของของเหลว และระยะเวลาพักเก็บ

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาในการวิจัยนี้เป็นจุลินทรีย์รวมกลุ่มระหว่าง SUTS 1 และ SUTS 2 (Mixed culture) ที่มีความสามารถสูงจากการศึกษาการย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์ (สิราภรณ์, 2550)

1.3.2 การย่อยสลายไรโอไซยานเนตจะใช้โพแคสเทียมไรโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์จะใช้สังกะสีไซยาไนด์และแคดเมียมไซยาไนด์ (ในรูปของแคดเมียมซัลเฟตและโพแคสเทียมไซยาไนด์) ในการศึกษา

1.3.3 การพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์จะทำการทดสอบด้วยระบบฟิกส์-ฟิล์มไบโอสคริมเบอร์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

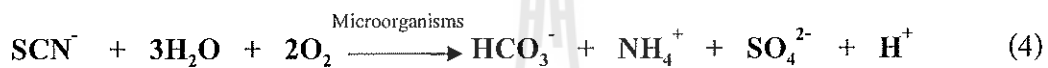
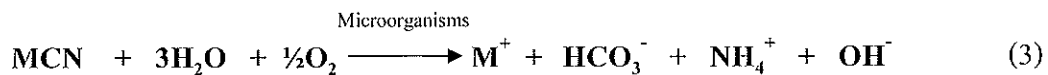
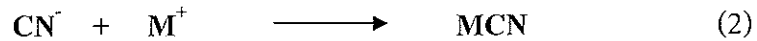
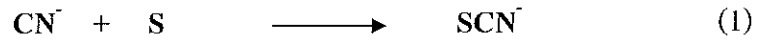
1.4.1 สามารถนำจุลินทรีย์และระบบฟิกส์-ฟิล์มไบโอสคริมเบอร์ที่ศึกษาในการวิจัยครั้งนี้ไปเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ในการย่อยสลายไรโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์ที่เกิดจากอุตสาหกรรมได้ต่อไปในระดับ Pilot scale

1.4.2 เขียนบทความเพื่อเผยแพร่ผลการวิจัย หรือตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารทางด้านสิ่งแวดล้อม วารสารอนามัยสิ่งแวดล้อมและ/หรือการควบคุมมลพิษ

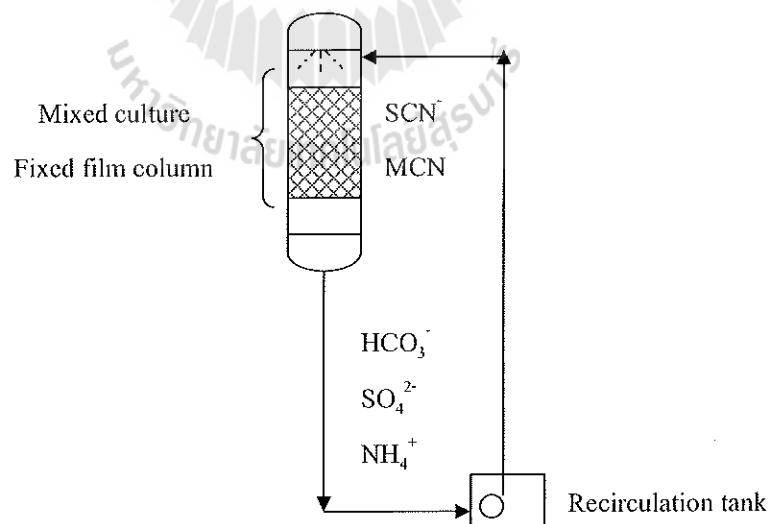
1.5 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย (Conceptual Framework)

สารประกอบไซยาไนด์ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ อาจมีมากกว่า 1 ชนิด ไรโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์หรือสารประกอบไซยาไนด์จัดว่ามีความสำคัญอย่างยิ่ง การย่อยสลายสารประกอบเพียงชนิดใดชนิดหนึ่งมีการศึกษากันมานาน แต่การศึกษาการย่อยสลายของสารประกอบมากกว่าหนึ่งชนิดนั้นยังไม่ค่อยมีการศึกษามากนัก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์มากกว่าหนึ่งชนิด ซึ่งไรโอไซยานเนต (Thiocyanate) ที่ปนเปื้อน

อยู่ในน้ำเสียอาจเกิดปฏิกิริยาระหว่างไซยาไนด์และซัลไฟด์ ดังปฏิกิริยาที่ 1 ขณะเดียวกันโลหะไซยาไนด์เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างไซยาไนด์กับโลหะหนัก ดังปฏิกิริยาที่ 2



โลหะไซยาไนด์และไซโอไซยานเนตสามารถถูกย่อยสลายทางชีวภาพได้ ตามปฏิกิริยาที่ 3 และ 4 ขณะเดียวกันกรดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายไซโอไซยานเนตอาจช่วยปรับสภาพความเป็นเบสที่เกิดจากการบำบัดโลหะไซยาไนด์ได้อีกด้วย (Whitlock, 1990; Akcil, 2003) ดังนั้นการพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในการย่อยสลายโลหะไซยาไนด์และไซโอไซยานเนตจึงมีกรอบแนวคิดของการบำบัดสารประกอบทั้งสองชนิดดังภาพที่ 1.1



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวคิดของการย่อยสลายไซโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์รวมกลุ่มในระบบฟิซซ์-ฟิล์มไบโอสครีบบอร์

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 สารประกอบไซยาไนด์

สารประกอบไซยาไนด์ที่ปล่อยออกมาจากน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม จะสามารถคงตัวในสิ่งแวดล้อมในรูปแบบต่างๆ กัน โดยโรงงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวกับการชุบโลหะ การสังเคราะห์เส้นใย การทำเหมือง และการสกัดโลหะ จะทำให้เกิดของเสียที่มีสารประกอบไซยาไนด์จำนวนมาก (Knowles, 1976; Patterson, 1985; Wild, 1987) ซึ่งหากมีสารประกอบไซยาไนด์ตกค้างในน้ำเสีย จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม (Gonclaves et al., 1998) โดยทั่วไปแล้วไซยาไนด์ไอออนในรูปอิสระจะเกิดขึ้นน้อยมากในธรรมชาติเนื่องจากโมเลกุลนี้มีคุณสมบัติที่มีอันตรกิริยา (Interaction) สูง ในสิ่งแวดล้อมไซยาไนด์จะอยู่ร่วมกับสารประกอบอื่นๆ หรือถูกตรึงอยู่กับโลหะในรูปสารประกอบเชิงซ้อน โดยมีการค้นพบว่าธาตุต่างๆ รวม 28 ชนิดสามารถเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับไซยาไนด์ และเกิดสารประกอบเชิงซ้อนถึง 72 ชนิด สารประกอบของโลหะเชิงซ้อนที่สำคัญ และมักพบในน้ำทิ้ง ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี นิกเกิล โคบอลต์ และแคดเมียม โลหะเหล่านี้มีค่าคงที่เสถียรภาพ (Stability constant) ต่างกัน ตั้งแต่ต่ำสุด เช่น แคดเมียม ($10^{18.9}$) ไปสูงสุด เช่น โคบอลต์ ($10^{64.0}$) ซึ่งค่าคงที่เสถียรภาพนั้นเป็นตัวบ่งบอกถึงความสามารถของสารประกอบเชิงซ้อนที่จะแตกตัวให้ไซยาไนด์ไอออนอิสระ (Free cyanide) ดังนั้นโลหะเชิงซ้อนที่มีเสถียรภาพต่ำจึงเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่า ส่วนสารประกอบพวกเหล็กไซยาไนด์ซึ่งมักพบมากในสิ่งแวดล้อม ก็มีค่าคงที่เสถียรภาพสูงถึง $10^{35.4}$ สารประกอบเชิงซ้อนไซยาไนด์ของโลหะที่ปะปนออกมา จะสามารถคงทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ขึ้นกับองค์ประกอบหลายอย่าง เช่น เสถียรภาพของสารประกอบไม่ว่าจะอยู่ในสภาพของแข็ง หรือสารละลาย ซึ่งความเข้มข้นของสารประกอบไซยาไนด์ปริมาณสูงๆ ที่ตรวจพบในดินและน้ำ มักเป็นผลมาจากการจัดระบบน้ำทิ้งที่ไม่เหมาะสม ในกรณีที่เป็นสารละลายขององค์ประกอบต่างๆ เช่น ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนในน้ำ และการสลายตัวเนื่องจากแสงอัลตราไวโอเล็ต (ซัววลี, 2535)

ขณะเดียวกันไซยาไนด์ไอออนมักจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ เช่น ทำปฏิกิริยากับธาตุกำมะถันจากไฟโรต์และธาตุอื่นๆ เกิดเป็นไซโอไซยานต (SCN⁻) หรือเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะ หรือถูกปลดปล่อยออกสู่บรรยากาศ หรือถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์หรือถูกออกซิไดซ์กลายเป็นไซยานต (CNO⁻) และย่อยสลายทางเคมีกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย และฟอร์มเมท เป็นต้น (ซัววลี, 2535)

2.2 ไธโอไซยาเนต (Thiocyanate: SCN⁻)

การทำปฏิกิริยาของไซยาไนด์กับกำมะถัน (Sulfur; S) โดยซัลเฟอร์ที่ใช้เกิดจากการทำปฏิกิริยาของปูนขาวหรือไซยาไนด์กับแร่ Pyrrhotite หรือจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Sulphide ion ซึ่งละลายออกจากแร่ซัลไฟด์ ทำให้เกิดไธโอไซยาเนต (SCN⁻) ค่าคงที่ของการแตกตัว (Dissociation constant) ของกรดไธโอไซยานิก (Thiocyanic acid; HSCN) มีค่าใกล้ๆ ศูนย์ และ SCN⁻ จะปรากฏในสารละลายที่มีค่า pH มากกว่า 2 นอกจากนี้ไธโอไซยาเนต (SCN⁻) ยังสามารถทำปฏิกิริยากับโลหะต่างๆ เช่น เงิน พรอท ตะกั่ว ทองแดง และสังกะสี เกิดเป็นเกลือที่ไม่ละลายน้ำ เนื่องจากไธโอไซยาเนตสามารถถูกออกซิไดซ์ได้ จึงสามารถสลายตัวได้จากปฏิกิริยาของสิ่งมีชีวิตหรือจากการใช้สารเคมี กลายเป็นสารต่างๆ เช่น ไธยาเนต ไนเตรท แอมโมเนีย ไบคาร์บอเนต และซัลเฟต ซึ่งหากสะสมในปริมาณมากพออาจเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตได้ เช่น มีพิษเฉียบพลันสูงต่อระบบทางเดินหายใจ เป็นพิษต่อเนื้อเยื่อปอด ทำให้เกิดการระคายเคืองตาและผิวหนังได้ เป็นต้น (ปริษา, 2550; EPA, 1997)

2.3 โลหะหนัก (Heavy Metal)

โลหะหนัก (Heavy metal) หมายถึง โลหะธาตุที่มีความถ่วงจำเพาะตั้งแต่ 5.0 ขึ้นไป โดยไม่รวมโลหะหนักที่เป็นโลหะอัลคาไล และโลหะอัลคาไลเอิร์ท โดยทั่วไปจะเป็นธาตุในตารางธาตุที่มีเลขอะตอมในช่วง 23-92 อยู่ในคาบที่ 4-7 (ศุภมาส, 2540) ส่วนใหญ่เป็นแร่ธาตุในกลุ่มทรานสิชัน (Transition) และโพสต์ทรานสิชัน (Post transition) ซึ่งรวมถึง Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb และ Zn รวมทั้งสารเมทัลลอยด์ (Metalloids) เช่น As และ Se (Lester, 1987) โลหะหนักที่พบในสิ่งแวดล้อมโดยทั่วไปมีแหล่งปนเปื้อนของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมหลายแหล่งแบ่งออกเป็นแหล่งใหญ่ ๆ 2 แหล่ง (ศุภมาส, 2540) ได้แก่

(1) การปนเปื้อนจากธรรมชาติ ได้แก่ การปนเปื้อนของโลหะหนักจากปรากฏการณ์ทางธรรมชาติ เช่น จากหินที่มีโลหะหนักเป็นองค์ประกอบซึ่งเกิดการผุกร่อนหรือถูกกัดเซาะ และการระเบิดของภูเขาไฟ เป็นต้น

(2) การปนเปื้อนจากการกระทำของมนุษย์ ได้แก่ การปนเปื้อนของโลหะหนักจากกิจกรรมต่างๆ ที่มนุษย์ทำขึ้น เช่น การใช้สารเคมีในการเกษตร การทำเหมืองแร่ และน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม เป็นต้น

(2.1) การปนเปื้อนจากการใช้สารเคมีทางการเกษตร เช่น ปุ๋ย สารฆ่าแมลง สารกำจัดวัชพืช และสารกำจัดครา โดยในปุ๋ยจะมีตะกั่ว แคดเมียม นิกเกิล ปนอยู่ เมื่อนำมาใช้ก็จะสามารถปนเปื้อนในดินหรือสะสมในพืชได้ หรือในสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ จะมีโลหะหนักผสมอยู่ เช่น แคดเมียม ทองแดง และสังกะสี ซึ่งเมื่อมีการนำไปใช้ในการเกษตรก็สามารถปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม

(2.2) การปนเปื้อนจากการทำเหมืองแร่ เช่น การถลุงแร่สังกะสีจะได้แคดเมียม ซึ่งเป็นกากของเสีย หากไม่มีการกำจัดหรือบำบัดให้ถูกวิธี โลหะหนักนี้ก็อาจจะปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมได้ เช่นปนเปื้อนในดิน แหล่งน้ำ อากาศ เป็นต้น

(2.3) การปนเปื้อนจากน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรม เช่น การใช้แคดเมียมในการผลิตสีทาบ้าน สีชุบโลหะเพื่อป้องกันการกัดกร่อน สีย้อม หมึกพิมพ์ ทองแดงใช้เป็นส่วนประกอบของสารฆ่าแมลง ใช้เป็นชิ้นส่วนของอุปกรณ์ไฟฟ้าและอุปกรณ์ให้ความร้อน ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอและผลิตภัณฑ์เซรามิก และสังกะสีใช้เป็นส่วนประกอบของสารฆ่าแมลงกลุ่มคาร์บาเมต ใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เป็นต้น ซึ่งเมื่อผ่านกระบวนการผลิตแล้ว โลหะหนักเหล่านี้จะปนเปื้อนมากับน้ำทิ้ง ซึ่งถ้าการบำบัดไม่มีคุณภาพก็จะทำให้โลหะหนักปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมได้

2.3.1 แคดเมียม (Cadmium: Cd)

แคดเมียมเป็นโลหะที่มีอยู่ในน้ำตามธรรมชาติประมาณ 0.1-0.2 ไมโครกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักอะตอมเท่ากับ 112.40 มีจุดหลอมเหลวที่ 321 องศาเซลเซียส และมีจุดเดือดที่ 765 องศาเซลเซียส มีความหนาแน่นเท่ากับ 8.65 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรที่ 20 องศาเซลเซียส (พิมลและชัยวัฒน์, 2539) แคดเมียมมีสมบัติเป็นโลหะอ่อน ตัดได้ง่าย สีขาวและตีแผ่ได้ มีคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์คล้ายกับสังกะสี คือทนทานต่อการผุกร่อน สีนแร่แคดเมียม ได้แก่ Grenokit (Hexagonal; CdS), Hewleyite (Cubic; CdS), Cadmoselite (CdSe), Montepomite (CdO), Otavite (CdCO₃), และ Saukavite หรือ Cadmium metacinnabar (Hg, CdS) แคดเมียมในธรรมชาติพบอยู่ร่วมกับสังกะสีและตะกั่วเป็นส่วนใหญ่ แคดเมียมส่วนใหญ่เป็นผลพลอยได้จากการถลุงสินแร่สังกะสี อัตราส่วนระหว่างแคดเมียมต่อสังกะสีคือ 1 ต่อ 100 ถึง 1 ต่อ 1,000 แต่มีการนำแคดเมียมมาใช้ประโยชน์อย่างมากทั้งด้านการเกษตรกรรมซึ่งใช้เป็นองค์ประกอบของสารเคมีกำจัดวัชพืช (Herbicide) สารเคมีกำจัดเชื้อรา (Fungicide) ส่วนทางด้านอุตสาหกรรมใช้แคดเมียมเป็นส่วนประกอบในอุตสาหกรรมทำสีทาบ้าน สีชุบโลหะเพื่อป้องกันการกัดกร่อน สีย้อมเซรามิก เส้นใยแก้ว หมึกพิมพ์ ใช้เป็นส่วนผสมในการทำพลาสติกโพลีไวนิลคลอไรด์ (PVC) ใช้ในการชุบโลหะด้วยไฟฟ้าและใช้ในวงจรอิเล็กทรอนิกส์ชนิดต่างๆ นอกจากนี้ยังใช้แคดเมียมในอุตสาหกรรมเคลือบต่างๆ (พิมลและชัยวัฒน์, 2539) จากการใช้ประโยชน์แคดเมียมในด้านต่างๆ ทำให้เกิดการแพร่กระจายของแคดเมียมสู่สิ่งแวดล้อมและเกิดการสะสมในระบบนิเวศน์ตามลำดับห่วงโซ่อาหาร (Biological accumulation and biological magnification) และสุดท้ายจะทำให้เกิดพิษต่อมนุษย์

2.3.2 สังกะสี (Zinc: Zn)

สังกะสีเป็นธาตุที่มีน้ำหนักอะตอม 65.38 มีจุดหลอมเหลว 419.5 องศาเซลเซียส จุดเดือด 907 องศาเซลเซียส ความหนาแน่น 7.133 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ที่ 20 องศาเซลเซียส สังกะสีเป็นโลหะสีขาวแกมเทา มีความแข็งแต่เปราะพอสมควร ในธรรมชาติมักพบสังกะสีอยู่ในรูปของแร่ที่

สำคัญ คือ Zinc blende , Caramine ($ZnCO_3$) และ Zincite (ZnO) (พิมลและชัยวัฒน์, 2539) ในยุค ศตวรรษที่ 19 ได้มีการนำสังกะสีมาใช้มากขึ้น เช่น ทำโลหะผสมที่ไม่เป็นสนิม เป็นส่วนผสมของ เหล็ก ทำวัสดุก่อสร้าง ทำแบตเตอรี่รถยนต์ นอกจากนี้ Zinc oxide ยังใช้ในผลิตภัณฑ์อย่าง น้ยาฟอก ขาว ใช้เป็นส่วนประกอบของยาบางชนิด เช่น ยารักษาโรคขาดสารอาหาร และยังใช้เป็น ส่วนประกอบของสารฆ่าแมลงกลุ่มคาร์บาเมตอีกด้วย สังกะสีจะอยู่ในรูปแบบต่างๆ ของเอนไซม์ใน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและอยู่ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของลิปิดและคาร์โบไฮเดรต การปนเปื้อน สังกะสีในสิ่งแวดล้อมมีแหล่งที่สำคัญคือการถลุงแร่สังกะสี ทำให้สังกะสีเกิดการแพร่กระจาย ไปสู่ สิ่งแวดล้อมต่างๆ โดยพบว่าสังกะสีที่อยู่ในรูป Zn^{2+} จะสามารถเคลื่อนย้ายได้ดีในสภาพที่เป็นกรด ดังนั้นการแพร่กระจายของสังกะสีสู่สิ่งแวดล้อมจึงเกิดขึ้นได้ทั้งจากธรรมชาติและจากการกระทำของ มนุษย์ ในแหล่งน้ำธรรมชาติความเข้มข้นของสังกะสีจะขึ้นอยู่กับสารประกอบและพันธะเคมีของ สังกะสี โดยสังกะสีและออกไซด์ของสังกะสีมีความสามารถในการละลายน้ำเล็กน้อย ส่วนสังกะสี คลอไรด์สามารถละลายน้ำได้ดีและ ไอออนของสังกะสีในน้ำจะถูกดูดซึมโดยดินตะกอน

2.3.3 ความเป็นพิษของโลหะหนัก

โลหะหนักในสิ่งแวดล้อมสามารถจำแนกตามลักษณะทางชีวภาพตามระดับความเป็นพิษต่อ สิ่งมีชีวิตได้เป็น 3 กลุ่ม

- (1) โลหะหนักที่มีความเป็นพิษต่ำและพบในปริมาณสูงตามธรรมชาติ เช่น Na, K, Mg, Ca, Fe, Li, Rb และ Sr
- (2) โลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูง แม้จะใช้ในความเข้มข้นต่ำ เช่น Co, Ni, Cu, Zn, Sn, As, Se, Au, Ag, Hg, Pb, Cd และ Bc
- (3) โลหะหนักที่มีความเป็นพิษแต่พบในปริมาณน้อยตามธรรมชาติ เช่น Ti, Hf, Zr, Nb, Ta, Ga, La และ Ru

2.3.3.1 ความเป็นพิษของแคดเมียม

ความเป็นพิษของแคดเมียมต่อมนุษย์มีทั้งผลเฉียบพลันและผลแบบเรื้อรัง โดย แคดเมียมในอาหารจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายโดยผ่านทางลำไส้ ร้อยละ 3-8 ผ่านระบบทางเดินหายใจ ร้อยละ 13-15 โดยจะไปสะสมที่ไต ร้อยละ 33 สะสมที่ตับร้อยละ 13.8 สะสมที่ตับอ่อน และร้อยละ 3.3 สะสมที่เนื้อเยื่อ ใน 1 วันแคดเมียมสามารถสะสมไว้ในร่างกาย 2 ไมโครกรัม บางครั้งอาจสูงถึง 3-4 ไมโครกรัมในผู้ที่สูบบุหรี่จัดหรือผู้ที่อยู่ในบริเวณที่มีแคดเมียมสะสมอยู่ในปริมาณที่สูง ปริมาณ 2 ไมโครกรัมต่อวันนี้จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามอายุ เนื่องจากค่าครึ่งชีวิต (Biological half life) ของ แคดเมียมนานถึง 16-23 ปี จึงทำให้การสลายตัวใช้เวลานาน แคดเมียมที่ปนมากับอุจจาระจะถูก ขับถ่ายออกจากเยื่อ (Muscosal) ในกระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับอ่อน น้ำดี และต่อมพาราไธรอยด์ (Parathyroid gland) แคดเมียมปริมาณน้อยๆจะถูกขับถ่ายออกมาทั้งที่ผ่านทางผิวหนังและเส้นผมสำหรับความ

เป็นพิษเฉียบพลันของแคดเมียม ถ้าได้รับสูงถึง 326 มิลลิกรัมจากอาหาร จะมีอาการปวดหัว ปวดท้องอย่างรุนแรง เสมหะมาก อาเจียน ท้องเดิน ถ้าได้รับในปริมาณ 350 มิลลิกรัมถึง 1 กรัม อาจทำให้เกิดอาการช็อคและตายภายใน 24 ชั่วโมง แคดเมียมที่กระจายอยู่ในอากาศอยู่ในรูปไอของแคดเมียมออกไซด์ถ้าได้รับไอแคดเมียมในปริมาณสูงจะเป็นอันตรายต่อปอดอย่างเฉียบพลันภายใน 2-4 ชั่วโมง จะทำให้เกิดอาการปอดอักเสบ เจ็บหน้าอก และตายได้ (วิสุทธิ, 2537) สำหรับพิษเรื้อรังของแคดเมียมถ้ามีการสะสมแคดเมียมในปริมาณสูงจะทำให้มีผลโดยตรงต่อการสร้างกระดูก โดยแคดเมียมจะไปลดการสะสมของธาตุแคลเซียมและจะไม่มีการสะสมคอลลาเจนในกระดูก แคดเมียมจะทำให้เอนไซม์ไลซิโลออกซิเดส (Lysyl oxidase) หดประสิทธิภาพ จึงทำให้กระดูกผุอ่อนเสียรูป ถ้าร่างกายได้รับแคดเมียม 170-500 ไมโครกรัมต่อวัน เป็นเวลานานจะก่อให้เกิดโรคโลหิตจาง ความดันโลหิตสูง แคดเมียมจะมีผลต่อการทำงานของร่างกายทุกระบบ เช่น ถ้าได้รับแคดเมียมปริมาณ 0.6-1.0 มิลลิกรัมต่อวัน จะทำให้การทำงานของไตผิดปกติส่งผลให้การขับถ่ายโปรตีนออกจากร่างกายมากเกินไป นอกจากนี้ยังทำลายระบบทางเดินอาหาร ระบบประสาทส่วนกลาง โดยเส้นประสาทถูกทำลายทำให้ระบบเมตาบอลิซึมของธาตุเหล็ก ตังกะสี และทองแดงทำงานผิดปกติ มีรายงานการพบโรคที่เกิดจากพิษของแคดเมียมเป็นครั้งแรกที่เมืองโทยามะ ประเทศญี่ปุ่น โดยเกิดอาการเริ่มต้นที่ไตล้มเหลว ปวดกระดูก จนถึงกระดูกผิดรูป (Deformed bone) อาการของโรคที่พบมากที่สุดคือ ฐีสึกเจ็บจากอาการปวดกระดูกโดยเฉพาะกระดูกต้นขา กระดูกสันหลัง และกระดูกซี่โครง โรคนี้เรียกว่าโรคอิไต-อิไต (Itai-Itai) WHO กำหนดให้มีปริมาณแคดเมียมในน้ำอุปโภคบริโภคได้ไม่เกิน 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร (Lester, 1987) และแคดเมียมที่ร่างกายยอมรับได้เท่ากับ 20-76 ไมโครกรัมต่อวัน

2.3.3.2 ความเป็นพิษของสังกะสี

ความเป็นพิษของสังกะสีต่อมนุษย์ สังกะสีสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ 2 ทาง คือ ระบบทางเดินอาหาร โดยการบริโภคและดื่มน้ำและระบบทางเดินหายใจโดยการหายใจเข้าไป สำหรับการสูดดมนั้นสังกะสีจะอยู่ในรูปของ Zinc chloride ($ZnCl_2$) จะสามารถทำให้เป็นโรคปอดหรือหอบหืดได้ และหากสูดดมเข้าไปในปริมาณมากอาจทำให้เป็นโรควัณโรคได้ สำหรับการรับประทานอาหารหรือดื่มน้ำที่มีสังกะสีปนเปื้อนจะไม่มีอันตรายหากมีปริมาณไม่มาก แต่หากรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนของสังกะสีที่เป็นกัลวานิกส์ (Galvanizi product) ประมาณ 225-450 มิลลิกรัม หรือในรูปของ Zinc sulfate ($ZnSO_4$) อาจเกิดอาการปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง หรืออาจเป็นตะคริวที่ท้องน้อย (สุกมาศ, 2540)

2.4 สารประกอบโลหะไซยาไนด์ (Metal cyanide complexes)

ไซยาไนด์จะอยู่ร่วมกับสารประกอบอื่นๆ หรือถูกตรึงอยู่กับโลหะในรูปของสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งแบ่งสารประกอบไซยาไนด์ชนิดต่างๆ ตามลักษณะของโมเลกุลได้เป็นสารประกอบไซยาไนด์เชิงเดี่ยว (Simple cyanide) และสารประกอบไซยาไนด์เชิงซ้อน (Cyanide complex)

2.4.1 สารประกอบไซยาไนด์เชิงเดี่ยว (Simple cyanide) คือ ไซยาไนด์อิสระ และสารประกอบไซยาไนด์กับโลหะอัลคาไลด์

2.4.2 สารประกอบไซยาไนด์เชิงซ้อน (Cyanide complex) เป็นสารประกอบไซยาไนด์ที่สามารถทำปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับโลหะหนักได้ทุกประเภท ซึ่งเกิดขึ้นจากการจับตัวกันของไซยาไนด์ไอออนกับโลหะหนัก (M) ที่ละลายอยู่ในน้ำ ดังสมการ



สารประกอบของไซยาไนด์กับโลหะหนัก เป็นสารประกอบที่ละลายน้ำได้ดีแต่จะมีบางรูปแบบที่ตกตะกอนได้เช่นกัน โลหะหนักแต่ละชนิดสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้หลายรูปแบบ และสารประกอบเชิงซ้อนของไซยาไนด์แต่ละแบบจะมีค่าความคงตัว (β) แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2.1 ซึ่งจะบ่งบอกถึงความแข็งแรงของพันธะโมเลกุล

ตารางที่ 2.1 ค่าคงที่ของค่าความคงตัว (β) ของสารประกอบเชิงซ้อนของไซยาไนด์ (Benjamin, 2002; Gherrou and Kerdjoudj, 2002)

โลหะหนัก	$\log \beta$			
เหล็ก (Fe^{2+})	$Fe(CN)_6^{4-}$ 52.44	$FeH(CN)_6^{2-}$ 50	$FeH_2(CN)_6^-$ 45.61	
เหล็ก (Fe^{3+})	$Fe(CN)_6^{3-}$ 52.63	-	-	
ทองแดง (Cu^+)	$Cu(CN)_2^-$ 24.0	$Cu(CN)_3^{2-}$ 28.6	$Cu(CN)_4^{3-}$ 30.3	
ทองแดง (Cu^{2+})	$Cu(CN)_2$ -	$Cu(CN)_3^-$ -	$Cu(CN)_4^{2-}$ -	
นิกเกิล (Ni^{2+})	$Ni(CN)_2$ 14.59	$Ni(CN)_3^-$ 22.64	$NiH_3(CN)_3^{2+}$ 43.95	
สังกะสี (Zn^{2+})	$Zn(CN)_2$ 11.07	$Zn(CN)_3^-$ 16.05	$Zn(CN)_4^{2-}$ 16.72	

หมายเหตุ: สารประกอบเชิงซ้อนกับทองแดง (Cu^{2+}) ไม่มีการรวบรวมอย่างเป็นทางการจึงไม่สามารถระบุค่าคงที่ของค่าความคงตัว (β) ได้

สารประกอบเชิงซ้อนของไซยาไนด์กับโลหะหนัก แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ตามความสามารถในการแตกตัว คือ Weak acid dissociable cyanide (WAD cyanide), Moderately strong acid dissociable cyanide และ strong acid dissociable cyanide (SAD cyanide) ดังนี้

2.4.2.1 Weak cyanide complex

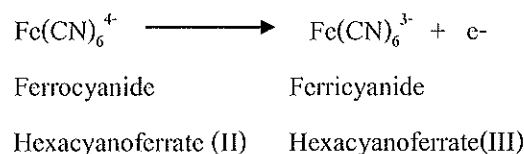
Weak cyanide complex เป็นสารเชิงซ้อนของไซยาไนด์ที่มีพันธะไม่แข็งแรง เนื่องจากสามารถแตกตัวได้ง่าย เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรดอ่อน จึงทำให้มีเสถียรภาพต่ำ เช่น $Zn(CN)_4^{2-}$, $Cd(CN)_3^-$, $Cd(CN)_4^{2-}$ (Botz., 2001) โดยชนิดของโลหะที่มีพันธะเคมีกับไซยาไนด์เป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดความเสถียรของสารเชิงซ้อนเหล่านี้ ซึ่งสารประกอบไซยาไนด์กับสังกะสีและแคดเมียมมีความเสถียรต่ำสุด จึงอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและเกิดมลพิษได้

2.4.2.2 Moderately strong cyanide complex

Moderately strong cyanide complex เป็นสารเชิงซ้อนของไซยาไนด์ที่สามารถแตกตัวได้เล็กน้อย เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรดอ่อน เช่น $Cu(CN)_2^-$, $Cu(CN)_3^{2-}$, $Ni(CN)_4^{2-}$, $Ag(CN)_2^-$ โดยสารเชิงซ้อนของไซยาไนด์กับโลหะในกลุ่มนี้สามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว เมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์ในสารละลายเพิ่มขึ้น เรียกกลไกนี้ว่า Step-wise manner สัดส่วนของสารเชิงซ้อนของไซยาไนด์กับโลหะชนิดต่างๆ กัน จะมีปริมาณแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไซยาไนด์ชนิดของโลหะ และ pH ของสารละลาย

2.4.2.3 Strong cyanide complex

Strong cyanide complex เป็นสารเชิงซ้อนของไซยาไนด์ที่แตกตัวได้ยากเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรดที่อุณหภูมิห้อง แต่สามารถแตกตัวได้สูงขึ้นในสภาวะที่เป็นกรดแก่และอุณหภูมิสูงขึ้น โลหะที่จัดเป็นสารเชิงซ้อนในกลุ่มนี้ ได้แก่ เหล็ก ทองคำ และ โคบอลต์ ซึ่งสลายตัวช้ากว่าสารเชิงซ้อนในกลุ่ม Weak และ Moderately strong complexed cyanide มาก แต่เนื่องจากโคบอลต์เป็นธาตุที่พบปริมาณน้อยมากๆ ในแร่ ต่างจากเหล็กซึ่งเป็นธาตุที่พบมากในแร่ทั่วไป ดังนั้นเมื่อกล่าวถึงสารเชิงซ้อนในกลุ่ม Strong cyanide complex จึงมักหมายถึง เหล็กไซยาไนด์ (Iron cyanide) หรือ Hexacyanoferrate สารเชิงซ้อน Iron cyanide ส่วนใหญ่ประกอบด้วย Ferrocyanide ($Fe(CN)_6^{4-}$) และ Ferricyanide ($Fe(CN)_6^{3-}$) โดยไซยาไนด์จะทำปฏิกิริยากับเหล็กซึ่งอยู่ในสภาพรีดิวซ์ คือ มีประจุ +2 กลายเป็นสารเชิงซ้อน Hexacyanoferrate (II) หรือ Ferrocyanide จากนั้น Ferrocyanide จะถูกออกซิไดส์อย่างรวดเร็ว กลายเป็น Hexacyanoferrate (III) หรือ Ferricyanide ซึ่งเหล็กที่ถูกออกซิไดส์จะมีประจุ +3 ดังปฏิกิริยา



Hexacyanoferrate จัดเป็นสารเชิงซ้อนที่เฉื่อย เนื่องจากมีความเสถียรสูงและมีความเป็นพิษต่ำ การทำลายโมเลกุล Hexacyanoferrate ในสภาวะที่ไม่มีแสงแดดเข้ามาเกี่ยวข้องนั้น จะต้องใช้กระบวนการเฉพาะ แต่ในสภาพแวดล้อมที่ต้องเผชิญกับแสงอัลตราไวโอเล็ตที่มีความเข้มสูงๆ

Hexacyanoferrate จะเกิดปฏิกิริยา Photolysis และ Hydrolysis โดยโมเลกุลน้ำจะเข้าแทนที่โมเลกุลไฮยาไนด์ในสารเชิงซ้อน ทำให้เกิดการสลายตัวกลายเป็น Free cyanide ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้สารในกลุ่มนี้เมื่อรวมตัวกับโลหะอีกตัวหนึ่ง (Double metalocyanide complex) จะเกิดตะกอนของสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งถ้าเป็นโลหะอัลคาไลนจะได้อ Alkali-metal cyanide complex ซึ่งมีสูตรทางเคมี ดังนี้



- เมื่อ A คือ Alkali metal cation (เช่น Na^+ หรือ K^+)
 M คือ Transition series metal (เช่น Fe, Cu, Co, Ni, Cr และ Zn)
 a คือ Number of cation
 b คือ Number of cyanide group

ความเป็นพิษของสารประกอบโลหะไฮยาไนด์นั้น จัดเป็นกลุ่มที่เป็นพิษเนื่องจากสามารถแตกตัวให้สารประกอบไฮโดรเจนไฮยาไนด์ได้ ซึ่งทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้สารประกอบโลหะไฮยาไนด์ยังมีความเป็นพิษ โดยตัวของโลหะเองอีกด้วย (Ebbs, 2004; Baxter and Cummings, 2006)

2.5 เสถียรภาพของสารประกอบไฮยาไนด์

ไฮยาไนด์อิสระเป็นกลุ่มที่มีเสถียรภาพต่ำสุด เมื่ออยู่ในสถานะที่เป็นกลางถึงกรดอ่อน Simple cyanide compound ในกลุ่มที่ละลายน้ำได้ง่ายจะมีเสถียรภาพค่อนข้างต่ำ เนื่องจากเมื่อละลายน้ำแล้ว ทำให้เกิดไฮยาไนด์ไอออนที่สามารถเปลี่ยนรูปเป็นแก๊สไฮโดรเจนไฮยาไนด์ได้อย่างรวดเร็ว ส่วน Complex cyanide เป็นกลุ่มที่มีเสถียรภาพสูงกว่าไฮยาไนด์อิสระ โดยที่ Weak cyanide complex และ Moderately strong cyanide complex สามารถแตกตัวได้ง่าย เมื่ออยู่ในสถานะเป็นกรดอ่อน จึงมีเสถียรภาพต่ำกว่ากลุ่ม Strong cyanide complex ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะที่มีพันธะเคมีกับไฮยาไนด์เป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดความเสถียรของสารเชิงซ้อนในกลุ่มนี้ โดยพบว่าสารเชิงซ้อนของไฮยาไนด์กับสังกะสีและแคดเมียมมีความเสถียรต่ำสุด ส่วนสารเชิงซ้อนของไฮยาไนด์กับเหล็กและโคบอลต์มีความเสถียรสูงสุด แต่ในสถานะที่เป็นกรดแก่หรือมีความเข้มข้นสูง สารเชิงซ้อนของเหล็กและโคบอลต์อาจแตกตัวและให้ไฮยาไนด์ไอออนได้ โดยค่าความเสถียรของสารเชิงซ้อนของไฮยาไนด์กับโลหะชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2.2 จะเห็นได้ว่า สารเชิงซ้อนของไฮยาไนด์ในกลุ่มของ Strong cyanide complex จะมีความเสถียรสูงสุด

ตารางที่ 2.2 ค่าความเสถียร (Stability constant: log K) ของสารประกอบ ไซยาไนด์ (U.S. EPA, 1994; Meehan, 2000)

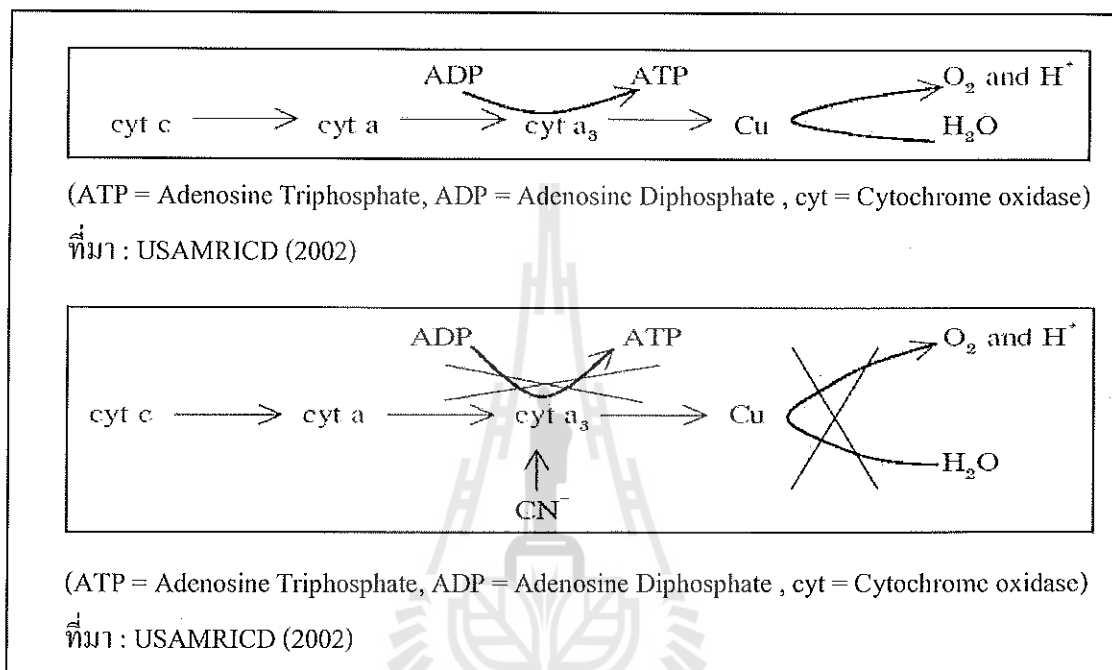
สารเคมี	สูตรเคมี	ค่าความเสถียร (log K)
Hexacyanocobaltate	$[\text{Co}(\text{CN})_6]^{3-}$	64.0
Hexacyanoferrate(III)	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$	43.6
Mercurycyanide	$[\text{Hg}(\text{CN})_4]^{2-}$	41.4
Hexacyanoferrate(II)	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$	35.4
Tetracyanonickelate	$[\text{Ni}(\text{CN})_4]^{2-}$	31.8
Tetracyanocuprate	$[\text{Cu}(\text{CN})_4]^{3-}$	30.3
Dicyanoargentate	$[\text{Ag}(\text{CN})_2]^{-}$	21.0
Dicyanocuprate	$[\text{Cu}(\text{CN})_2]^{-}$	18.8
Tetracyanozincate	$[\text{Zn}(\text{CN})_4]^{2-}$	16.9
Tetracyanocadmiate	$[\text{Cd}(\text{CN})_4]^{2-}$	16.8
Zinc Cyanamide	$\text{Zn}(\text{CN})_2$	11.1
Cadmium Cyanide	$\text{Cd}(\text{CN})_2$	11.0
Hexacyanomanganate	$[\text{Mn}(\text{CN})_6]^{3-}$	9.7
Hydrogen Cyanide	HCN	9.2
Zinc Cyanide	ZnCN^+	5.3

อัตราการสลายตัวของสารเชิงซ้อนของไซยาไนด์กับโลหะต่างๆ เป็น Free cyanide นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ความเข้มข้นของแสงแดด อุณหภูมิของน้ำ ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณ Total dissolved solid และความเข้มข้นของสารเชิงซ้อนของไซยาไนด์ เป็นต้น โดยพบว่า เมื่อ pH และความเข้มข้นของสารเชิงซ้อนมีค่าลดลง จะมีผลทำให้เกิด Free cyanide มากขึ้น (Mudder et al., 2001)

2.6 กลไกการเกิดพิษของไซยาไนด์

เมื่อไซยาไนด์เข้าสู่กระแสเลือด ไซยาไนด์จะสามารถสร้างพันธะกับไซโตโครมออกซิเดสได้ ทั้งในรูปออกซิไดซ์ และรีดิวซ์ โดยรวมตัวกับ Fe^{3+} ในไซโตโครมออกซิเดส (Cytochrome oxydase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรียของเซลล์ในระหว่างการสังเคราะห์ ATP (Adenosin triphosphate) แต่อัตราการเกิดปฏิกิริยากับไซโตโครมออกซิเดสในรูปออกซิไดซ์เกิดขึ้นช้ากว่าการทำปฏิกิริยากับไซโตโครมออกซิเดสในรูปรีดิวซ์แต่ได้พันธะที่แข็งแรงกว่า เมื่อเอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำหน้าที่ได้ เซลล์จึงไม่สามารถใช้ออกซิเจนในเลือดได้ ทำให้

เกิดภาวะพร่องออกซิเจน (Cytotoxic hypoxia หรือ Cellular asphyxiation) การขาดออกซิเจนทำให้กระบวนการเผาผลาญสารอาหาร (Metabolism) เปลี่ยนจากกระบวนการใช้ออกซิเจน (Aerobic) เป็นกระบวนการที่ไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic) ทำให้เกิดการสะสมแลคเตทในเลือด (Lactate acidosis) จากการเกิดภาวะ Hypoxia และ Lactate acidosis จะทำให้เกิดการกดระบบประสาทส่วนกลาง มีผลให้การหายใจหยุดชะงักและถึงตายได้ กลไกการเกิดพิษของไซยาไนด์ดังแสดงในภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 กลไกการเกิดพิษของไซยาไนด์

2.6.1 ผลกระทบของไซยาไนด์ต่อสิ่งมีชีวิต

2.6.1.1 ผลกระทบต่อมนุษย์

ไซยาไนด์เป็นสารเคมีที่มีผลกระทบต่อระบบการทำงานของส่วนต่างๆ ของร่างกายหลายระบบ เช่น

- (1) ระบบเลือด ทำให้ความดันโลหิตต่ำ
- (2) ระบบหัวใจ ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจไม่ปกติ
- (3) ระบบการหายใจ ทำให้การหายใจขัดข้อง
- (4) ระบบประสาท ทำให้เกิดอาการมึนงง ขาดสติ
- (5) ระบบสายตา ทำให้ประสิทธิภาพการมองเห็นลดลง
- (6) ระบบการเผาผลาญสารอาหาร ทำให้การสร้างพลังงานลดน้อยลง

ความรุนแรงของอาการจากการได้รับสารพิษไซยาไนด์ขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้น ชนิดของสารประกอบ ปริมาณการดูดซับ และระยะเวลาในการสัมผัส ถ้ามีความเข้มข้นสูงอาจถึงตายได้ภายในเวลาไม่กี่นาที อาการขั้นไม่รุนแรง จะมีอาการอ่อนเพลีย หายใจขัดข้อง ปวดศีรษะ หน้ามืด วิงเวียน กระวนกระวายและอาเจียน ถ้าได้รับในปริมาณไม่มากนัก เมื่อเคลื่อนย้ายผู้ป่วยออกจากบริเวณที่สัมผัสไซยาไนด์จะมีอาการดีขึ้น อาการขั้นรุนแรง อาจทำให้การหายใจหยุดชะงัก หหมดสติ และอาจถึงตายได้

2.6.1.2 ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ

สิ่งมีชีวิตในน้ำที่จะได้รับผลกระทบจากพิษของไซยาไนด์ จะเป็นกลุ่มของสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อปลาซึ่งเป็นสัตว์ที่ไวต่อความเป็นพิษของไซยาไนด์ที่สุด เช่น ความเข้มข้นของไซยาไนด์ 5-7.2 ไมโครกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ว่ายน้ำช้าลง ยับยั้งระบบสืบพันธุ์ ความเข้มข้นของไซยาไนด์ 20-76 ไมโครกรัมต่อลิตร ทำให้ตายและถ้าความเข้มข้นสูงกว่า 200 ไมโครกรัมต่อลิตร จะเกิดความเป็นพิษอย่างรวดเร็ว ส่วนสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ที่ความเข้มข้นของไซยาไนด์ประมาณ 30-100 ไมโครกรัมต่อลิตร ทำให้ถึงตายได้ นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน อายุ (Life stage) และสภาพของสิ่งมีชีวิตก็มีผลต่อระดับความเป็นพิษของไซยาไนด์เช่นกัน ส่วนสาหร่ายและพืชน้ำสามารถทนทานต่อระดับความเป็นพิษของไซยาไนด์ได้สูงกว่าปลาและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและจะไม่แสดงผลกระทบใดเมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์ 160 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือมากกว่านั้น ปริมาณไซยาไนด์ที่อยู่ในระดับที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ แต่จะไม่มีผลกระทบต่อพืชน้ำ

2.6.1.3 ผลกระทบต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

พิษของไซยาไนด์ต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมค่อนข้างพบได้บ่อยมาก เนื่องจากพืชจำนวนมากมีสารประกอบไซยาไนด์ (Cyanogenic plant) เช่น ข้าวฟ่าง ข้าวโพด กะหล่ำปลี เมล็ดอัลมอนด์ และมันสำปะหลัง เป็นต้น ความเข้มข้นของสารประกอบไซยาไนด์ในพืชเหล่านี้ขึ้นอยู่กับฤดูกาล เช่น ในช่วงฤดูใบไม้ผลิ ความเข้มข้นของสารประกอบไซยาไนด์ก็จะสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้สภาพอากาศที่แห้งแล้งยังเป็นปัจจัยกระตุ้นให้เกิดการสะสมสาร Cyanogenic glycoside ในพืชบางชนิด ค่า LD₅₀ ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะอยู่ในช่วง 2.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (สุนัขจิ้งจอก) และ 6-10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (หนูขาว) เมื่อได้รับพิษแบบเฉียบพลัน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะแสดงอาการภายใน 10 นาทีหลังจากการกินอาหารที่มีการปนเปื้อนของไซยาไนด์ จะมีอาการกล้ามเนื้อกระตุก น้ำลายไหล ปัสสาวะ การหายใจติดขัด การทำงานของกล้ามเนื้อไม่ประสานกัน หอบและชัก ดูเหมือนว่าวัวจะเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่ไวต่อพิษของไซยาไนด์ที่สุด รองลงมาได้แก่ แกะ ม้า และ หมู ส่วนกวางจะเป็นสัตว์ที่ทนต่อพิษของไซยาไนด์ได้เป็นอย่างดี

2.7 มาตรฐานสากล

2.7.1 ค่ามาตรฐานสารประกอบไซยาไนด์

ค่าที่กำหนดของแต่ละสถาบันเป็นการกำหนดปริมาณไซยาไนด์ในรูปไซยาไนด์อิสระ แต่ไม่ได้มีการกำหนดค่ามาตรฐานสำหรับสารประกอบไซยาไนด์ในรูปอื่น อย่างไรก็ตาม ได้มีนักวิจัยหลายท่านที่พยายามทำการทดลองความเป็นพิษของสารประกอบไซยาไนด์ในรูปอื่น เช่น สารประกอบไซยาไนด์เชิงซ้อนกับโลหะ (Metal cyanide complexes) ไธโอไซยาเนต (Thiocyanate) เป็นต้น

2.7.1.1 สารประกอบไซยาไนด์เชิงซ้อนกับโลหะ (Metal cyanide complexes)

สารประกอบไซยาไนด์เชิงซ้อนกับโลหะจัดเป็นสารประกอบไซยาไนด์ที่เป็นพิษน้อยกว่าไซยาไนด์ในรูปอื่น อย่างไรก็ตามสารประกอบเหล่านี้ก็อาจแตกตัวให้สารประกอบไฮโดรเจนไซยาไนด์ ได้ ซึ่งทำให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ สารประกอบโลหะไซยาไนด์บางชนิดยังมีความเป็นพิษโดยตัวของโลหะเอง เช่น สารประกอบเงิน ทองแดง และนิกเกิลไซยาไนด์ หรือแม้แต่เหล็กไซยาไนด์ซึ่งไม่เป็นพิษ แต่เมื่อสัมผัสกับแสงแดดก็จะแตกตัวให้ไซยาไนด์อิสระ ความเข้มข้นของสารประกอบไซยาไนด์ที่ก่อให้เกิดพิษต่อสิ่งมีชีวิตดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ความเข้มข้นของสารประกอบไซยาไนด์ที่ก่อให้เกิดพิษต่อสิ่งมีชีวิต

สารประกอบ	ระดับความเข้มข้น (mg/l)
Sodium cyanide	0.02-0.3
Potassium cyanide	0.02-0.3
Zinc cyanide	0.02-0.3
Cadmium cyanide	0.02-0.3
Copper cyanide	0.4-4.0
Nickel cyanide	0.4 (pH 6.5)-730 (pH 8.0)
Iron cyanide	300 (in darkness)/less than 0.2 (in light)
Iron cyanide (Environmental Australia 1998)	860-1,210 (in dark)/ 35 (in light)

ที่มา : Moran (2000)

2.7.1.2 ไธโอไซยาเนต (Thiocyanate)

ไธโอไซยาเนตเป็นพิษต่อมนุษย์ที่ระดับความเข้มข้นเกินกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ปกติคนที่ไม่สูบบุหรี่จะมีไธโอไซยาเนต 1-4 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำเลือด ส่วนคนที่สูบบุหรี่จะมี

ประมาณ 3-12 มิลลิกรัมต่อลิตร) เป็นพืชต่อปลาที่ระดับความเข้มข้น 90-200 มิลลิกรัมต่อลิตร และเป็นพืชต่อปลาบรูกเทรสต์ ที่ระดับความเข้มข้น 24-70 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.8 การบำบัดไรโอโซยานาและโลหะโซยาไนต์โดยกระบวนการทางชีวภาพ

สารประกอบโซยาไนต์เป็นสารที่มีความเป็นพิษสูงในสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะในระบบทางเดินหายใจ แต่ยังคงมีการใช้สารประกอบโซยาไนต์ในปริมาณมากตามโรงงานอุตสาหกรรม เพื่อเป็นการรักษาสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรน้ำ จึงต้องมีการบำบัดน้ำเสียที่มีส่วนผสมของสารประกอบโซยาไนต์ก่อนการปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อม แต่วิธีการทางเคมีมีค่าใช้จ่ายสูงและใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย และยังไม่สามารถลดสารประกอบโซยาไนต์ได้อย่างสมบูรณ์ ดังนั้นจึงได้มีการนำวิธีการทางชีวภาพเข้ามาใช้ในการบำบัดสารประกอบโซยาไนต์ เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายไม่สูงและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม (Dubey and Holmes, 1995) ทั้งนี้จุลินทรีย์มีระบบเอนไซม์และกระบวนการสลายสารประกอบโซยาไนต์เฉพาะตัว จึงสามารถใช้สารประกอบโซยาไนต์เป็นแหล่งของคาร์บอนและ/หรือไนโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโต และเข้าทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนสารประกอบโซยาไนต์ให้เป็นแอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน ไนไตรท์ ไนเตรท ไบคาร์บอเนต ซัลเฟต (Gantzer and Maier, 1990; Chapatwala et al., 1998; Chakraborty and Veeramani, 2006; Jeong and Chung, 2006; Sirianuntapiboon and Chuamkaew, 2007; Potivichayanon and Kitleartpornpairat, 2010) ขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบโซยาไนต์ ซึ่งในการศึกษาวิจัยส่วนใหญ่จะแยกทำการบำบัดสารประกอบโซยาไนต์แต่ละชนิด เช่น การย่อยสลายโซยาไนต์ การย่อยสลายไรโอโซยานา การย่อยสลายโลหะโซยาไนต์ (Silva-avalos et al., 1990; Hung and Pavlostathis, 1997; Barclay et al., 1998; Patil and Paknikar, 2000; Jeong and Chung, 2006; Dash et al., 2009; Gurbuz et al., 2009; Potivichayanon and Kitleartpornpairat, 2010) ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้ออกแบบทำการพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารประกอบโซยาไนต์มากกว่าหนึ่งชนิดเพื่อให้สามารถประยุกต์ใช้จริงในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมซึ่งมีการปนเปื้อนสารประกอบโซยาไนต์มากกว่าหนึ่งชนิดได้

2.8.1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการบำบัดโซยาไนต์ด้วยจุลินทรีย์

การบำบัดโซยาไนต์ด้วยจุลินทรีย์จะให้ประสิทธิภาพสูง เมื่อมีการควบคุมปัจจัยต่างๆ ให้เหมาะสม ดังนี้

2.8.1.1 อุณหภูมิที่เหมาะสม

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการบำบัดด้วย Aerobic bacteria และ Anaerobic bacteria คือ

10-30°C และ 25-45 °C ตามลำดับ

2.8.1.2 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่า pH ที่เหมาะสมในการบำบัดด้วย Aerobic bacteria และ Anaerobic bacteria คือ 6.0 ถึง 9.0 และ 6.5 ถึง 7.0 ตามลำดับ

2.8.1.3 ปริมาณออกซิเจน

ควบคุมปริมาณออกซิเจนให้เพียงพอหรือมีปริมาณมากกว่า 1 - 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการบำบัดด้วย Aerobic bacteria ส่วนการบำบัดด้วย Anaerobic bacteria นั้นจะต้องไม่มีออกซิเจนเลย

2.8.1.4 สารอาหารจำเป็น

จัดเตรียมสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ประกอบด้วย ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสให้เพียงพอ

2.8.2 กระบวนการย่อยสลายไซยาไนด์และไอโซไซยาเนตและโลหะไซยาไนด์ทางชีวภาพ

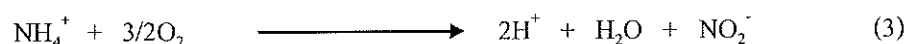
ในกระบวนการ Aerobic biological treatment ไซยาไนด์อิสระจะถูกออกซิไดซ์ด้วย จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ เช่น *Pseudomonas*, *Alcaligenes* และ *Achromobacter* กลายเป็นไซยาเนต ดังปฏิกิริยา



ส่วน Weak-moderately strong cyanide complex จะถูกกำจัดออกโดยสารเชิงซ้อนโลหะจะถูกดูดซับบน Biofilm ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เกาะรวมตัวกันเป็นอยู่บนตัวกลาง จากนั้นไซยาไนด์จะถูกเปลี่ยนไปเป็นไซยาเนต ขณะที่ Iron cyanide จะไม่ถูกทำให้สลายไป แต่จะถูกกำจัดด้วยการตกตะกอน (Precipitation) และการดูดซับ (Adsorption) นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังสลายไซยาเนตปริมาณมากที่ถูกผลิตขึ้นเป็นแอมโมเนีย (NH_3^+) และไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) และไซยาเนตจะถูกเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนีย ซัลเฟต และไบคาร์บอเนต ดังปฏิกิริยา



แอมโมเนียจะถูกออกซิไดส์ด้วยจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจน (Nitrifying organisms) กลายเป็นไนไตรต์ (Nitrite) และไนเตรท (Nitrate) ตามลำดับ



โดยปฏิกิริยาสุทธิแสดงดังปฏิกิริยาที่ 5 จะพบว่าเป็นปฏิกิริยาที่ใช้ต่าง แต่ได้กรดเป็นผลิตภัณฑ์ จึงจำเป็นต้องรักษาระดับความเป็นด่างขณะเกิดปฏิกิริยาให้เหมาะสม



จากนั้นไนโตรเจนในไตรต์และไนเตรตจะถูกเปลี่ยนเป็นแก๊สไนโตรเจนด้วยจุลินทรีย์ในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน ดังปฏิกิริยาที่ 7



ผลรวมของทั้ง 2 ปฏิกิริยา แสดงดังปฏิกิริยาที่ 8



กระบวนการกำจัดไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่ง่ายไม่ซับซ้อน ราคาไม่แพง และสามารถบำบัดไซยาไนด์ได้ทุกรูปแบบรวมถึง Iron cyanide โดยโลหะจะถูกกำจัดออกด้วยกระบวนการดูดซับ (Adsorption) และการตกตะกอน (Precipitation) ในรูปของซัลไฟด์ นอกจากนี้การกำจัดไซยาไนด์แล้ว ยังสามารถกำจัดสารประกอบไซยาไนด์อื่นๆ ได้อีกด้วย เช่น โซโอไซยาเนต ไซยาเนต แอมโมเนีย ไนเตรต และซัลเฟต

2.9 กลไกการกำจัดโลหะหนักโดยแบคทีเรีย

แบคทีเรียมีกลไกการกำจัดโลหะหนักหลายวิธี มีการแบ่งตามหลักเกณฑ์ต่าง ๆ เช่น

2.9.1 ขึ้นอยู่กับเมตาบอลิซึมของเซลล์

โดยการกำจัดโลหะหนักของแบคทีเรียสามารถเกิดขึ้นจาก 2 กระบวนการใหญ่ ๆ คือ การใช้พลังงานและไม่ใช้พลังงาน ในกระบวนการที่ใช้พลังงานนั้นเป็นการนำพลังงานจากกลไกการเมตาบอลิซึมมาใช้ในการกำจัดโลหะหนัก ส่วนในกระบวนการที่ไม่ใช้พลังงานนั้นแบคทีเรียจะกำจัดโลหะหนักโดยใช้สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของผนังเซลล์แบคทีเรีย หรือเมตาบอลิซึมที่แบคทีเรียสร้างขึ้น

2.9.1.1 การกำจัดโลหะหนักของแบคทีเรียโดยการใช้พลังงาน

(1) การตกตะกอนโดยแบคทีเรีย (Precipitation) เกิดจากการที่แบคทีเรียผลิตหรือปล่อยสารซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับโลหะหนักแล้วทำให้เกิดสารประกอบโลหะหนักที่ไม่ละลายน้ำ เช่น การผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Sulfate reducing bacteria) แล้วทำให้เกิดสารประกอบโลหะซัลไฟด์ แบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ *Desulfovibrio* และ *Desulfotomaculum* เป็นต้น นอกจากนี้ *Citrobacter*

ยังสามารถสร้างเอนไซม์ฟอสฟาเตสมาย่อยกลีเซอรอล-2-ฟอสเฟต แล้วปล่อย HPO_4^{2-} ซึ่งสามารถตกตะกอนแคลเซียม ตะกั่ว และยูเรเนียมได้ (Brierley, 1990)

(2) การสะสมโลหะหนักภายในเซลล์ (Intracellular bioaccumulation) เกิดขึ้นจาก 2 กระบวนการ โดยเริ่มจากการจับโลหะหนักไว้ที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย จากนั้นโลหะหนักจะถูกส่งผ่านเข้าไปภายในเซลล์โดยใช้พลังงาน ซึ่งเป็นกระบวนการเกี่ยวกับการขนส่งเมกนีเซียมและโปแตสเซียมเข้าออกผนังเซลล์ แบคทีเรียผสมกลุ่ม *Pseudomonas maltophilia*, *Staphylococcus aureus* สามารถสะสมโลหะเงินได้ 300 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (Brierley, 1990) และ *Klebsiella aerogenas* สามารถสะสมแคลเซียม และสารประกอบซัลไฟด์อนินทรีย์ภายในเซลล์ในสัดส่วนความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งมีผลให้มีการสร้างแคลเซียมซัลไฟด์ขึ้นภายในเซลล์ (Aiking et al., 1984)

(3) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน ซึ่งการกำจัดโลหะหนักของแบคทีเรียสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน เช่น แบคทีเรียและสปอร์ของ *Bacillus* sp. สามารถออกซิไดซ์แมงกานีสเป็นแมงกานีสออกไซด์ที่ไม่ละลายน้ำ นอกจากนี้ *Bacillus*, *Thiobacillus*, *Micrococcus*, *Rhodopseudomonas* และ *Pseudomonas* สามารถรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) เป็นเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการขนถ่ายอิเล็กตรอนของแบคทีเรีย ส่วน *Alteromonas putrefaciens* สามารถเจริญได้โดยการรีดิวซ์แมงกานีสออกไซด์ภายใต้สภาวะที่ไร้อากาศ โดยจะใช้แมงกานีสไอออนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนสุดท้ายในกระบวนการเมตาบอลิซึม (Brierley, 1990)

(4) การเติมหมู่เมทิล (Methylation) และการกำจัดหมู่เมทิล (Demethylation) เป็นกระบวนการที่แบคทีเรียใช้ในการเปลี่ยนรูปโลหะหนักในสภาพแวดล้อม โดยการเติมหมู่เมทิลสามารถเปลี่ยนรูปโลหะหนักบางชนิดที่อยู่ในน้ำและดินไปสู่บรรยากาศได้ ส่วนการกำจัดหมู่เมทิลทำให้เกิดสารประกอบโลหะอนินทรีย์ขึ้นซึ่งเป็นรูปที่จุลินทรีย์ชนิดอื่นสามารถเปลี่ยนรูปต่อไปได้อีก (Brierley, 1990)

2.9.1.2 การกำจัดโลหะหนักของแบคทีเรียโดยไม่ใช้พลังงาน

(1) การกำจัดโลหะหนักของแบคทีเรียโดยไม่ใช้พลังงานเป็นการจับโลหะหนักโดยสารที่แบคทีเรียปล่อยออกสู่ภายนอกเซลล์ เกิดขึ้นเมื่อแบคทีเรียผลิตสารสำหรับจับกับโลหะหนักขึ้นภายนอกเซลล์หรือปล่อยออกสู่ภายนอกเซลล์ ซึ่งสารนี้อาจมีสมบัติในการจับโลหะ (Chelating agent) เช่น ไซเดอโรฟออร์ (Siderophores) และ โพลีเมอร์ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น โดยในการสร้างสารเหล่านี้แบคทีเรียต้องใช้พลังงานในกระบวนการเมตาบอลิซึม แต่ในกระบวนการที่สารเหล่านี้จับกับโลหะหนักไม่ต้องการพลังงานจากแบคทีเรีย แบคทีเรียที่สามารถผลิตไซเดอโรฟออร์ ได้แก่ *Pseudomonas*, *Actinomyces*, *Azotobacter* และ *Arthrobacter* ส่วน โพลีเมอร์ที่ผลิตโดยแบคทีเรียประกอบด้วย โพลีแซคคาไรด์ โปรตีน และกรดนิวคลีอิก ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่สามารถ จับกับไอออนโลหะหนักและตกตะกอนร่วมกันได้ (Brierley, 1990) โพลีเมอร์ที่สร้างขึ้นอาจอยู่ในรูปเมือกที่หูด

แยกจากเซลล์ (Slime) หรือเป็นแคปซูล (Capsule) ที่ติดแน่นกับผนังเซลล์ก็ได้ (Kasan, 1993) สำหรับ นิวคลีโอโปรตีนของเชื้อ *Polyangium*, *Myxococcus*, *Bacillus*, *Leuconostoc*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* และ *Alcaligenes* สามารถใช้สำหรับตกตะกอนโลหะหนักในการบำบัดน้ำเสียได้ (Bomstein et al., 1972)

(2) การกำจัดโลหะหนักโดยผนังเซลล์ กระบวนการกำจัดโลหะหนักโดยผนังเซลล์ประกอบด้วย 3 วิธี คือ การแลกเปลี่ยนประจุ (Ion exchange) การตกตะกอน (Precipitation) และการเกิด Complexation โดยผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีคุณสมบัติต่างกัน คือ ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Bacillus* มีประสิทธิภาพสูงในการจับกับโลหะหนัก เนื่องจากประกอบด้วยร่างแหของเปปติโดไกลแคน (Peptidoglycan) ที่หนาและจับกับสารโมเลกุลใหญ่บางชนิด นอกจากนี้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดจะประกอบด้วยกรดไทโคอิก (Teichoic acid) และกรดไทคูโรนิก (Teichuronic acid) จึงมีผลให้ประจุของผนังเซลล์เป็นลบ และพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ (Phosphodiester bond) ของกรดสองชนิดนี้จะให้หมู่คาร์บอกซิลทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนประจุที่ผนังเซลล์ได้ ส่วนผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบบมีข้อจำกัดในการจับกับโลหะหนักเนื่องจากผนังเซลล์ประกอบด้วยชั้นเปปติโดไกลแคนที่บาง (Brierley, 1990)

2.9.2 ขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่แบคทีเรียกำจัดโลหะหนัก

โดยการกำจัดโลหะหนักของแบคทีเรียสามารถเกิดขึ้นได้ที่บริเวณต่างๆ บนเซลล์แบคทีเรีย ดังนี้

2.9.2.1 การสะสมโลหะหนักภายในเซลล์

การสะสมโลหะหนักของจุลินทรีย์ ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน โดยเริ่มจากการจับกับโลหะหนักไว้ที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย จากนั้นโลหะหนักจะถูกส่งผ่านเข้าไปภายในเซลล์โดยใช้พลังงาน โดยมีกลไกการขนส่งสารอยู่ 3 กระบวนการ ได้แก่ การแพร่แบบธรรมดา (Diffusion) การแพร่แบบ Facilitated diffusion และกระบวนการแอกทีฟทรานสปอร์ต (Active transport) เป็นการขนส่งไอออนหรือสารผ่านเยื่อหุ้มเซลล์โดยอาศัยพลังงาน การสะสมภายในเซลล์เกิดขึ้นได้ยากเพราะต้องขึ้นกับปัจจัยต่างๆ หลายประการ เช่น สภาพแวดล้อม ความจำเพาะของสารที่จะส่งผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ สภาพสรีรวิทยาของอัตราเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ ซึ่งถ้าอยู่ในระดับต่ำเซลล์จะมีพลังงานไม่พอที่จะใช้ในกระบวนการแอกทีฟทรานสปอร์ต เพื่อนำสารเข้าสู่เซลล์

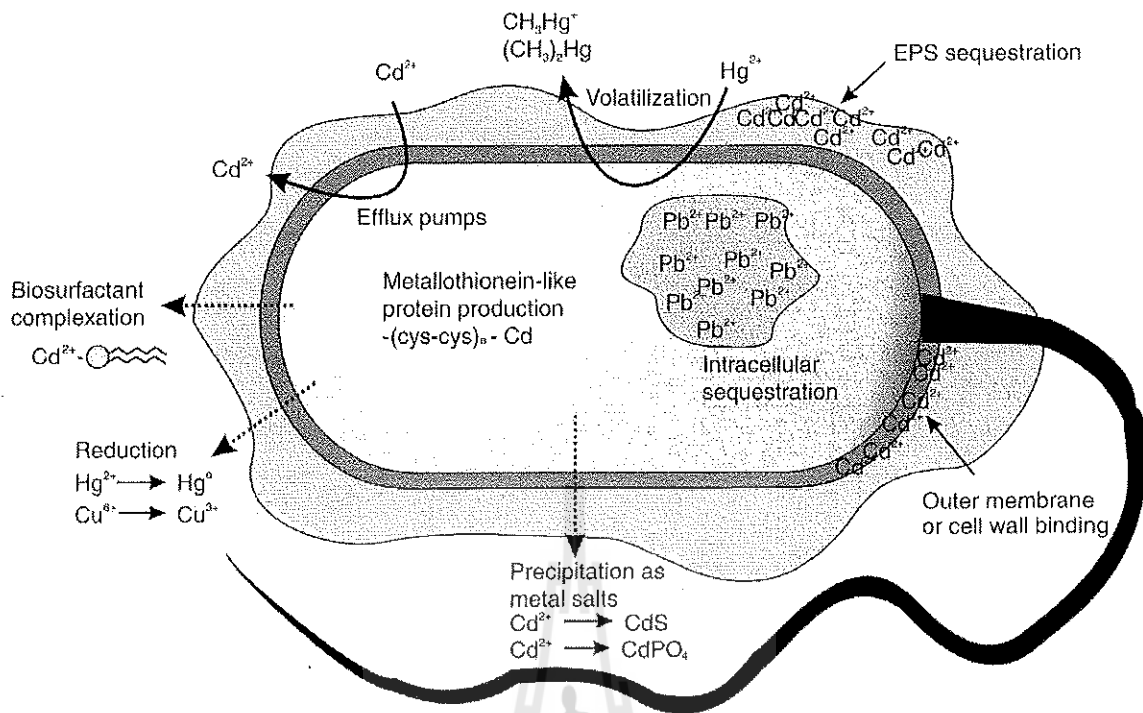
2.9.2.2 การสะสมโลหะหนักภายนอกเซลล์

เป็นการกำจัดโลหะหนักที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางเคมีและโครงสร้างภายในเซลล์จุลินทรีย์ โดยแบคทีเรียจะกำจัดโลหะหนักจากสารละลายไว้ที่ผนังเซลล์ ซึ่งสามารถสะสมและตกตะกอนได้บริเวณผิวเซลล์ โดยมีการเชื่อมกันบางส่วนของโลหะกับบริเวณผิวที่ถูกกำจัด กระบวนการกำจัดที่เกิดที่ผิวเซลล์สามารถเกิดได้ทั้งในชีวมวลที่ไม่มีชีวิต หรือชีวมวลที่มีชีวิต ชีวมวล

จุลินทรีย์ที่ตายแล้วในระบบการกำจัดจะมีความสามารถในการกำจัดสารได้มากกว่าชีวมวลที่มีชีวิตอยู่ (Voleskey, 1990) โดยเกี่ยวข้องกับกลไกการแลกเปลี่ยนแคตไอออน (Ion-exchange) การเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (Complexation) และการตกตะกอน (Precipitation) กระบวนการเหล่านี้อาจเกิดขึ้นกระบวนการเดียวหรือหลาย ๆ กระบวนการ ขึ้นอยู่กับชนิดของโลหะ และชนิดของจุลินทรีย์

2.9.2.3 การจับโลหะหนักโดยสารที่แบคทีเรียปล่อยออกสู่ภายนอกเซลล์

จากการผลิตสารเมตาบอไลต์ (Metabolite) แล้วขับออกนอกเซลล์เพื่อสร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะหนักทำให้ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายลดลงได้ ความหลากหลายของโพลิเมอร์ชีวภาพที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นมีความสามารถในการจับโลหะได้แตกต่างกัน โพลิเมอร์ชีวภาพได้แก่ โพลีแซคคาไรด์ โปรตีน และ โพลีโนล รวมทั้งโพลิเมอร์อื่น ๆ ที่มีความสัมพันธ์กัน โดยโลหะอาจเกิดแรงกระทำแบบไอออนิกกับประจุลบของ โพลิเมอร์ชีวภาพที่อาจจะทำปฏิกิริยากับโลหะ เช่น หมู่ไรโอล (-SH) โดยซัลเฟอร์จะเป็นอะตอมผู้ให้ ความสามารถในการละลายของโพลิเมอร์ชีวภาพจะแปรผันตามน้ำหนักโมเลกุลของโพลิเมอร์ ชนิดของโพลิเมอร์และสภาพแวดล้อม โพลีแซคคาไรด์จะประกอบไปด้วย โมโนเมอร์เบตา 1-4 กลูโคสซึ่งเรียกว่า โมโนแซคคาไรด์ซึ่งพบได้ทั้งพืช สัตว์ รวมทั้งจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันที่สำคัญของโพลีแซคคาไรด์ที่ถูกสร้างโดยจุลินทรีย์ คือ แบคทีเรียอาจสร้างโพลิเมอร์ออกมาภายนอกอย่างไม่แน่นอนโดยยึดเหนี่ยวกับผนังเซลล์หรืออาจสร้างชั้นเจลลาติน หรือแคปซูลออกมาล้อมผนังเซลล์ก็ได้ ซึ่งโพลิเมอร์ที่มีสภาพเป็นกรดที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นมาเหล่านี้จะมีลักษณะเป็นไฮโดรฟิลิก และมีขั้วซึ่งสามารถจับกับโลหะได้ดี โดยทั่วไป โพลิเมอร์เหล่านี้จะประกอบด้วยเพนโตส เฮกโซส เฮปโตส น้ำตาลอะมิโน และกรดเฮกซูโรนิก ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรีย ในการผลิตโพลิเมอร์ขึ้นมา และขับออกนอกเซลล์ของจุลินทรีย์ แต่ละชนิดอาจแตกต่างกันทั้งปริมาณ และ โครงสร้าง โมเลกุลซึ่งขึ้นกับสภาพการเจริญในแบคทีเรียบางชนิดการเพิ่มปริมาณโพลิเมอร์จะขึ้นกับการใช้ไปในการจับโลหะด้วย โพลิเมอร์ไม่เพียงแต่จับ ไอออนของโลหะหนักเท่านั้นแต่ยังเข้าล้อมรอบ (Entrap) อนุภาคโลหะที่ไม่ละลายน้ำด้วย (ทินพันธุ์, 2545) การใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Sphingomonas paucimobilis* กำจัดแคดเมียมออกจากน้ำเสียเทศบาลกรุงเทพฯ พบว่าแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีแคดเมียมถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถกำจัดแคดเมียมได้ 84 % (Tangaromsuk, 2002) กลไกการลดความเป็นพิษโลหะหนักของแบคทีเรียดังแสดงในภาพที่ 2-2



ภาพที่ 2.2 กลไกการลดความเป็นพิษโลหะหนักของแบคทีเรีย (Raina et al., 2009)

2.10 การทนต่อพิษโลหะหนักของแบคทีเรีย

การดำรงชีวิตอยู่ได้ในสิ่งแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลง เช่น การขาดแคลนอาหาร การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด-ด่าง แบคทีเรียจึงต้องปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมเพื่อความอยู่รอด ก่อให้เกิดวิวัฒนาการในการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมหรือยีน เนื่องจากการได้รับการกระตุ้นจากโลหะหนักทำให้แบคทีเรียสามารถมีชีวิตอยู่ร่วมกับโลหะหนักได้โดยการควบคุมกลไกการทนต่อโลหะหนักของแบคทีเรียด้วยยีนที่เกิดการกลายพันธุ์ โลหะหนักบางชนิดเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นในปริมาณน้อย เช่น ทองแดง สังกะสี โครเมียม นิกเกิล โดยใช้เป็นองค์ประกอบในการสร้างเอนไซม์และการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แต่โลหะหนักส่วนใหญ่เป็นโลหะที่ไม่จำเป็นและมีความเป็นพิษต่อแบคทีเรีย โดยการทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบที่สำคัญต่างๆ ภายในเซลล์ด้วยพันธะโควาเลนต์และพันธะไอออนิก ที่ความเข้มข้นสูงโลหะหนักทั้งที่จำเป็นและไม่จำเป็นมีความเป็นพิษ โดยจะทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ เปลี่ยนแปลงความเฉพาะต่อเอนไซม์ รบกวนการทำหน้าที่ขององค์ประกอบภายในเซลล์ และทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ แบคทีเรียจึงต้องมีการพัฒนาเพื่อให้ทนต่อโลหะหนัก โดยมีการสร้างกลไกในการต้านทานพิษของโลหะหนักที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม

2.10.1 กลไกการทนต่อโลหะหนักของแบคทีเรีย

2.10.1.1 การใช้เอนไซม์

โดยการใช้ออกซิเดส (Oxidases) และเอนไซม์รีดักเตส (Reductase) ในการเปลี่ยนไอออนจากโลหะที่เป็นพิษมาก เป็นโลหะที่มีพิษน้อยหรือมีเอนไซม์อัลคิลเลตติ้ง (Alkylating) และเอนไซม์ดีอัลคิลเลตติ้ง ไลเอส (Dealkylating lyases) ที่เพิ่มและกำจัดพันธะโควาเลนต์ของสารประกอบที่เป็นโลหะอินทรีย์ สำหรับการรีดักชัน (Reduction) และการดีอัลคิลเลชัน (Dealkylation) เป็นกลไกหลักในการต้านทานสารประกอบอินทรีย์หรืออนินทรีย์ของปรอท ส่วนอาเซนิกใช้กระบวนการออกซิเดชัน (Oxidation) และโครเมตใช้กระบวนการรีดักชัน (Reduction) เป็นกลไกการต้านทานไอออนโลหะหนักของแบคทีเรีย

2.10.1.2 การจับโลหะที่ผนังเซลล์หรือภายในเซลล์

โดยการใช้การจับโลหะหนักที่ผนังเซลล์หรือภายในเซลล์โดยใช้สารประกอบที่มีความเฉพาะเจาะจงในการจับ เช่น Metallothionein และ Metallopeptides (Paziradeh et al., 1998)

2.10.1.3 การลดการนำเข้า (Reduce uptake)

โดยการลดการนำเข้าโลหะหนัก วิธีนี้เซลล์ของแบคทีเรียจะขัดขวางการนำเข้าโลหะหนัก โดยเปลี่ยนเส้นทางการนำเข้าในเซลล์ที่มีความไวต่อโลหะหนัก (Sensitive cell) เช่น การต้านทานอาเซนเนต แคดเมียม โครเมต และไอออนของโลหะอื่นบางตัว (Nies and Silver, 1989)

2.10.1.4 การปั๊มออกจากเซลล์ด้วยระบบการขนส่ง (Transport system)

ไอออนของโลหะหนักบางตัวจะมีการแพร่เข้าไปภายในไซโตพลาสซึม แบคทีเรียสามารถขับไอออนโลหะหนักออกโดยการปั๊มออกจากเซลล์ด้วยระบบการขนส่ง (Transport system) โดยใช้กระบวนการ Highly specific efflux system โดยอาศัยพลังงานจากเยื่อหุ้มเซลล์หรือจาก ATP โดยตรง สำหรับ Efflux pump เป็นกลไกสำหรับใช้ต้านทานยาปฏิชีวนะกลุ่มเตตราไซคลิน และสามารถจับกับโลหะหนัก เช่น อาเซนิก แคดเมียม และ โครเมต ได้ (Silver, 1996)

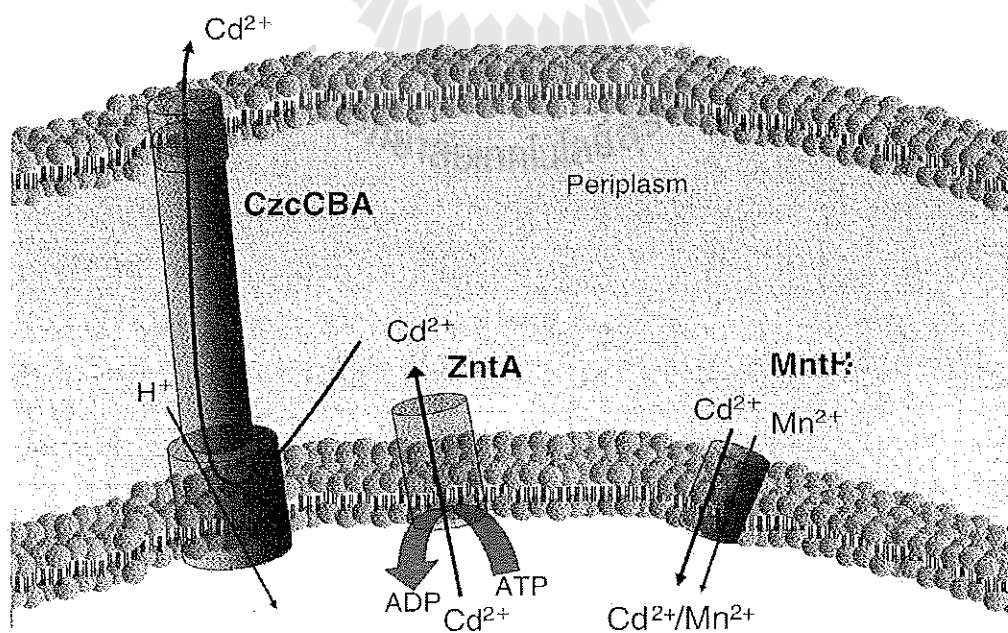
2.10.1.5 การเปลี่ยนเป้าหมายภายในเซลล์

โดยการเปลี่ยนเป้าหมายภายในเซลล์สำหรับทำปฏิกิริยากับโลหะหนักที่เป็นพิษ กลไกการต้านทานแบบนี้จะไม่เฉพาะเจาะจง ต้องมีการเปลี่ยน Thiol – containing - enzyme เมื่อมีการเปลี่ยนชนิดของโลหะหนัก

2.10.2 การทนต่อแคดเมียมของแบคทีเรีย

แคดเมียมจะมีผลในการทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์และทำให้เกิด Protein denaturation ในแบคทีเรียบางชนิดเช่น *Klebsiella aerogenes* เกิดการ สะสมแคดเมียมไอออนและสารประกอบซัลไฟด์อนินทรีย์ภายในเซลล์ในสัดส่วนความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกัน ส่งผลให้เกิดการสร้างสารประกอบแคดเมียมซัลไฟด์ขึ้นภายในเซลล์ (Aiking et al., 1984) ซึ่งกลไกการลดพิษแบบนี้เป็น

การตกตะกอนแคดเมียมโดยทำให้เป็นสารประกอบซัลไฟด์ที่ไม่ละลายน้ำและเกิดการตกตะกอนที่ผิวหน้าของแบคทีเรียหรือเกิดการสะสมแคดเมียมภายในเซลล์แบคทีเรีย การทนต่อแคดเมียมใน Cyanobacteria จะมี Metallothioneins (Olafson et al., 1979) ซึ่งการเพิ่ม Metallothioneins จะช่วยเพิ่มความสามารถในการทนต่อแคดเมียม และการลด Metallothioneins จะลดความสามารถในการทนแคดเมียม (Gupta et al., 1992) ยีน Metallothioneins คือ *smt A* จะถูกควบคุมโดย *smt B* Cyanobacteria จะมี RNA และระบบ P-type ซึ่งสำคัญต่อการทนแคดเมียม (Thelwell et al., 1998) สำหรับในแบคทีเรียแกรมลบแคดเมียมจะถูกนำเข้าสู่เซลล์ด้วยระบบ Efflux การทนต่อแคดเมียมเกิดขึ้นจากการขับแคดเมียมออกโดยการ Efflux โดยโปรตีน RNA-driven ส่วนในแบคทีเรียแกรมบวกการทนต่อแคดเมียมเกิดจากการ Efflux แคดเมียมออกจากเซลล์โดยใช้โปรตีน P-type ATPase การขับแคดเมียมออกจากเซลล์แบคทีเรียมี 3 รูปแบบ คือ ระบบที่เกิดขึ้นบน Plasmid โดยการ Encode *cad* ซึ่งมีอยู่ 2 รูปแบบ คือ Single *cad* (*cad A*) และ Two *cad* (*cad A*, *cad B*) ซึ่งจะเกิดใน *S. aureus* และระบบ *czc* ใน *A. eutrophus* (Nies, 1992) และระบบที่สามเกิดขึ้นบน Chromosomal โดยการ Encode *smt* จากการศึกษาของ Macaskie และ Dean (1982) ศึกษาการสะสมแคดเมียมของแบคทีเรียที่คัดแยกจากพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนโลหะหนัก พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ *Citrobacter* sp. ที่คัดแยกได้จากพื้นที่ที่ปนเปื้อนตะกั่วสามารถสะสมแคดเมียมได้ดีและสามารถทนต่อแคดเมียมได้สูง ส่วนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากพื้นที่ที่ปนเปื้อนแคดเมียม พบว่าเกิดการนำเข้าสู่แคดเมียมได้ดี เนื่องจากแบคทีเรียต้านทานแคดเมียมโดยใช้กลไกการลดการนำเข้าสู่แคดเมียมสู่เซลล์ กลไกการทนต่อแคดเมียมและตั้งกะสีของแบคทีเรีย ดังแสดงในภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 กลไกการทนต่อแคดเมียมและตั้งกะสีของแบคทีเรีย (Raina et al., 2009)

2.10.3 การทนต่อสังกะสีของแบคทีเรีย

สังกะสีเป็นโลหะที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในปริมาณน้อย โดยอยู่ในรูปสารประกอบ เช่น Zn-finger ใน DNA และเป็นส่วนประกอบสำคัญในการสร้างเอนไซม์ แบคทีเรียจะสะสมสังกะสีโดยใช้กลไกการนำเข้าแบบเร็วและไม่เฉพาะเจาะจง การนำสังกะสีเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียโดยทั่วไปจะทำคู่กับระบบการนำเข้าแมกนีเซียม กลไกการ Efflux สังกะสีในแบคทีเรียมี 2 แบบ คือ การ Efflux โดยใช้ P-type ATPase โดยจะขนส่งสังกะสีผ่าน Cytoplasmic membrane โดยใช้พลังงานจาก ATP hydrolysis (Beard, 1997) และแบบการ Efflux โดยใช้ RND-driven ซึ่งจะขนส่งสังกะสีผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรีย และใช้พลังงานจาก proton-gradient และไม่ใช้ ATP (Nics, 1999) ในระบบการขนส่งสังกะสีจะมีโปรตีนตัวพา 3 กลุ่ม คือ

2.10.3.1 การขนส่งสังกะสีโดยใช้ corA MIT

ซึ่งเป็นการขนส่งสังกะสีร่วมกับแมกนีเซียม ส่วนมากพบใน *S. cerevisiae* และในแบคทีเรียบางชนิด รวมถึง archaea

2.10.3.2 การใช้แรงดันออกโสมติก

โดยใช้โปรตีนตัวพา คือ Mgt-E จะใช้ในเวลาที่แบคทีเรียต้องการสังกะสีในกระบวนการเมตาบอลิซึม ส่วนมากพบใน *Providencia stuartii* และในแบคทีเรียแกรมบวกและลบบางชนิด

2.10.3.3 การใช้ MgtA P-type ATPase

การใช้ MgtA P-type ATPase ในการขนส่งสังกะสีซึ่งจะใช้ร่วมกับการขนส่งแมกนีเซียม พบใน *S. typhimurium* ในการศึกษาของ Ahuja และคณะ (2001) ได้ศึกษากลไกการทนต่อสังกะสีของ Cyanobacterium สายพันธุ์ *Oscillatoria angustissima* พบว่า กลไกการ Efflux สังกะสีเกิดขึ้นภายหลังจากเกิดการนำเข้าสังกะสีสูงสุด และการต้านทานพิษสังกะสีของแบคทีเรียเกิดจากการลดการนำเข้าสังกะสีสู่เซลล์ กลไกการทนต่อสังกะสีของแบคทีเรียดังแสดงในภาพที่ 2.3

จากการศึกษาการต้านทานต่อโลหะหนักและยาปฏิชีวนะของแบคทีเรีย โดย Filali และคณะ (2000) ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ทนต่อโลหะหนักและสารปฏิชีวนะในน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมประเทศแม็กซิโก จากผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์ที่ทนต่อโลหะหนักในน้ำเสียได้ดีคือ *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* และ *Staphylococcus* sp. ซึ่งจะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตในโลหะหนักที่มีความเข้มข้นสูง เช่น แคดเมียม (2 mM) ปรัอท (1.2 mM) และถูกยับยั้งเล็กน้อยในทองแดง เงิน และสังกะสี

2.11 ระบบตรึงผิวชีวภาพ (Cell-immobilized/Fixed-film system)

สารอินทรีย์ในน้ำเสียเมื่อระบายทิ้งลงแหล่งน้ำธรรมชาตินั้น สามารถถูกย่อยสลายโดยกระบวนการทำความสะอาดตัวเองในธรรมชาติ (Self purification process) จุลชีพที่สามารถทำลาย

สารอินทรีย์นี้สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรกเป็นจุลชีพประเภทที่แขวนลอยในน้ำ (Suspended microorganisms) (สันทนต์, 2552) และกลุ่มที่สองเป็นจุลชีพประเภทที่ตรึงผิว (Fixed-film) เกาะบนผิวพื้นวัสดุในบริเวณแหล่งน้ำ สารอินทรีย์ส่วนใหญ่จะถูกย่อยสลายโดยพวกจุลชีพที่เกาะตามธรรมชาตินี้ หลักการนี้จึงได้นำมาประยุกต์ใช้ในระบบบำบัดมลพิษอย่างกว้างขวาง เช่น Lin และ Wang (1991) ได้ทำการศึกษาการย่อยสลายเพนตะคลอโรฟีนอล โดยเปรียบเทียบระหว่างการใช้จุลินทรีย์แบบแขวนลอยและจุลินทรีย์แบบฟิล์มตรึง (Immobilized) ในการบำบัด พบว่าจุลินทรีย์แบบฟิล์มตรึงมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงกว่าจุลินทรีย์แบบแขวนลอย และพบว่าการใช้จุลินทรีย์ฟิล์มตรึงแบบรวมกลุ่ม (Co-immobilized cell) มีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงถึง 90% ขณะที่จุลชีพที่ตรึงผิวหรือ Fixed-film ที่ใช้ในระบบบำบัดนั้นจะทำให้เกิดฟิล์มชีวภาพ (Biofilm) ลักษณะสมบัติของฟิล์มชีวภาพที่เกาะบนผิววัสดุต่างๆ นั้น ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบหลายประการ เช่น ความเร็วของน้ำไหลผ่านผิวของวัสดุ ความเข้มข้นของสารอาหารที่อยู่ในรูปของสารอินทรีย์ในน้ำ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ อุณหภูมิในขณะนั้น ลักษณะผิววัสดุที่ฟิล์มชีวภาพเกาะ เป็นต้น

2.11.1 ฟิล์มชีวภาพ (Bio-film)

ฟิล์มชีวภาพ หมายถึงชั้นของจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตและเกาะอยู่บนพื้นผิวของของแข็งไม่ว่าจะเป็นไม้ เหล็ก พลาสติก ยาง หรือแม้กระทั่งเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ฟิล์มชีวภาพ (Bio-film) เป็นกลไกที่สำคัญในการกำจัดมลพิษของระบบบำบัดแบบชีวภาพซึ่งเป็นมวลของจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตบนผิวของตัวกลาง และทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปสารมลพิษให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นพิษน้อยลง การเจริญเติบโตของฟิล์มชีวภาพบนผิวของตัวกลางเป็นผลมาจากกระบวนการทางกายภาพเคมีและชีววิทยาดังนี้

- (1) การขนส่ง (Transportation) และการดูดซับ (Adsorption) ของโมเลกุลของสารอินทรีย์ไปยังผิวของตัวกลาง
- (2) การขนส่ง (Transportation) ของเซลล์จุลินทรีย์ไปยังผิวของตัวกลาง
- (3) การเกาะยึด (Attachment) ของจุลินทรีย์
- (4) การแปลงรูป (Transformation) ของจุลินทรีย์เป็นฟิล์มชีวภาพที่บริเวณผิวของตัวกลาง
- (5) การหลุด (Detachment) ของฟิล์มชีวภาพบางส่วนเนื่องมาจากแรงเฉือน (Fluid shear stress) ของน้ำ

ลักษณะสมบัติของฟิล์มชีวภาพที่เกาะบนผิววัสดุต่างๆ นั้นขึ้นอยู่กับองค์ประกอบหลายประการ เช่น ชนิดของสารอินทรีย์ต่างๆ ในน้ำ ความเร็วของน้ำที่ไหลผ่านผิวของวัสดุ ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ค่าพีเอชของน้ำ ลักษณะผิวของวัสดุที่ฟิล์มชีวภาพเกาะ เป็นต้น

2.11.2 การเกาะและการหลุดของฟิล์มชีวะ

จุลินทรีย์หรือแบคทีเรียสามารถเกาะได้ติดบนผิวของวัสดุที่มีความหยาบ การเกาะติดบนผิววัสดุส่วนใหญ่เกิดขึ้นโดยจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียจะสร้างเส้นใยขนาดเล็กกรอบตัวเซลล์ เส้นใยเหล่านี้จะเกาะจับกันแน่นกับเส้นใยของเซลล์อื่น ทำให้แบคทีเรียสามารถเกาะติดหนาเป็นฟิล์มบนผิวตัวกลางได้ เส้นใยเหล่านี้เรียกว่า Glycocolyx ซึ่งเป็นสารพวก Polysaccharide ดังนั้น ปริมาตรรวมของเซลล์เหล่านี้จึงน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาตรทั้งหมดของฟิล์มชีวะ เส้นใยนี้เป็นที่เก็บน้ำย่อยที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ให้เล็กลงและสามารถละลายน้ำได้ก่อนที่จะถูกซึมผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรีย

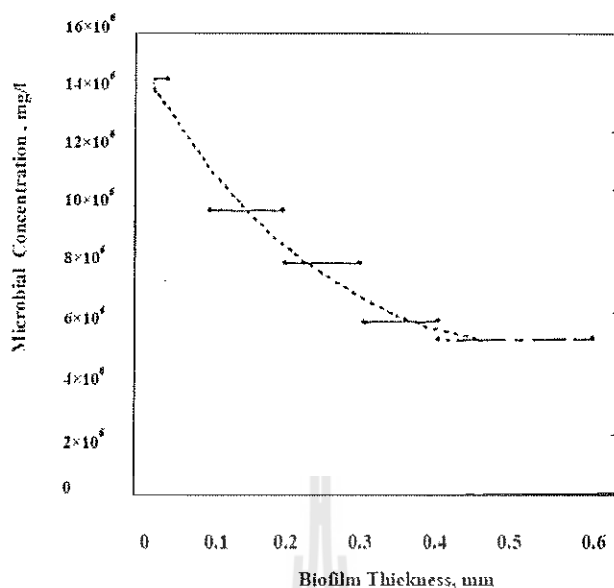
การหลุดของฟิล์มชีวะจะเป็นขบวนการเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยขึ้นอยู่กับภาวะไฮโดรไดนามิกซ์ (Hydrodynamic condition) ความเร็วของน้ำที่ไหลผ่านแรงเฉือน (Shearforce) จะมีส่วนช่วยให้เกิดการหลุดของฟิล์มชีวะ สำหรับการลอก (Sloughing) ของฟิล์มชีวะนั้นเกิดจากสภาพขาดแคลนสารอาหารหรือปริมาณของออกซิเจนที่ละลายในน้ำบริเวณชั้นผิวด้านในของฟิล์ม การลอกออกเนื่องจากฟิล์มมีความหนาจนทำให้เกิดสภาพขาดแคลนอาหารหรือขาดแคลนออกซิเจนนี้มักเกิดในสภาวะที่มีแรงเฉือนต่ำ นอกจากนี้ถ้าฟิล์มชีวะมีความหนามากในที่สุดจะถูกถ่วงดึงให้หลุดโดยน้ำหนักของฟิล์มชีวะภาพเอง

2.11.3 องค์ประกอบทางเคมีของฟิล์มชีวะ

ฟิล์มชีวะภาพประกอบด้วยน้ำสูงถึง 87-96 % โดยน้ำหนักและมีของแข็งระเหย (Volatile solids) ต่ำเพียง 1.9-3.2 % เท่านั้น นอกจากนี้ฟิล์มชีวะภาพยังประกอบไปด้วยสารอนินทรีย์ในปริมาณเล็กน้อย ได้แก่ แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) และเหล็ก (Fe) เป็นต้น ซึ่งปริมาณสารอนินทรีย์เหล่านี้ในฟิล์มชีวะภาพขึ้นกับความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำเสีย

2.11.4 กระบวนการกำจัดสารอินทรีย์

เนื่องจากฟิล์มชีวะภาพประกอบด้วยน้ำสูงถึง 87-96% และเซลล์จุลชีพในฟิล์มชีวะภาพยังประกอบด้วยน้ำสูงถึง 90% ดังนั้นค่าความถ่วงจำเพาะ (Specific gravity) ของฟิล์มชีวะภาพจึงใกล้เคียงกับค่าของน้ำ ความหนาแน่นของจุลชีพนี้ สามารถวัดเป็นจำนวนหรือน้ำหนักแห้งแต่ในทางวิศวกรรมศาสตร์มักนิยมวัดเป็นน้ำหนักแห้ง ความหนาแน่นของจุลชีพในฟิล์มชีวะภาพนี้ขึ้นกับสภาวะแวดล้อมต่างๆ เช่น ความเร็วของน้ำที่ไหลผ่าน ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ อุณหภูมิ และชั้นความหนาของฟิล์มชีวะภาพ ความหนาแน่นของจุลชีพในฟิล์มชีวะภาพจะสูงขึ้นเมื่อภาระบรรทุกสารอินทรีย์สูงขึ้น ซึ่งความหนาแน่นของจุลชีพในฟิล์มชีวะภาพยังขึ้นกับถึงปฏิกิริยาในระบบที่ใช้ ดังแสดงในภาพที่ 2.4 แสดงความหนาแน่นของจุลชีพในชั้นที่อยู่ใกล้ผิวตัวกลางที่เกาะจะมีค่ามากกว่าชั้นที่อยู่ถัดไป



ภาพที่ 2.4 ความหนาแน่นของจุลชีพในฟิล์มชีวภาพที่ชั้นความหนาต่างๆ (สันทัด, 2552)

กระบวนการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำเสีย ที่ไหลผ่านระบบกำจัด แบบ Fixed Film นั้นเป็นกระบวนการถ่ายเทมวลและปฏิกิริยาชีวเคมีที่เกิดพร้อมกันซึ่งขั้นตอนการกำจัดสารอินทรีย์โดยฟิล์มชีวภาพมีดังนี้

(1) สารอินทรีย์ และออกซิเจนจะถ่ายเทจากชั้นของเหลว ไปยังส่วนที่อยู่ร่วมกัน (Interface) ระหว่างชั้นของเหลว และฟิล์มชีวภาพ

(2) สารอินทรีย์ และออกซิเจนจะถ่ายเทผ่านบริเวณดังกล่าว ไปยังชั้นของฟิล์มชีวภาพ

(3) มีการใช้สารอินทรีย์ และออกซิเจน โดยพวกจุลินทรีย์ในชั้นของฟิล์มชีวภาพ

(4) มีการถ่ายเทผลิตภัณฑ์ที่ได้ คือ แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำจากชั้นฟิล์มชีวภาพ

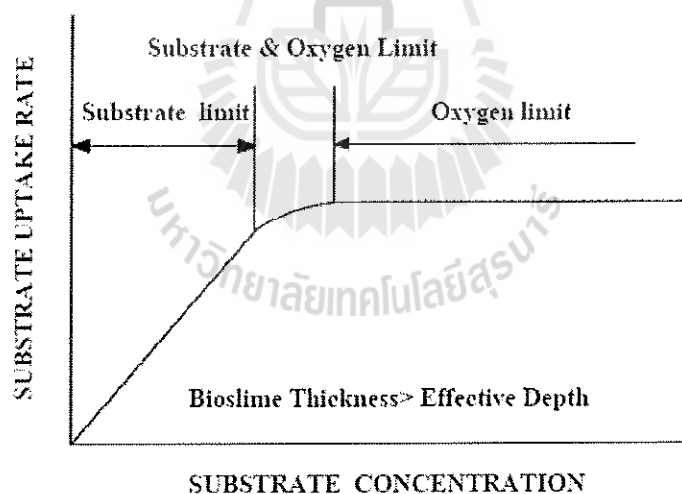
(5) ผลิตภัณฑ์ที่ได้นี้จะถูกถ่ายเทต่อไปยังชั้นของเหลว

อัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์อาจขึ้นอยู่กับปริมาณออกซิเจนหรือสารอินทรีย์กล่าวคือ ชั้นนอกจะเป็นชั้นที่เกิดปฏิกิริยาย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียจำพวกใช้ออกซิเจน ส่วนในชั้นในถัดไปจะเป็นชั้นที่ไม่ใช้ออกซิเจนปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์จึงเป็นแบบไม่ใช้ออกซิเจน ปฏิกิริยาย่อยสลายสาร โดยใช้ออกซิเจนจะเกิดรวดเร็วกว่าแบบไม่ใช้ออกซิเจน ดังนั้นอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์จึงขึ้นกับปฏิกิริยาชีวเคมีที่เกิดในชั้นที่มีออกซิเจนเป็นส่วนใหญ่ความหนาของชั้นนี้เรียกว่า ความหนาประสิทธิผล (Effective depth) ซึ่งขึ้นกับองค์ประกอบต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ ความเข้มข้นออกซิเจนละลายน้ำ ความหนาแน่นจุลชีพ และอัตราการใช้สารอินทรีย์ (Substrate uptake rate)

2.11.5 สภาพขาดแคลนสารอินทรีย์ และออกซิเจน

ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรีย ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ปฏิกริยาชีวเคมีนี้ประกอบด้วยสารให้อิเล็กตรอน (Electron doner) ซึ่งได้แก่ สารอินทรีย์ต่างๆ กับสารรับอิเล็กตรอน (Electron acceptor) ซึ่งได้แก่ ออกซิเจนซึ่งอยู่ในรูปละลายน้ำ อัตราการใช้สารอินทรีย์โดยฟิล์มชีวภาพในระบบบำบัดน้ำเสียนั้น อาจถูกควบคุมโดยสารให้อิเล็กตรอนหรือสารรับอิเล็กตรอน (ในที่นี้หมายถึงสารอินทรีย์ และออกซิเจนละลายน้ำ) ซึ่งขึ้นกับความเข้มข้นสารอินทรีย์ ความเข้มข้นออกซิเจนละลายน้ำในน้ำเสีย อัตราการถ่ายเทมวลของสารทั้งสอง และค่าสัมประสิทธิ์ย่อยสลาย (Stoichiometric coefficient)

ภาพที่ 2.5 แสดงสภาพขาดแคลนสารอินทรีย์ และออกซิเจนซึ่งจะเห็นว่าขึ้นกับความเข้มข้นสารอินทรีย์ กล่าวคือที่ค่าความเข้มข้นหนึ่งของออกซิเจนละลายน้ำอัตราการใช้สารอินทรีย์อาจแบ่งได้ 3 ช่วง คือ ช่วงแรกอัตราการใช้สารอินทรีย์จะเพิ่มเป็นเส้นตรง เมื่อความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำเสียเพิ่มสูงขึ้น ช่วงนี้อัตราการใช้สารอินทรีย์ จึงถูกควบคุมด้วยความเข้มข้นสารอินทรีย์ (Substrate limit) ช่วงที่สองเป็นช่วงอัตราการใช้สารอินทรีย์เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น แต่อัตราการเพิ่มขึ้นลดลงในช่วงนี้ อัตราการใช้สารอินทรีย์ถูกควบคุม โดยทั้งสารอินทรีย์ และออกซิเจน (Substrate and oxygen limit)



ภาพที่ 2.5 สภาพขาดแคลนสารอินทรีย์ และออกซิเจนในระบบบำบัดน้ำเสียแบบฟิล์มชีวะ (สันทัด, 2552)

2.12 ปัจจัยที่มีผลต่อการกำจัดโลหะหนักของแบคทีเรีย

ปัจจัยที่มีผลต่อการกำจัดโลหะหนักมีหลายด้าน เช่น ลักษณะทางเคมีของไอออนโลหะหนัก ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของเซลล์แบคทีเรีย รวมถึงลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของ

สิ่งแวดล้อมแวดล้อมต่าง ๆ ประกอบด้วย ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ เวลา ชนิดและความเข้มข้นของโลหะ และการแข่งขันไอออนของโลหะหนักชนิดอื่น เป็นต้น

2.12.1 พีเอช (pH)

พีเอชมีผลต่อการกำจัดโลหะหนัก โดยในสภาพเป็นกรดการจับกับโลหะจะถูกจำกัดโดยการเพิ่มขึ้นของโปรตอนที่มาแย่งจับกับ Anion binding site และการเพิ่มพีเอช จะทำให้ประจุลบบริเวณผิวหน้าของเซลล์แบคทีเรียเพิ่มขึ้นซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดดีขึ้น ในแบคทีเรีย พีเอชที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดโลหะหนักอยู่ที่พีเอช 4-7 (Blackwell et al., 1995) ในสภาวะพีเอชต่ำกว่า 2 ประสิทธิภาพในการกำจัดโลหะหนักจะน้อยมากหรือไม่มีการกำจัด เนื่องจากไฮโดรเจนไอออนแตกตัวและแย่งจับกับไอออนลบที่บริเวณผิวหน้าเซลล์ เมื่อเพิ่มพีเอชให้สูงขึ้นการแย่งจับกับไอออนลบที่ผิวหน้าเซลล์ของไฮโดรเจนไอออนจะลดลงและเป็นการเพิ่ม Functional groups ในการจับของโลหะหนัก แต่เมื่อเพิ่มค่าพีเอชจนสูงกว่า 7 จะมีผลทำให้โลหะหนักตกตะกอนในรูปของสารประกอบไฮดรอกไซด์หรือออกไซด์ Taniguchi และคณะ (2000) ใช้ *Brevibacterium* sp. สายพันธุ์ HZM-1 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทนต่อสังกะสีกำจัดสังกะสี พบว่า *Brevibacterium* sp. สายพันธุ์ HZM-1 กำจัดสังกะสีได้ดีที่สุดที่พีเอช 3-7 และที่พีเอชน้อยกว่า 2 *Brevibacterium* sp. จะไม่กำจัดสังกะสี Gourdon และคณะ (1990) พบว่า ที่พีเอช 6-7 แบคทีเรียแกรมบวกสามารถกำจัดแคดเมียมได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ประมาณ 20 % แสดงว่า Glycoprotein และ Teichoic acid บนผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกสามารถจับกับไอออนโลหะหนักได้ดี

2.12.2 อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิมีผลต่อการสะสมโลหะหนักของเมตาบอลิก โดยที่อุณหภูมิต่ำ (0-5 °C) โลหะหนักจะถูกแยกออกด้วยกระบวนการเมตาบอลิก อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดโลหะหนักอยู่ที่ 25-35 °C ที่อุณหภูมิ 0-5 °C จะมีผลกับการกำจัดโลหะหนักของแบคทีเรียที่ต้องอาศัยพลังงาน ส่วนพวกที่ไม่ต้องอาศัยพลังงานอุณหภูมิจะไม่มีผล Gourdon และคณะ (1990) ศึกษาการกำจัดแคดเมียมโดยใช้แบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบจาก Activated sludge พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 5 ไป 40 °C การกำจัดแคดเมียมเพิ่มขึ้นแต่เพิ่มขึ้นไม่มาก แสดงให้เห็นว่าที่ 5 °C การกำจัดมีผลมาจากการเมตาบอลิก โดยที่ไม่มีการผลิตโปรตีนภายนอกเซลล์ แสดงว่าไม่มี Bioactivity ที่อุณหภูมินี้ ส่วนที่ 40 °C มีการเพิ่มขึ้นของโปรตีนภายนอกเซลล์ แสดงว่ามีเมตาบอลิกเพิ่มขึ้น และจากการศึกษาของ Tangaromsuk และคณะ (2002) ในการกำจัดแคดเมียมโดยใช้ ชีวมวลของ *Sphingomonas paucimobilis* พบว่าประสิทธิภาพการกำจัดแคดเมียมไม่ได้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดย *Sphingomonas paucimobilis* กำจัดแคดเมียมได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 37 °C แต่ที่อุณหภูมิ 5-70 °C *Sphingomonas paucimobilis* ก็ยังสามารถกำจัดแคดเมียมได้

2.12.3 ระยะเวลาในการกำจัด

จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะใช้ระยะเวลาในการกำจัดโลหะหนักแต่ละชนิดแตกต่างกันระยะเวลาในการกำจัดแคดเมียม โดย *Enterobacter aerogenes* ที่ถูกตรึงบน Activated carbon สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ช่วง คือ ช่วงแรกเป็นการกำจัดแคดเมียมโดยไม่อาศัยพลังงานซึ่งเป็นช่วงที่สั้นมากและแปรผันตามความเข้มข้นของแคดเมียม โดยถ้าความเข้มข้นของแคดเมียมสูงจะทำให้ระยะเวลาในการกำจัดสั้นลงเนื่องจากแคดเมียมสามารถจับกับผนังเซลล์ได้อย่างรวดเร็วขึ้น ช่วงที่สองเป็นการกำจัดเข้าสู่เซลล์โดยอาศัยพลังงานและเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ซึ่งระยะเวลาในการกำจัดแคดเมียมจนเข้าสู่สมดุลจะแปรผันตามความเข้มข้นของสารละลายแคดเมียม คือ ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรการกำจัดจะเข้าสู่สมดุลภายใน 120 นาที แต่ถ้าแคดเมียมเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร การกำจัดแคดเมียมจะเข้าสู่สมดุลในเวลา 30 นาที (Scott and Karanjkar, 1992) ส่วนใน *Acinetobacter calcoarmantratus* สามารถกำจัดแคดเมียมจนเข้าสู่สมดุลได้ภายใน 2-5 นาที และเมื่อบ่มไว้นานกว่านี้จะเกิดสมดุลครั้งที่สองขึ้นภายใน 50 ชั่วโมง และปริมาณแคดเมียมเมื่อผ่านสมดุลครั้งที่สองจะมากกว่าสมดุลครั้งแรกถึงสองเท่า (Hsu and Chiang, 1991)

2.12.4 ชนิดและความเข้มข้นของโลหะหนัก

จากการศึกษาของ Lodi และคณะ (1998) ในการกำจัดโลหะหนักชนิดต่าง ๆ ได้แก่ Cd, Zn, Cu, Ag และ Cr โดยใช้ *Sphaerotilus natans* พบว่าชนิดของโลหะหนักมีผลต่อการกำจัดของจุลินทรีย์ โดย *Sphaerotilus natans* กำจัดโลหะหนักได้ตามลำดับ ดังนี้ $Ag > Zn \approx Cd > Cu > Cr$ และจากการศึกษาการกำจัด Cd, Co, Ni และ Se โดย *Bacillus simplex* Zan-044 ที่พีเอช 6 พบว่าการจับกันของโลหะเพิ่มขึ้นอย่างเป็นเส้นตรงโดยมีความสัมพันธ์ของจำนวนประจุบวก คือ $Cd > Ni > Co > Sr$ (Valentine et al., 1996) จากการศึกษาของ Yasemin และคณะ (2002) ศึกษาการกำจัดปรอทและแคดเมียมจากสารละลาย โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดระหว่างอัลจิเนต เซลล์ตรึงรูปและชีวมวลที่ไม่มีชีวิตของ *Phanerochaete chrysosporium* พบว่า ประสิทธิภาพในการกำจัดปรอทและแคดเมียม ของชีวมวลที่ไม่มีชีวิต > เซลล์ตรึงรูป > แคลเซียม-อัลจิเนต โดยประสิทธิภาพการกำจัดเพิ่มขึ้นในระยะแรก เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโลหะหนักและเมื่อถึงจุดหนึ่งจะคงที่ เนื่องจากเซลล์ไม่เหลือพื้นที่ในการจับโลหะหนัก

2.12.5 การแข่งขันกับไอออนโลหะชนิดอื่น

ไอออนของโลหะหนักชนิดอื่นที่เติมเข้าไปทั้งประจุบวกและประจุลบ มีความสำคัญต่อการกำจัดโลหะหนัก เช่น โลหะอัลคาไล (Alkali metal) หรือโลหะอัลคาไลเอิร์ท (Alkali-earthmetal) เช่น Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} มีผลต่อการกำจัดโลหะหนักของจุลินทรีย์ โดยจะไปแย่งจับกับตำแหน่งยึดเหนี่ยวบนผนังเซลล์จุลินทรีย์ การกำจัดโลหะหนักจะลดลงเมื่อเพิ่มการแข่งขันระหว่างโลหะที่มีประจุเหมือนกันในการจับกับ Binding site

2.12.6 ความเข้มข้นของตัวกำจัด

ความเข้มข้นของตัวกำจัดก็มีผลต่อการกำจัด โลหะหนักของจุลินทรีย์ได้เช่นกัน จากการศึกษาของ Tangaromsuk และคณะ (2002) กำจัดแคดเมียมโดยใช้ *Sphingomonas paucimobilis* พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตัวกำจัดจะมีผลทำให้การกำจัดแคดเมียมเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของตัวกำจัดทำให้เพิ่มพื้นที่ในการจับ โลหะหนักได้มากขึ้น แต่เมื่อถึงจุดหนึ่ง ประสิทธิภาพการกำจัดจะลดลงเนื่องจากเซลล์จับตัวกันเป็นกลุ่มทำให้แอกทิฟไซต์ลดลง

2.13 ข้อดีและข้อเสียของการใช้จุลินทรีย์เพื่อบำบัดสารมลพิษ

2.13.1 ข้อดีของการใช้จุลินทรีย์เพื่อบำบัดสารมลพิษ

(1) เป็นกระบวนการบำบัดสารมลพิษเป้าหมายได้อย่างจำเพาะ เนื่องจากการเติมจุลินทรีย์ที่ได้ผ่านการคัดแยกมาอย่างจำเพาะต่อสารพิษเป้าหมาย และมีข้อมูลการศึกษาวิจัยต่างๆ เกี่ยวกับจุลินทรีย์และวิธีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ ก่อนการนำมาประยุกต์ใช้

(2) เป็นกระบวนการบำบัดสารมลพิษที่ใช้ระยะเวลาสั้นกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆ เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ควบคุมได้ ตั้งแต่ ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่เติมไปในสิ่งแวดล้อมสถานะต่างๆ ที่จำเป็น และเหมาะสมต่อการย่อยสลายสารมลพิษนั้นๆ

(3) ในกระบวนการบำบัดสารมลพิษด้วยการเติมจุลินทรีย์ หากมีการควบคุมสถานะต่างๆ ในบริเวณที่มีการบำบัดอย่างรอบคอบ จะสามารถทำให้เกิดการย่อยสลายสารมลพิษได้อย่างสมบูรณ์ และลดความเป็นพิษของสารที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ให้หมดไปได้อย่างสมบูรณ์

(4) กระบวนการบำบัดสารมลพิษด้วยการเติมจุลินทรีย์ มีความยืดหยุ่นต่อระบบการนำไปใช้ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารมลพิษเหล่านี้ อาจมีได้มากกว่าหนึ่งชนิด ซึ่งแต่ละชนิดมีความสามารถในการเจริญในสถานะแวดล้อมที่ต่างกัน ดังนั้นสำหรับกระบวนการนี้ เราสามารถเลือกจุลินทรีย์หรือกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถให้เหมาะสมกับสิ่งแวดล้อมที่ต้องการนำไปประยุกต์ใช้

2.13.2 ข้อเสียของการใช้จุลินทรีย์เพื่อบำบัดสารมลพิษ

(1) มีขั้นตอนที่ซับซ้อนและใช้ระยะเวลานานก่อนที่จะสามารถนำจุลินทรีย์มาประยุกต์ใช้ได้จริงนั้น เช่น ต้องมีการคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีลักษณะสมบัติที่เหมาะสม ต้องมีการศึกษาข้อมูลอย่างละเอียดถึงความสามารถของจุลินทรีย์นั้นๆ ในการย่อยสลายสารมลพิษเป้าหมาย

(2) การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์เหล่านี้ภายใต้สถานะซับซ้อนที่ควบคุมได้ยากในสิ่งแวดล้อมจริง ไม่สามารถคาดเดาได้ว่าประสิทธิภาพของจุลินทรีย์เหล่านี้ จึงต้องมีการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารของจุลินทรีย์เหล่านี้เป็นลำดับขั้นตอน โดยเริ่มจากการศึกษาในอาหารเหลว ตามมาด้วยการศึกษาการย่อยสลายสารของจุลินทรีย์เหล่านี้ ในดินหรือในน้ำ (ทั้งระดับเล็ก และขยายส่วนเป็น

อื่นๆ ไป รวมทั้งศึกษาปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการย่อยสลายสารของจุลินทรีย์เหล่านี้ ในสภาวะสิ่งแวดล้อมจริง

(3) ความไม่เสถียรของการเจริญของจุลินทรีย์ที่เติมลงไปในสิ่งแวดล้อม เนื่องจากสภาวะแวดล้อมอาจไม่เหมาะสม เช่น อาจมีสารอินทรีย์บางชนิดในสิ่งแวดล้อมที่เป็นตัวยับยั้งการเจริญ (Growth inhibitor) ของจุลินทรีย์ หรือจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญร่วมกับจุลินทรีย์ในธรรมชาติได้ หรือไม่สามารถเจริญแข่งขันได้ จนกระทั่งจำนวนลดลงและหมดไปในที่สุด ดังนั้น เพื่อเป็นการรักษาปริมาณจุลินทรีย์เหล่านี้ในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ จึงต้องมีการปรับสภาวะบางอย่างให้เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านี้ เช่น การเติมสารอาหารจำเพาะบางอย่างหรือการปรับสภาวะของระบบนิเวศให้เหมาะสมแบบจำเพาะ เป็นต้น



บทที่ 3

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย (Instruments)

- 1.) เครื่องอ่างน้ำ (Water bath) ยี่ห้อ Daihan รุ่น WEB-6
- 2.) ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) ยี่ห้อ Memmert รุ่น IN 260
- 3.) ตู้ควบคุมความชื้นอัตโนมัติ (Auto dry) ยี่ห้อ Product of Eureka รุ่น DX-126
- 4.) ตู้ปลอดเชื้อ (Larminar flow) ยี่ห้อ ScanLaf รุ่น Mars 1500
- 5.) เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler toledo รุ่น AG 285
- 6.) เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler toledo รุ่น ML3002
- 7.) เครื่องกวนสารละลาย ยี่ห้อ Heidolph รุ่น MR Hei-Standard
- 8.) เตาอบแห้ง (Hot air oven) ยี่ห้อ Binder รุ่น FED
- 9.) เครื่องกลั่นในโตรเจน (Distilling unit) ยี่ห้อ VELP รุ่น UDK 140
- 10.) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Thermo Spectronic รุ่น Heaios
- 11.) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ยี่ห้อ TKA รุ่น Steroclave 24 และ ยี่ห้อ Hiclave รุ่น HV-50
- 12.) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ยี่ห้อ ยี่ห้อ Jenway รุ่น 3510
- 13.) เครื่องควบคุมอัตราการไหลของของเหลว (Peristaltic pump) ยี่ห้อ Watson Marlow รุ่น SCIQ 323
- 14.) เครื่องวัดออกซิเจนละลาย (DO meter) ยี่ห้อ HACH Sension Portable Case รุ่น sension 6
- 15.) ชุดกลั่นไซยาไนด์
- 16.) เครื่อง Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) ยี่ห้อ PerkinElmer รุ่น PinAAcle 900F
- 17.) Cd Hallow cathode lamp
- 18.) Zn Hallow cathode lamp

3.2 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย (Chemicals)

ชื่อสารเคมี	สูตรโมเลกุล
แคดเมียมซัลเฟต (Cadmium sulphate)	$3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$
สังกะสีไซยาไนด์ (Zinc cyanide)	$\text{Zn}(\text{CN})_2$
โพแทสเซียมไซยาไนด์ (Potassium cyanide)	KCN
โพแทสเซียมไธโอไซยาเนต (Potassium thiocyanate)	KSCN

ชื่อสารเคมี	สูตรโมเลกุล
สารละลายมาตรฐานแคดเมียม (Cadmium standard for AAS)	Cd
สารละลายมาตรฐานสังกะสี (Zinc standard for AAS)	Zn
กรดแอซีติก (Acetic acid)	CH ₃ COOH
สังกะสีอะซิเตท (Zinc acetate)	Zn(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ ·2H ₂ O
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)	NaOH
ไนโตรเจน (III) ไนเตรท (Iron (III) nitrate nonahydrate)	Fe(NO ₃) ₃ ·9H ₂ O
กรดไนตริก (Nitric acid)	HNO ₃
โซเดียมเตตราโบเรต (Sodium tetraborate)	Na ₂ B ₄ O ₇
กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid)	H ₂ SO ₄
กรดบอริก (Boric acid)	H ₃ BO ₃
เมทิลเรด (Methyl red)	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₂
เมทิลีนบลู (Methylene blue)	C ₁₆ H ₁₈ N ₃ SCl
เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol)	C ₂ H ₆ O
ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)	C ₂₀ H ₁₄ O ₄
โพแทสเซียมไนเตรท (Potassium nitrate)	KNO ₃
บรูซีนซัลเฟต (Brucine sulfate)	C ₄₆ H ₅₄ N ₄ O ₁₂ S
กรดซัลฟานิลิก (Sulphanilic acid)	NH ₂ C ₆ H ₄ SO ₃ H
กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)	HCl
อะซีโตน (Acetone)	C ₃ H ₆ O
ซิลเวอร์ไนเตรท (Silver nitrate)	AgNO ₃
ไดเมทิลอะมิโนเบนซอลโรดานีน (Dimethylaminobenzalrhodanine)	C ₁₂ H ₁₂ ON ₂ S ₂
โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride)	NaCl
แมกนีเซียมคลอไรด์ (Magnesium chloride)	MgCl ₂ ·6H ₂ O
โซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate)	CH ₃ COONa·3H ₂ O
โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate)	Na ₂ SO ₄
แบเรียมคลอไรด์ (Barium chloride)	BaCl ₂
โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate)	Na ₂ CO ₃
เมทิลออเรนจ์ (Methyl orange)	Cl ₄ H ₁₄ N ₃ NaO ₃ S
โซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium Thiosulphate Pentahydrate)	Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O

ชื่อสารเคมี	สูตรโมเลกุล
แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride)	CaCl_2
โคบอลต์ไนเตรท (Cobalt nitrate)	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Di-potassium hydrogen phosphate)	K_2HPO_4
เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride)	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
เฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulfate)	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
กลูโคส (D-glucose)	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$
โมลิบดีนัมไตรออกไซด์ (Molybdenum trioxide)	MoO_3
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate)	KH_2PO_4
โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Sodium hydrogen phosphate)	NaHPO_4

3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ (Media)

1) อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารอาหารสูง (Enrichment medium) 1 ลิตร ประกอบด้วย

NaHPO_4	4	กรัม
Na_2SO_4	2.13	กรัม
K_2HPO_4	3.10	กรัม
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	200	มิลลิกรัม
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2	มิลลิกรัม
CaCl_2	1	มิลลิกรัม

ปรับพีเอช (pH) เท่ากับ 7.2

2) อาหารเลี้ยงเชื้อ (Buffer medium) 1 ลิตร ประกอบด้วย

KH_2PO_4	2.7	กรัม
K_2HPO_4	3.5	กรัม

สารละลายเกลือ 10 มิลลิลิตร ซึ่งในน้ำกลั่น 1 ลิตรประกอบด้วย

- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	300	มิลลิกรัม
- $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	180	มิลลิกรัม
- $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	130	มิลลิกรัม

- CaCl ₂	40	มิลลิกรัม
- ZnSO ₄	40	มิลลิกรัม
- MoO ₃	20	มิลลิกรัม

ปรับพีเอช (pH) เท่ากับ 7.2

3.3.2 จุลินทรีย์ในการทดลอง

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองนี้ นำมาจากระบบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่มีไซยาไนด์ปนเปื้อน ซึ่งได้ทำการศึกษาวิจัยแล้วว่าสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซยาไนด์เป็นส่วนประกอบและมีความสามารถสูงในการย่อยสลายไซยาไนด์ ได้แก่ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 และ โดยเฉพาะเมื่อนำจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดมารวมกัน (Mixed culture) พบว่าทำให้มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์เพิ่มขึ้น (สิราภรณ์, 2550) ดังนั้นในการทดลองนี้จะใช้จุลินทรีย์แบบรวมกลุ่ม (Mixed culture) เป็นจุลินทรีย์ในการพัฒนาต่อไป เพื่อดูความสามารถในการย่อยสลายไซโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์ จุลินทรีย์จะถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารอาหารสูง (Enrichment medium) เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ โดยทำการเพาะเลี้ยงในขวดทดลอง (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาณจุลินทรีย์ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 10:100 เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที

3.3.3 การทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์

เมื่อจุลินทรีย์ถูกกระตุ้นการเจริญเติบโตแล้วจะนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Buffer medium) นี้ด้วยอัตราส่วนจุลินทรีย์ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 10:100 ปริมาตรต่อปริมาตร ทำการทดลองในขวดทดลอง (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที โดยใส่ไซโอไซยานเนตในรูปของโพแตสเซียมไซโอไซยานเนต (KSCN) ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และโลหะไซยาไนด์ในรูปของแคดเมียมไซยาไนด์โดยใช้แคดเมียมซัลเฟต (3CdSO₄·8H₂O) ที่ความเข้มข้น 0.064 มิลลิกรัมต่อลิตรผสมกับโพแตสเซียมไซยาไนด์ (KCN) ที่ความเข้มข้น 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร และสังกะสีไซยาไนด์ (Zn(CN)₂) 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อศึกษาความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในสารประกอบแต่ละชนิด โดยทำการศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยวิธีเทคนิคการนับโคโลนี (Colony count technique) เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลในการทดลองระบบฟิสิกซ์-ฟิล์มไบโอสครีบบอร์ต่อไป

3.3.4 การตรึงจุลินทรีย์รวมกลุ่มบนผิวของตัวกลาง (Immobilization of mixed culture on packing materials)

ตัวกลางที่ใช้ในการตรึงเซลล์เป็นตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว ดังแสดงในภาพที่ 3.1 ดำเนินการตรึงเซลล์จุลินทรีย์แบบรวมกลุ่ม (Mixed culture) โดยชั่งน้ำหนักตัวกลาง Polypropylene pall ring จนน้ำหนักของตัวกลางคงที่ก่อนเริ่มตรึงเซลล์ (Cell

immobilization) เริ่มการตรึงเซลล์โดยนำจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มที่เพาะเลี้ยงในวันที่มีจำนวนเซลล์จุลินทรีย์สูงสุดในวันที่ 3 เท่ากับ 1.03×10^8 cfu/ml ผลจากการทำการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่ม (Growth curve) จากนั้นนำตัวกลาง Polypropylene pall ring ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) ใส่งลงในขวดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ (Buffer medium) โดยใส่โซโรโซไซยานตในรูปแบบของโพแตสเซียมโซโรโซไซยานต (KSCN) ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และโลหะไซยาไนด์ในรูปแบบของแคดเมียมไซยาไนด์โดยใช้แคดเมียมซัลเฟต ($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) ที่ความเข้มข้น 0.064 มิลลิกรัมต่อลิตรผสมกับโพแตสเซียมไซยาไนด์ (KCN) ที่ความเข้มข้น 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร และสังกะสีไซยาไนด์ ($\text{Zn}(\text{CN})_2$) 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ทำการฆ่าเชื้อไว้แล้วด้วยหม้อนึ่งมาเชื้อ (Autoclave) โดยใช้อัตราส่วนจุลินทรีย์ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 10:100 ปริมาตรต่อปริมาตร และเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (Shaker) 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วันและ 30 วัน สำหรับการศึกษาระยะแรก (Short term period) และการศึกษาระยะยาว (Long term period) ตามลำดับ สุ่มตัวแทน (Random) ตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring เพื่อชั่งน้ำหนักหลังการตรึงเซลล์ น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นคือจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มที่ถูกตรึงอยู่กับตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring แล้วจึงนำไปบรรจุลงในคอลัมน์ไบโอสครับเบอร์

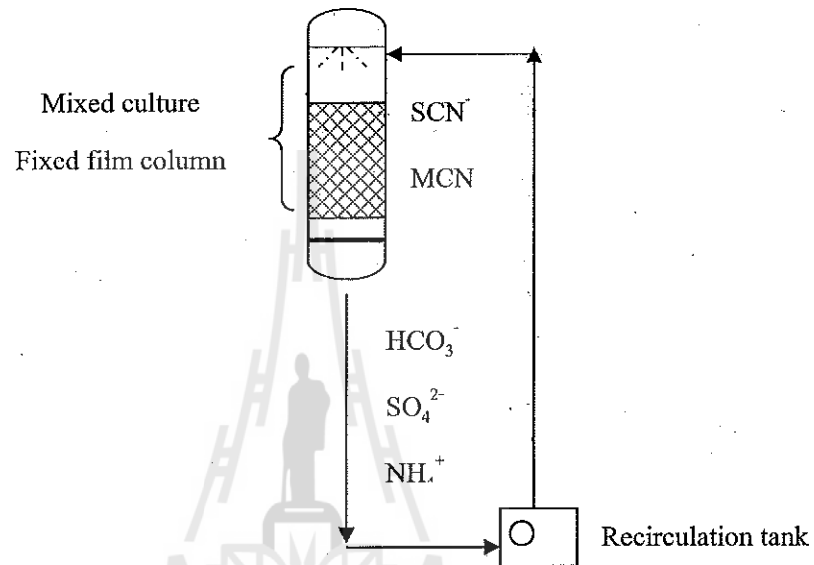


ภาพที่ 3.1 ตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall ring สำหรับให้จุลินทรีย์แบบรวม (Mixed culture) ยึดเกาะ

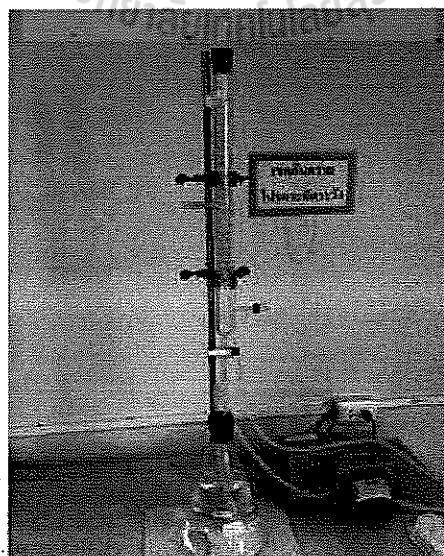
3.4 ขุดพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ด้วยระบบฟิสิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber)

คอลัมน์ของระบบทำจากแก้ว มีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 3 เซนติเมตร และความสูงเท่ากับ 50 เซนติเมตร โดยมีตัวกลางให้จุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) ยึดเกาะอยู่ภายใน โดยบรรจุตัวกลางสูง 30 เซนติเมตร (60% ของความสูงคอลัมน์) และมีถังใส่ของเหลวที่มีสารประกอบไซยาไนด์ทั้งโซโรโซไซยานตและโลหะไซยาไนด์ไหลเวียน (Recirculation tank) ตลอดเวลาขณะเดินระบบ ดังแสดงในภาพที่ 3.2 และ 3.3 โดยจะแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ระยะ ดังนี้ การศึกษา

ระยะแรก (Short term period) ซึ่งจะทำให้การเดินระบบต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างที่เวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง เพื่อศึกษาสถานะที่เหมาะสมที่สุดของระบบ ดังตารางที่ 3.1 และทำการศึกษาระยะยาว (Long term period) โดยนำสถานะที่เหมาะสมที่สุดมาเพื่อศึกษาประสิทธิภาพที่ดีที่สุดของระบบในระยะยาว ซึ่งจะทำให้การเดินระบบต่อเนื่องเป็นเวลา 30 วัน



ภาพที่ 3.2 รูปแบบการย่อยสลายไซโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์รวมกลุ่มในระบบฟิซ-ฟิล์มไบโอสกรับเบอร์



ภาพที่ 3.3 ระบบฟิซ-ฟิล์มไบโอสกรับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber system)

3.5 การทดลอง

ทำการทดลองโดยใช้สภาวะและตัวแปรในการทดลองเพื่อให้ได้ผลตามวัตถุประสงค์ โดยศึกษาเป็น 2 ระยะ ได้แก่ การศึกษาระยะแรก (Short term period) ทำการศึกษาตัวแปรดังตารางที่ 3.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์และระบบ โดยนำข้อมูลการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ในสารประกอบไซยาไนด์ที่ประกอบด้วยไซโอไซยาเนตและโลหะไซยาไนด์มาใช้ในการศึกษาต่อ หลังจากนั้นทำการศึกษาระยะยาว (Long term period) ศึกษาตัวแปรต่อเนื่องโดยนำตัวแปรสภาวะที่เหมาะสมจากการศึกษาระยะแรกมาทำการศึกษาระยะยาว เพื่อศึกษาประสิทธิภาพที่ดีที่สุดของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายด้วยระบบฟ็อกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์

ตารางที่ 3.1 สภาวะและตัวแปรที่ใช้ในการวิจัย

ตัวแปรที่ใช้ในการศึกษา	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
เชื้อจุลินทรีย์	จุลินทรีย์ SUTS 1 และ SUTS 2 (Mixed culture)
Thiocyanate concentration (มก./ล.)	100
Zinc cyanide concentration (มก./ล.)	0.05
Cadmium cyanide concentration (มก./ล.)	0.05
Liquid flow rate (มล./นาที)	10 และ 30
Height of packing materials (เมตร)	0.30

3.6 วิธีการวิเคราะห์

การศึกษากการพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์รวมกลุ่มในการย่อยสลายไซโอไซยาเนตและโลหะไซยาไนด์โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 ระยะ คือการศึกษาระยะแรก (Short term period) เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง และการศึกษาระยะยาว (Long term period) เก็บตัวอย่างที่ 24 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์พารามิเตอร์ดังต่อไปนี้

- 1.) วิเคราะห์ไซโอไซยาไนด์ (SCN⁻) ด้วยวิธีการเทียบสีด้วยเฟอร์ริกไนเตรท (Ferric nitrate) (APHA, AWWA, WPCF, 2005)
- 2.) ปริมาณไซยาไนด์ที่เหลืออยู่ (Residual cyanide: CN) ด้วยวิธีการไตเตรท (Titrimetric method) ภายหลังจากการกลั่น (Distillation) (APHA, AWWA, WPCF, 2005)
- 3.) วิเคราะห์สังกะสี (Zinc: Zn) และแคดเมียม (Cadmium: Cd) ด้วยวิธี Direct Air-Acetylene Flame Method ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometry: AAS (APHA, AWWA, WPCF, 2005)

- 4.) วิเคราะห์แอมโมเนีย ($\text{NH}_3\text{-N}$) ด้วยวิธีการกลั่น (Distillation) และการไตเตรท (Titrimetric method) (APHA, AWWA, WPCF, 2005)
- 5.) วิเคราะห์ไนเตรท ($\text{NO}_3\text{-N}$) ด้วยวิธีบรูซีน (Brucine Method) (APHA, AWWA, WPCF, 1995)
- 6.) วิเคราะห์ซัลเฟต (SO_4^{2-}) ด้วยวิธีวัดความขุ่น (Turbidimetric method) (APHA, AWWA, WPCF, 2005)
- 7.) วิเคราะห์ไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) โดยวิธีการไตเตรท (Titrimetric method) (APHA, AWWA, WPCF, 2005)
- 8.) ศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยวิธีเทคนิคการนับ โคล โดนี (Colony count technique) ในของเหลวที่ไหลเวียนในระบบ และหาน้ำหนักของจุลินทรีย์ที่เกาะที่ผิวของตัวกลางด้วยการชั่งน้ำหนักของตัวกลาง (Weight of biofilm on packing materials)

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ผลโดยการคำนวณหาปริมาณไซโอไซยานเนตและไซยาไนด์ที่เหลืออยู่ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ คำนวณผลจากสูตร ดังนี้

- 1.) การคำนวณไซโอไซยานเนต (Thiocyanate: SCN)

$$\text{ไซโอไซยานเนต (mg SCN/l)} = (a_1 + b) \times \text{Dilution factor}$$

เมื่อ

a_1 = Absorbance of sample solution

m = Slope

b = Intercept

- 2.) การคำนวณไซยาไนด์ (Cyanide: CN)

$$\text{ไซยาไนด์ (mg CN/l)} = \frac{\text{ml AgNO}_3 \text{ Sample} - \text{ml AgNO}_3 \text{ Blank}}{250} \times \frac{150}{\text{ปริมาตรที่กลั่นได้}}$$

3.) การคำนวณประสิทธิภาพการบำบัดไรโอไซยานตและโลหะโซยาไนต์

$$\text{ประสิทธิภาพการบำบัด (\%)} = \frac{\text{ความเข้มข้นเริ่มต้น} - \text{ความเข้มข้นที่เหลือ}}{\text{ความเข้มข้นเริ่มต้น}} \times 100$$



บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

สารประกอบไซยาไนด์มีความเป็นพิษสูงต่อสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะในระบบทางเดินหายใจ แต่ยังคงมีการใช้สารประกอบไซยาไนด์ในปริมาณมากตามโรงงานอุตสาหกรรม นอกจากมีความเป็นพิษต่อมนุษย์แล้ว ยังมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์หลากหลายชนิด (Microorganisms) แม้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ เช่น ไธโอไซยาเนตมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้น 58-116 มิลลิกรัม/ลิตร (Wood et al., 1998) ขณะที่โลหะไซยาไนด์มีความเป็นพิษเนื่องจากสามารถแตกตัวให้สารประกอบไฮโดรเจนไซยาไนด์ นอกจากนี้สารประกอบโลหะไซยาไนด์ยังมีความเป็นพิษโดยตัวของโลหะเองอีกด้วย (Ebbs, 2004) แต่จุลินทรีย์สามารถย่อยสลาย (Degradation) ไธโอไซยาเนตและโลหะไซยาไนด์ได้ ทั้งนี้จุลินทรีย์มีระบบเอนไซม์และกระบวนการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์เฉพาะตัว จึงสามารถใช้สารประกอบไซยาไนด์เป็นแหล่งคาร์บอนและ/หรือนิโตรเจน เพื่อการเจริญเติบโตและเปลี่ยนสารประกอบไซยาไนด์ให้อยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษลดลง (Chakraborty and Veeramani, 2006; Jeong and Chung, 2006; Sirianuntapiboon and Chuamkaew, 2007; Potivichayanon and Kitleartpornpairat, 2010)

4.1 ผลการศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) และการทดสอบความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษการย่อยสลายไธโอไซยาเนตและโลหะไซยาไนด์ เป็นแบคทีเรียรวมกลุ่ม (Mixed culture bacteria) ประกอบด้วยแบคทีเรีย 2 ชนิดคือ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 โดยลักษณะทั่วไปของแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาวิจัย ดังแสดงในตารางที่ 4.1

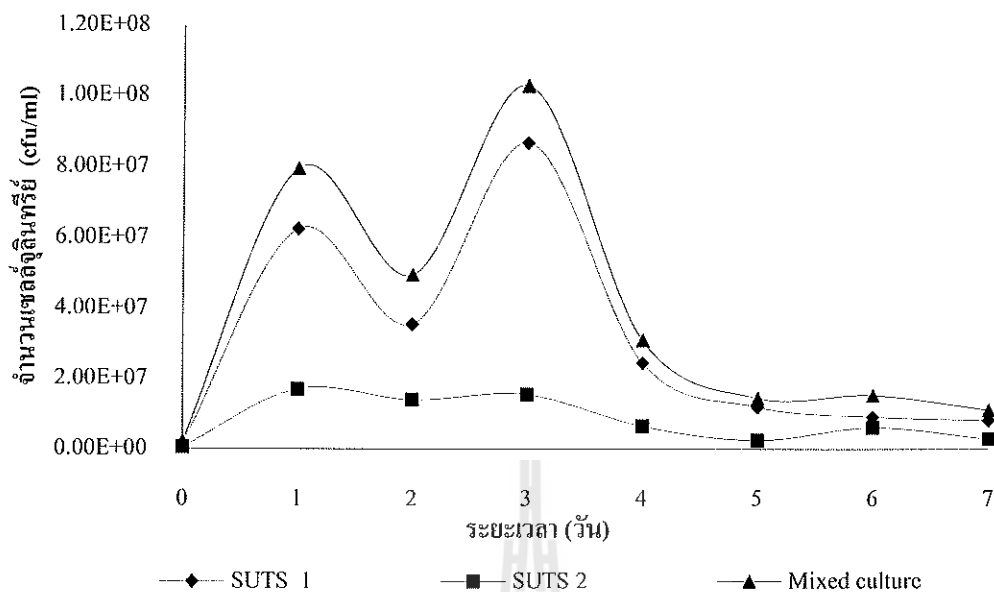
ตารางที่ 4.1 ลักษณะทั่วไปของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture bacteria) (สิริภรณ์, 2550)

ชนิดของจุลินทรีย์	ขนาดของโคโลนี (มิลลิเมตร)	ลักษณะภายนอก ของโคโลนี	ชนิดของ แกรม	รูปร่าง
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> SUTS 1	5-7.5	ใหญ่ กลมมน ผิวหน้าเรียบ ใส สีน้ำตาลอ่อน	ลบ	รูปแท่ง
<i>Pseudomonas monteilii</i> SUTS 2	1-2	เล็ก กลมมน ผิวหน้าเรียบ สีขาวขุ่น	ลบ	รูปแท่ง

แบคทีเรียแต่ละชนิดมีระยะเวลาการเจริญเติบโตหรือ Generation time แตกต่างกัน (สิราภรณ์, 2550) โดยการศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรวมกลุ่มนี้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Buffer medium agar (BMG) เป็นอาหารเลี้ยงที่เฉพาะเจาะจงสำหรับแบคทีเรียรวมกลุ่มในการย่อยสลายไซยาไนต์ และพิจารณาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยวิธีการนับโคโลนี (Colony count technique) โดยการทำเทคนิค Spread plate (Spreading plate technique) ซึ่งเป็นการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (Viable cell plate count) โดยอาศัยหลักการว่า จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเมื่อได้รับสารอาหารจะสามารถเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน ดำเนินการศึกษาเป็นระยะเวลา 7 วัน ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรวมกลุ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนต์ พบว่า แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ได้สูงสุดในวันที่ 3 ของการศึกษา โดยมีจำนวนโคโลนีเท่ากับ 1.03×10^8 cfu/มล. และมีแนวโน้มลดลงจนถึงวันที่ 7 ของการศึกษาเท่ากับ 1.11×10^7 cfu/มล. เมื่อพิจารณาแยกแต่ละชนิดของจุลินทรีย์พบว่า *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 สามารถเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ได้สูงสุดในวันที่ 3 เช่นกัน โดยมีจำนวนโคโลนีเท่ากับ 8.70×10^7 cfu/มล. ส่วน *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 สามารถแบ่งเซลล์ได้สูงสุดในวันที่ 1 ของการศึกษา มีจำนวนโคโลนีเท่ากับ 1.70×10^7 cfu/มล. ซึ่ง *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 สามารถเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้ดีกว่า *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และกราฟการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแบบรวมกลุ่มดังแสดงในภาพที่ 4.1 แสดงว่าการรวมกลุ่มกันของแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่มีสารประกอบไซยาไนต์ได้แก่ ไซโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนต์ในรูปแบบของสังกะสีและแคดเมียม

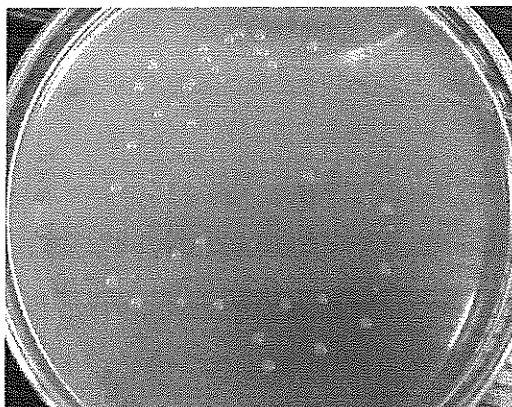
ตารางที่ 4.2 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มในสารประกอบไซยาไนต์

ระยะเวลา (วัน)	จำนวนเซลล์ (colony forming unit/มล.)		
	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>Pseudomonas monteilii</i>	Mixed
	SUTS 1	SUTS 2	culture
0	1.50×10^6	5.00×10^5	2.00×10^6
1	6.25×10^7	1.70×10^7	7.95×10^7
2	3.55×10^7	1.40×10^7	4.95×10^7
3	8.70×10^7	1.55×10^7	1.03×10^8
4	2.45×10^7	6.50×10^6	3.10×10^7
5	1.20×10^7	2.50×10^6	1.45×10^7
6	9.15×10^6	6.15×10^6	1.53×10^7
7	8.15×10^6	2.90×10^6	1.11×10^7



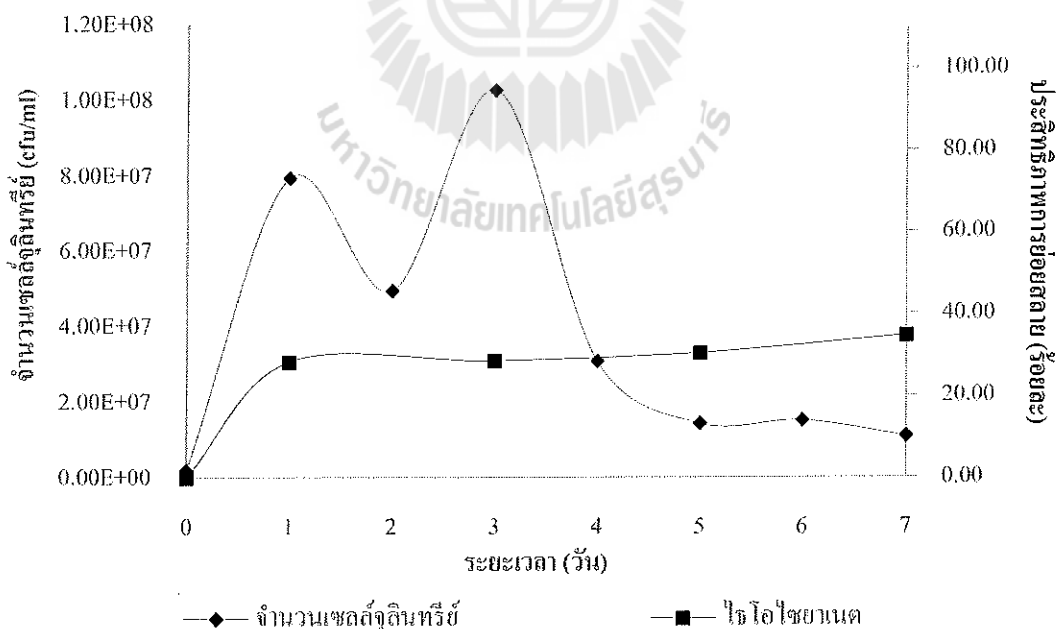
ภาพที่ 4.1 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture microbial growth curve) ในช่วงระยะเวลา 7 วัน

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ค้นพบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไซโอไซยานเนตได้ เช่น *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas* และ *Thiobacillus* species (Boucabeille et al., 1994; Ebbs, 2004; Ahn et al., 2005) เป็นต้น ด้วยการใช้ไซโอไซยานเนตและไซยาไนด์เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน ทำให้ความเป็นพิษลดลง ซึ่งงานวิจัยนี้มีการค้นพบอีกว่ามีแบคทีเรียที่มีความสามารถในการเจริญเติบโตได้ในแหล่งอาหารที่มีสารประกอบไซยาไนด์ ไซโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์ได้ คือ แบคทีเรียในกลุ่มของ *Agrobacterium* เป็นงานแรกที่ค้นพบว่าสามารถเจริญได้ในสารประกอบไซยาไนด์โดยเฉพาะอย่างยิ่งโลหะไซยาไนด์ที่มีความเป็นพิษสูงต่อสิ่งมีชีวิตและมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ดังแสดงในภาพที่ 4.2



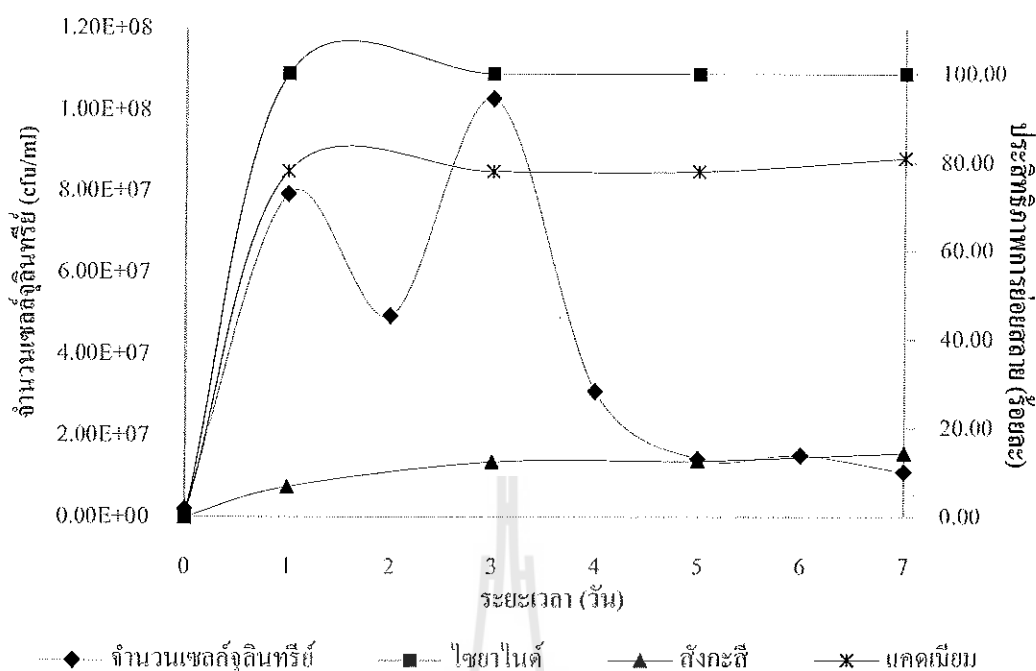
ภาพที่ 4.2 ลักษณะโคโคนีที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์

ขณะเดียวกันเมื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของ ไซโอไซยาเนต (Thiocyanate: SCN⁻) จากการศึกษาการย่อยสลายไซโอไซยาเนตในช่วงระยะเวลา 7 วัน พบว่าจุลินทรีย์รวมกลุ่มสามารถย่อยสลายไซโอไซยาเนตได้โดยมีความเข้มข้นของไซโอไซยาเนต ลดลงเหลือ 57.30 มก./ล. จากความเข้มข้นเริ่มต้น 87.88 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 34.80 (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.3) จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์รวมกลุ่มสามารถย่อยสลายไซโอไซยาเนตได้อย่างรวดเร็ว ในช่วง 24 ชั่วโมงแรก สอดคล้องกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีการเจริญเติบโตจากจำนวน เซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 2.00×10^6 cfu/มล. เพิ่มขึ้นเป็น 7.95×10^7 cfu/มล. ในวันที่ 1 ของการศึกษาเช่นกัน โดยสามารถย่อยสลายไซโอไซยาเนตลดลงเหลือ 63.15 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 28.15 หลังจากนั้น แบคทีเรียรวมกลุ่มสามารถย่อยสลายได้ต่อเนื่องตลอดช่วงระยะเวลา 7 วันของการศึกษา ซึ่ง ไซโอไซยาเนตสามารถถูกนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและ/หรือแหล่งไนโตรเจนสำหรับจุลินทรีย์ได้ อย่างไรก็ตามค่ามาตรฐานสำหรับการปล่อยทิ้งออกสู่สิ่งแวดล้อมของน้ำทิ้งที่ปนเปื้อนไซโอไซยาเนต ยังไม่มีการกำหนดออกมา แต่ไซโอไซยาเนตจัดเป็นสารที่มีความเป็นพิษน้อยกว่าไซยาไนด์ และสามารถถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายกว่าไซยาไนด์ จึงสามารถสลายตัวได้ง่าย กลายเป็นสารต่างๆที่มีความ เป็นพิษลดลง แต่หากไม่มีการควบคุมหรือป้องกันก่อนปล่อยทิ้งออกสู่สิ่งแวดล้อม ไซโอไซยาเนต อาจสะสมทั้งในน้ำและดินได้ รวมทั้งอาจจะส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิต เมื่อความเข้มข้นของ ไซโอไซยาเนตที่สะสมมากพอจนถึงระดับที่ก่อให้เกิดพิษต่อสิ่งมีชีวิต



ภาพที่ 4.3 ความสามารถในการย่อยสลายไซโอไซยาเนต (SCN⁻) โดยจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture)

สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของโลหะไซยาไนด์ จากการศึกษาพบว่าโลหะไซยาไนด์เริ่มต้น 0.69 มก./ล. และวิเคราะห์โลหะหนักในรูปของสังกะสี (Zinc: Zn) และแคดเมียม (Cadmium: Cd) โดยสังกะสีมีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 0.442 มก./ล. สำหรับสังกะสีนี้ นอกจากเกิดจากโลหะไซยาไนด์ในรูปของสังกะสีไซยาไนด์ (Zinc cyanide) แล้วยังเกิดจากสังกะสีซัลเฟต (Zinc sulphate: $ZnSO_4$) ที่เป็นองค์ประกอบหนึ่งในสารละลายเกลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ Buffer medium เมื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นเฉพาะสังกะสีซัลเฟต ที่เป็นองค์ประกอบใน Buffer medium พบว่ามีสังกะสี เท่ากับ 0.287 มก./ล. ดังนั้นการศึกษานี้จะพิจารณาการย่อยสลายสังกะสีทั้งในรูปของสังกะสีไซยาไนด์ และสังกะสีซัลเฟต ส่วนความเข้มข้นของแคดเมียม เริ่มต้นเท่ากับ 0.050 มก./ล. จากการศึกษาการย่อยสลายโลหะไซยาไนด์ตลอดช่วงระยะเวลา 7 วันของการศึกษา พบว่าจุลินทรีย์รวมกลุ่มสามารถย่อยสลายไซยาไนด์คิดเป็นร้อยละมากกว่า 99.99 โดยไม่พบไซยาไนด์เหลืออยู่ ซึ่งสามารถย่อยสลายได้อย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรก สำหรับสังกะสี และแคดเมียม จุลินทรีย์รวมกลุ่มสามารถกำจัดโลหะหนักทั้งสองชนิดให้ลดลงเหลือ 0.378 มก./ล. และ 0.0095 มก./ล. คิดเป็นประสิทธิภาพการกำจัด ร้อยละ 14.48 และ 81.00 ตามลำดับ ในวันที่ 7 ของการศึกษา จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์รวมกลุ่มสามารถกำจัดแคดเมียมได้ดีกว่าสังกะสี อาจเนื่องจากแบคทีเรียสามารถปรับสภาพให้เข้ากับสภาวะที่มีแคดเมียมได้ดีกว่า ซึ่งระดับความเข้มข้นของแคดเมียม ในการศึกษาครั้งนี้ยังไม่ได้ส่งผลกระทบต่อการทำงานของเซลล์ ทำให้แบคทีเรียทั้งสองชนิดสามารถกำจัดแคดเมียมได้ดี ขณะที่แบคทีเรียสามารถกำจัดสังกะสี ได้อย่างช้าๆตลอดช่วงระยะเวลา 7 วันของการศึกษา (ภาพที่ 4.4) เมื่อพิจารณาถึงเกณฑ์มาตรฐานเกี่ยวกับน้ำที่มีการปนเปื้อนไซยาไนด์สังกะสี และ แคดเมียม สำหรับประเทศไทย โดยกำหนดให้น้ำทิ้งที่ระบายออกจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรมไม่เกิน 0.2, 5.0 และ 0.03 มก./ล. ตามลำดับ (ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2539) ซึ่งแบคทีเรียรวมกลุ่ม มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์ สังกะสีและแคดเมียมได้ตามเกณฑ์ ประสิทธิภาพการย่อยสลายโลหะไซยาไนด์และไซโอไซยานเนตดังแสดงในตารางที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 ความสามารถในการย่อยสลายโลหะไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์รวมกลุ่ม

ตารางที่ 4.3 การย่อยสลายโลหะไซยาไนด์และไซโอไซยานิดด้วยจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) จากการศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม

ระยะเวลา (วัน)	ไซยาไนด์* (มก./ล.)	ดั่งกะสี (มก./ล.)	แคลเมียม (มก./ล.)	ไซโอไซยานิด (มก./ล.)	ไนเตรท (มก./ล.)	DO (มก./ล.)	pH
0	0.69±0.03	0.442±0.058	0.050±0.000	87.88±0.20	0.059±0.004	5.20±0.00	6.94±0.01
1	N.D.	0.412±0.029	0.011±0.000	63.15±0.26	0.300±0.046	6.27±0.25	7.01±0.02
3	N.D.	0.387±0.006	0.011±0.001	62.86±0.29	0.351±0.021	5.63±0.15	7.03±0.00
5	N.D.	0.386±0.004	0.011±0.000	61.08±0.32	0.457±0.035	5.27±0.06	7.06±0.05
7	N.D.	0.378±0.001	0.0095±0.001	57.30±0.21	0.408±0.014	5.30±0.00	7.03±0.01

หมายเหตุ: ผลการวิเคราะห์ที่แสดงในตารางด้านบนแสดงในรูปของ Mean±SD

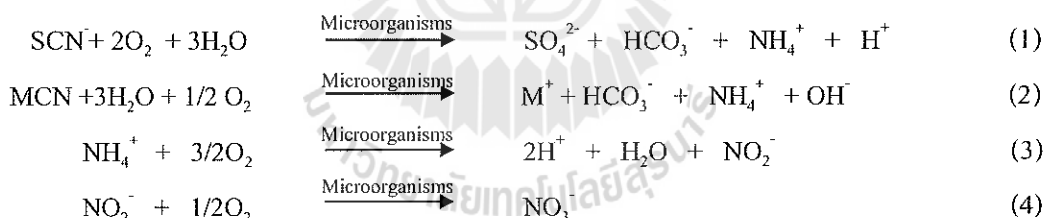
N.D. หมายถึง Not Detected ตรวจไม่พบในการศึกษาครั้งนี้

* Detection limit สำหรับการวิเคราะห์ไซยาไนด์เหลืออยู่ (Residue cyanide) ด้วยวิธีไตเตรท (Titrimetric method) สำหรับตัวอย่างน้ำที่มีไซยาไนด์ตั้งแต่ 1 มก./ล. (APHA, AWWA, WPCF, 2005)

ตารางที่ 4.4 ประสิทธิภาพการย่อยสลายโลหะไซยาไนด์และไซโอไซยานเนตจากการศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม

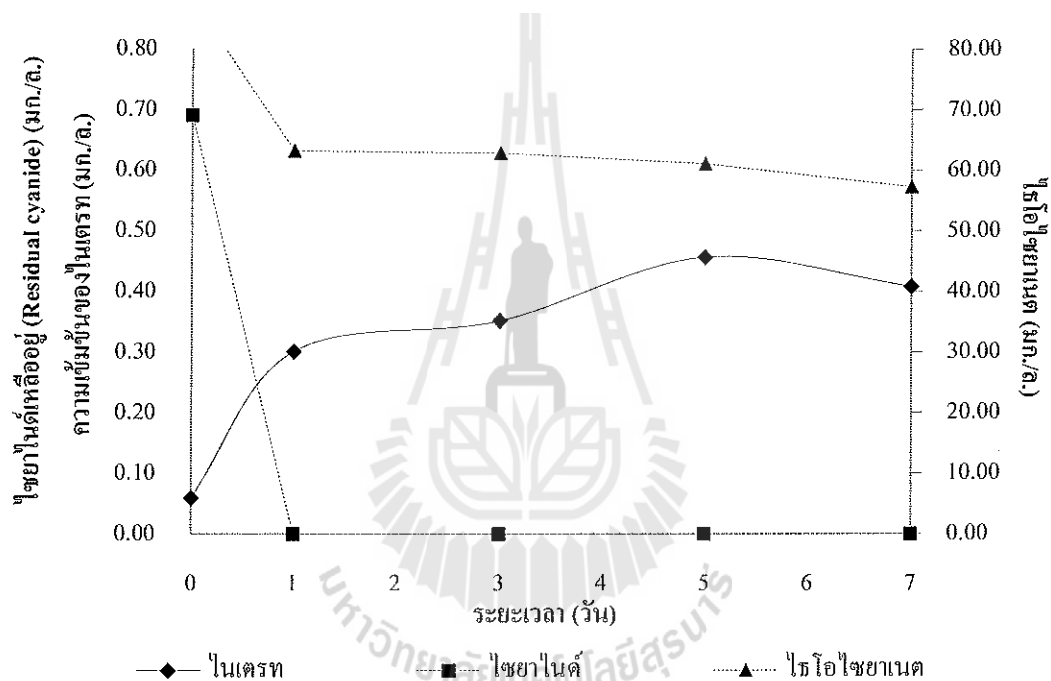
ระยะเวลา (วัน)	ไซยาไนด์ (ร้อยละ)	ถังกะสี (ร้อยละ)	แกลดเมียม (ร้อยละ)	ไซโอไซยานเนต (ร้อยละ)
0	0.00	0.00	0.00	0.00
1	>99.99	6.90	78.00	28.15
3	>99.99	12.56	78.00	28.48
5	>99.99	12.78	78.00	30.49
7	>99.99	14.48	81.00	34.80

ในการศึกษานี้ นอกจากศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่ม และศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ ยังได้ดำเนินการวิเคราะห์สารผลิตภัณฑ์ (By-product) ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของไนเตรท (Nitrate: NO_3^-) ซึ่งเป็น By-product ตัวหนึ่งที่สามารถเกิดขึ้นได้จากกระบวนการย่อยสลายไซโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์ ทำให้อยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษลดลง ดังแสดงในสมการ (1) ถึง (4)



ไนเตรทจะเกิดขึ้นมากหรือน้อยนั้น เกี่ยวข้องกับปริมาณของสารประกอบไซยาไนด์ที่ถูกย่อยสลายไป โดย By-product ที่เกิดขึ้นไม่ได้เกิดเฉพาะไนเตรท เท่านั้น ยังมีสารประกอบตัวอื่นที่สามารถเกิดขึ้นหลังจากปฏิกิริยาการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์ เช่น ซัลเฟต (SO_4^{2-}) ไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) แอมโมเนีย (NH_3) ไนไตรท (NO_2^-) เป็นต้น ดังแสดงในปฏิกิริยา (1) ถึง (4) แต่สำหรับการศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Growth curve) ในขั้นตอนทดสอบเบื้องต้นนี้ดำเนินการศึกษาเฉพาะปริมาณไนเตรทที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายของไซยาไนด์และไซโอไซยานเนต เนื่องจากไนเตรทเป็น By-product ตัวสุดท้ายที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนรูป (Transformation) จากแอมโมเนียเป็นไนไตรท และจากไนไตรทเปลี่ยนเป็นไนเตรท หลังจากที่ไซยาไนด์ถูกย่อยสลายจนไม่พบคิดเป็นร้อยละมากกว่า 99.99 และ ไซโอไซยานเนตถูกย่อยสลายคิด

เป็นร้อยละ 28.15 (63.15 มก./ล.) ในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการศึกษา ผลการศึกษาพบว่าไนเตรทมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นจากวันแรกที่มีไนเตรทเริ่มต้นเท่ากับ 0.059 มก./ล. (ตารางที่ 4.3) และเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดช่วงระยะเวลา 7 วันของการศึกษา โดยมีไนเตรทเกิดขึ้นสูงสุดในวันที่ 5 ของการศึกษาเท่ากับ 0.457 มก./ล. (ภาพที่ 4.5) ปริมาณไนเตรทที่เกิดขึ้นนี้จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ใหม่ได้ โดยสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่ายและรวดเร็วกว่าในรูปของสารประกอบไซยาไนด์ ขณะเดียวกันไซยาไนด์ถูกย่อยสลายหมดภายใน 24 ชั่วโมงจนกระทั่งในวันที่ 7 ทำให้จุลินทรีย์มีการปรับตัวและต้องการแหล่งไนโตรเจนจากไนเตรทไปใช้ในการเจริญเติบโต ดังนั้นอาจทำให้ไนเตรทในระบบมีแนวโน้มลดลงได้



ภาพที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนเตรทที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายของไซโอไซยาเนตและไซยาไนด์

4.2 ผลการศึกษาระยะแรก (Short term period) ของการพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ด้วยระบบฟิซซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber)

จากผลการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์รวมกลุ่มที่ได้ศึกษาทำให้ทราบว่าจุลินทรีย์รวมกลุ่มสามารถปรับตัว เจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ได้เมื่อมีองค์ประกอบของโลหะไซยาไนด์และไซโอไซยาเนตปนเปื้อนอยู่ ดังนั้นจึงทำการพัฒนาการศึกษาต่อไปคือการประยุกต์ระบบบำบัดโดยพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ดังกล่าวในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ด้วยการทดสอบระบบฟิซซ์ฟิล์มไบโอสครับเบอร์เพื่อหาอัตราการไหลที่เหมาะสมสำหรับระบบในการย่อยสลาย

สารประกอบไซยาไนด์ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด ก่อนดำเนินการศึกษาระยะแรก (Short term period) ได้ทำการตรึงเซลล์ (Immobilized cell) จุลินทรีย์รวมกลุ่มบนตัวกลางพลาสติกที่ทำด้วย Polypropylene pall (PP) ring เป็นระยะเวลา 15 วัน สุ่ม (Random) ตัวกลางพลาสติก ดำเนินการชั่งน้ำหนักที่ทำการตรึงเซลล์ในวันที่ 15 เพื่อดูน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและพบว่าน้ำหนักของตัวกลางเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 0.0034 กรัม (ตารางที่ 4.5) ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ามีเซลล์ของจุลินทรีย์รวมกลุ่มจับที่ตัวกลางโดยพบการเจริญของเซลล์ในสารอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลินทรีย์ระหว่างการตรึงเซลล์ด้วย จากนั้นจึงนำตัวกลางที่ตรึงเซลล์แล้วใส่ในระบบฟลักซ์-ฟิล์มไบโอสคริมเบอร์เพื่อทดสอบในขั้นแรกต่อไป โดยตัวแปรที่ใช้สำหรับการศึกษานี้ คืออัตราการไหล (Liquid flow rate) ดำเนินการทดลองที่ 10 มล./นาที่ และ 30 มล./นาที่ คิดเป็นระยะเวลาเก็บที่ 21 นาที่ และ 7 นาที่ ตามลำดับ ทั้งนี้เพื่อหาอัตราการไหลที่เหมาะสมตามระยะเวลาเก็บดังกล่าว ในช่วงระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 การสุ่ม (Random) ชั่งน้ำหนักตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring หลังจากการตรึงเซลล์ (Cell immobilization) ในวันที่ 15

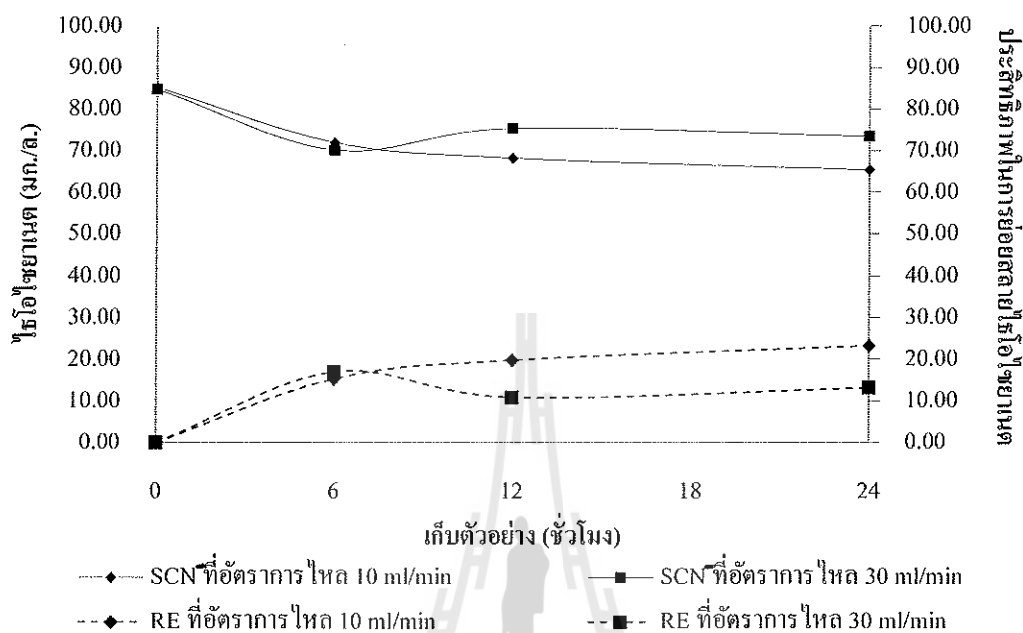
ตัวกลางพลาสติก	น้ำหนักตัวกลาง PP ring ที่เพิ่มขึ้น*(กรัม)
1	0.0039±0.0000
2	0.0031±0.0001
3	0.0032±0.0001
เฉลี่ย (Average)	0.0034±0.0004

หมายเหตุ : * หมายถึง Mean±SD

4.2.1 การบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของไซโอไซยานต (Thiocyanate: SCN)

การศึกษาศักยภาพในการบำบัดไซโอไซยานตด้วยระบบฟลักซ์-ฟิล์มไบโอสคริมเบอร์ ผลการทดลองที่อัตราการไหล 10 มล./นาที่ และ 30 มล./นาที่ โดยมีค่าไซโอไซยานตเริ่มต้นเท่ากับ 85.12 มก./ล. และ 84.65 มก./ล. ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าทั้งสองอัตราการไหล ไซโอไซยานตสามารถถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในระบบได้อย่างรวดเร็วตั้งแต่ 6 ชั่วโมงแรกของการศึกษา มีความเข้มข้นของไซโอไซยานตลดลงเหลือ 72.01 มก./ล. และ 70.17 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 15.40 และ 17.11 ตามลำดับ เมื่อเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ที่ 24 ชั่วโมงสำหรับอัตราการไหลที่ 10 มล./นาที่ พบไซโอไซยานตลดลงเหลือเท่ากับ 65.35 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 23.23 ส่วนที่อัตราการไหล 30 มล./นาที่ ไซโอไซยานตลดลงเหลือ 73.47 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 13.21 จากการศึกษาสามารถสังเกตได้ว่าการลดลงของไซโอไซยานตที่อัตราการไหล 10 มล./นาที่ มีอัตราการย่อยสลายสูงกว่าที่อัตรา

การไหล 30 มล./นาที โดยมีแนวโน้มการลดลงทุกๆ 6 ชั่วโมง ในขณะที่อัตราการไหล 30 มล./นาที ความสามารถในการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นเร็วได้ 6 ชั่วโมงแรกเท่านั้น โดยหลังจากชั่วโมงที่ 6 การย่อยสลายไรโอไซยานเนตช้าลงเล็กน้อย ดังแสดงในภาพที่ 4.6 และตารางที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 ประสิทธิภาพในการบำบัดไรโอไซยานเนต ที่อัตราการไหล 10 มล./นาที และ 30 มล./นาที

ตารางที่ 4.6 ประสิทธิภาพการบำบัดไรโอไซยานเนตที่อัตราการไหล 10 มล./นาที และ 30 มล./นาที

เก็บตัวอย่าง (ชั่วโมง)	Liquid flow rate (มล./นาที)	ไรโอไซยานเนต (มก./ล.)	ประสิทธิภาพการย่อยสลาย ไรโอไซยานเนต (ร้อยละ)
0	10	85.12±0.10	0.00
6		72.01±0.16	15.40
12		68.23±0.38	19.84
24		65.35±0.56	23.23
0	30	84.65±0.04	0.00
6		70.17±0.62	17.11
12		75.35±0.08	10.99
24		73.47±0.36	13.21

หมายเหตุ: * หมายถึง Mean±SD

ดังนั้นสำหรับการศึกษานี้พบว่าที่อัตราการใช้ 10 มล./นาที่ ระบบสามารถบำบัดไซโอไซยาเนตได้ดีกว่าที่อัตราการใช้ 30 มล./นาที่ สำหรับเกือบทุกๆ ชั่วโมง 6 ชั่วโมงของการศึกษาที่วิเคราะห์หาปริมาณไซโอไซยาเนต อาจเนื่องมาจากที่อัตราการใช้ 10 มล./นาที่ มีการไหลของน้ำเสียเข้าสู่ระบบช้ากว่า และมีระยะเวลาพักเก็บที่ประมาณ 21 นาทีซึ่งนานกว่า ทำให้จุลินทรีย์รวมกลุ่มมีระยะเวลาพักมากพอในการสัมผัสกับสารมลพิษเพื่อการย่อยสลายไซโอไซยาเนต ส่งผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดสูงขึ้น การลดลงของไซโอไซยาเนตในระบบนั้นเกิดจากการที่จุลินทรีย์นำไซโอไซยาเนตไปใช้เพื่อเป็นแหล่งของคาร์บอน ในโตรเจนและ/หรือซัลเฟอร์ (Dzombak et al., 2006) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Karavaiko และคณะ (2000) รายงานว่าประสิทธิภาพการย่อยสลายไซโอไซยาเนต โดย *Pseudomonas putida*, strain 21; *Pseudomonas stutzeri*, strain 18 และ *Pseudomonas sp.*, strain 5 เพื่อใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนจะมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มอัตราการใช้ ดังนั้นจำเป็นต้องให้ระยะเวลาพักกับจุลินทรีย์สำหรับการย่อยสลายไซโอไซยาเนต นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับวิธีการออกแบบระบบบำบัด ความเข้มข้นของไซโอไซยาเนตและชนิดของจุลินทรีย์ จากการศึกษาของ Ahn และคณะ (2005) รายงานว่าไซโอไซยาเนตที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 250 มก./ล. สามารถถูกย่อยสลายโดย *Klebsiella sp.* เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ที่ 7.5 วันของการศึกษา ส่วน Lim และคณะ (2008) รายงานว่าไม่พบไซโอไซยาเนตเหลืออยู่โดยใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์เพียง 2.8 วัน จากไซโอไซยาเนตที่ความเข้มข้นในรูปของ KSCN เริ่มต้นเท่ากับ 838 มก./ล.

4.2.2 การบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของโลหะไซยาไนด์ (Metal cyanide)

การบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของโลหะไซยาไนด์สังกะสีไซยาไนด์ (Zinc cyanide) และแคดเมียมไซยาไนด์ (Cadmium cyanide) ด้วยระบบฟอกซ์-ฟิล์ม ไบโอสคริบเบอร์ที่อัตราการใช้ 10 มล./นาที่ พบว่าระบบสามารถบำบัดไซยาไนด์ได้อย่างรวดเร็วซึ่งความเข้มข้นของไซยาไนด์ลดลงเป็นสองเท่าในชั่วโมงที่ 6 ของการศึกษา พบไซยาไนด์เหลืออยู่ (Residual cyanide) เท่ากับ 0.31 มก./ล. จากความเข้มข้นเริ่มต้น 0.68 มก./ล. ประสิทธิภาพของระบบคิดเป็นร้อยละ 53.90 และไม่พบไซยาไนด์เหลืออยู่ในชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษา ประสิทธิภาพของระบบจึงมากกว่าร้อยละ 99.99 ขณะที่ระบบสามารถบำบัดโลหะหนักในรูปของสังกะสีและแคดเมียมได้ต่อเนื่องโดยพบว่าในชั่วโมงที่ 24 สังกะสีและแคดเมียมถูกกำจัดลดลงเหลือ 0.210 มก./ล. และ 0.038 มก./ล. จากความเข้มข้นเริ่มต้น 0.440 มก./ล. และ 0.044 มก./ล. ตามลำดับ คิดเป็นประสิทธิภาพการบำบัดร้อยละ 52.29 และ 14.26 ตามลำดับ โดยความเข้มข้นของสังกะสีที่เกิดขึ้นในการทดลองไม่ได้เกิดมาจากสังกะสีไซยาไนด์เพียงอย่างเดียว แต่ความเข้มข้นของสังกะสียังเกิดจากสังกะสีซัลเฟต ($Zinc\ sulphate: ZnSO_4$) ที่เป็นองค์ประกอบหนึ่งในสารละลายเกลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ Buffer medium และเมื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นเฉพาะสังกะสีซัลเฟตที่เป็นองค์ประกอบใน Buffer medium พบว่ามีสังกะสี

เท่ากับ 0.287 มก./ล. ดังนั้นสำหรับการศึกษานี้เมื่อกล่าวถึงสังกะสี จะเกิดจากสังกะสีไซยาไนด์และสังกะสีซัลเฟต อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มสามารถกำจัดโลหะหนักในรูปของสังกะสีได้ดีกว่าแคดเมียม

เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของระบบเป็น 30 มล./นาที่ พบว่าระบบสามารถบำบัดโลหะไซยาไนด์ได้อย่างต่อเนื่อง กล่าวคือไซยาไนด์ลดลงเกือบร้อยละ 50 ในช่วงเวลาที่ 6 ของการศึกษาเช่นเดียวกับที่อัตราการไหล 10 มล./นาที่ ซึ่งมีไซยาไนด์เหลืออยู่เท่ากับ 0.34 มก./ล. และไม่พบไซยาไนด์เหลืออยู่ที่ 24 ชั่วโมงของการศึกษา ประสิทธิภาพจึงเป็นร้อยละมากกว่า 99.99 สำหรับโลหะหนักที่เหลืออยู่ในรูปของสังกะสีและแคดเมียม สามารถถูกกำจัดตลอดช่วงระยะเวลาการทดลอง ซึ่งสังกะสีและแคดเมียม ถูกกำจัดลดลงเหลือ 0.283 มก./ล. และ 0.034 มก./ล. มีประสิทธิภาพในการบำบัดคิดเป็นร้อยละ 36.96 และ 29.75 ตามลำดับ โดยมีแนวโน้มการกำจัดสังกะสีได้ดีกว่าแคดเมียม เช่นเดียวกับการทดลองที่อัตราการไหล 10 มล./นาที่ ผลการวิเคราะห์โลหะไซยาไนด์เปรียบเทียบทั้งสองอัตราการไหล รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 การบำบัดโลหะไซยาไนด์ด้วยระบบฟอกซ์-ฟิล์มไบโอสคริบเบอร์ที่อัตราการไหล 10 มล./นาที่ และ 30 มล./นาที่

เก็บตัวอย่าง (ชั่วโมง)	Liquid flow rate (มล./นาที่)	ไซยาไนด์		สังกะสี		แคดเมียม	
		Residual CN ⁻ (มก./ล.)	ประสิทธิภาพ (ร้อยละ)	Zn ⁺ (มก./ล.)	ประสิทธิภาพ (ร้อยละ)	Cd (มก./ล.)	ประสิทธิภาพ (ร้อยละ)
0	10	0.68±0.03	0.00	0.440±0.01	0.00	0.044±0.000	0.00
6		0.31±0.01	53.90	0.338±0.00	23.15	0.032±0.001	27.45
12		N.D.	>99.99	0.300±0.01	31.85	0.035±0.000	19.94
24		N.D.	>99.99	0.210±0.01	52.29	0.038±0.000	14.26
0	30	0.67±0.00	0.00	0.450±0.01	0.00	0.049±0.002	0.00
6		0.34±0.01	49.29	0.309±0.00	31.25	0.039±0.000	18.72
12		0.17±0.01	74.98	0.278±0.00	38.15	0.033±0.001	31.15
24		N.D.	>99.99	0.283±0.01	36.96	0.034±0.001	29.75

หมายเหตุ: * ความเข้มข้นของสังกะสีเกิดจากสังกะสีไซยาไนด์ และสังกะสีซัลเฟต

N.D. หมายถึง Not Detected ตรวจไม่พบในการศึกษาครั้งนี้

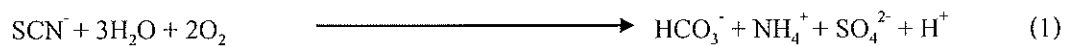
เมื่อพิจารณาในภาพรวมของการบำบัดโลหะไซยาไนด์เปรียบเทียบระหว่างสองอัตราการไหล พบว่าระบบสามารถบำบัดไซยาไนด์อย่างรวดเร็วโดยไม่พบไซยาไนด์เหลืออยู่นั้นคือใช้เวลาเพียง 12 ชั่วโมงสำหรับอัตราการไหลที่ 10 มล./นาที่ ขณะที่เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของระบบเป็น 30

มล./นาที่ การบำบัดไชยาไนต์จะเกิดขึ้นสมบูรณ์เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษา ซึ่งการย่อยสลายเกิดขึ้นได้ช้ากว่า อาจเนื่องมาจากที่อัตราการไหล 10 มล./นาที่ มีระยะเวลาที่เก็บที่นานกว่า ทำให้จุลินทรีย์รวมกลุ่มมีระยะเวลาที่มากพอในการสัมผัสกับสารมลพิษเพื่อการย่อยสลายไชยาไนต์ เช่นเดียวกับการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน สำหรับการกำจัดสังกะสีและแคดเมียม โดยระบบนั้นสามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วในช่วง 6 ชั่วโมงแรกของการศึกษาและหลังจากนั้นความสามารถในการกำจัดจะช้าลงสำหรับทั้งสองอัตราการไหล ซึ่งระบบฟิซฟิล์มไบโอสคริปเบอร์สามารถกำจัดโลหะหนักในรูปของสังกะสีได้ดีกว่าแคดเมียม อาจเนื่องมาจากโลหะบางชนิด เช่น สังกะสีเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นแต่ในปริมาณน้อยซึ่งใช้เป็นองค์ประกอบในการสร้างเอนไซม์ และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Nies, 1999) นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าความสามารถในการละลายของแคดเมียมซัลไฟด์ (Cadmium sulfide: CdS) คือ 1.4×10^{-29} แต่ในสังกะสีซัลไฟด์ (Zinc sulfide: ZnS) ความสามารถในการละลายคือ 2.91×10^{-25} (Weast, 1984) แคดเมียมจึงมีความเป็นพิษต่อเซลล์ของจุลินทรีย์มากกว่าสังกะสี (Regan and Mast, 1990) ดังนั้นจึงอาจเป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์รวมกลุ่มในระบบสามารถกำจัดสังกะสีได้ดีกว่าแคดเมียม ขณะที่จุลินทรีย์ยังสามารถนำสังกะสีไปใช้ประโยชน์สำหรับเซลล์ได้ แม้ว่าจะมีการศึกษาว่าแคดเมียมจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์แต่สำหรับจุลินทรีย์รวมกลุ่ม SUTS 1 และ SUTS 2 นั้นยังคงสามารถกำจัดแคดเมียมได้ อาจเกิดจากการทน (Resistance) ต่อแคดเมียมของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม และยังมีจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถทนต่อแคดเมียมได้ เช่น *Klebsiella aerogenes* เกิดการสะสมแคดเมียม ไอออนและสารประกอบซัลไฟด์อินทรีย์ภายในเซลล์ในสัดส่วนความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกัน ส่งผลให้เกิดการสร้างสารประกอบแคดเมียมซัลไฟด์ขึ้นภายในเซลล์ (Aiking et al., 1984) ซึ่งกลไกการลดพิษแบบนี้เป็นการตกตะกอนแคดเมียม โดยทำให้เป็นสารประกอบซัลไฟด์ที่ไม่ละลายน้ำและเกิดการตกตะกอนที่ผิวหน้าของจุลินทรีย์หรือเกิดการสะสมแคดเมียมภายในเซลล์ จุลินทรีย์ และการทนต่อแคดเมียมใน Cyanobacteria จะมี Metallothioneins (Olafson et al., 1979) ซึ่งการเพิ่ม Metallothioneins จะช่วยเพิ่มความสามารถในการทนต่อแคดเมียม (Gupta et al., 1992) สำหรับกลไกการทนต่อสังกะสีของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์จะสะสมสังกะสี โดยใช้กลไกการนำเข้าแบบเร็วและไม่เฉพาะเจาะจงคือการนำเข้าโลหะหนักผ่านทางเยื่อหุ้มเซลล์โดยไม่ต้องอาศัยพลังงานจาก ATP ในการศึกษาของ Ahuja และคณะ (2001) ได้ศึกษากลไกการทนต่อสังกะสีของ Cyanobacterium สายพันธุ์ *Oscillatoria angustissima* พบว่า กลไกการ Efflux ของสังกะสีเกิดขึ้นภายหลังจากการนำเข้าสังกะสีสูงสุด และการต้านทานพิษสังกะสีของจุลินทรีย์เกิดจากการลดการนำเข้าสังกะสีสู่เซลล์

ดังนั้นจากการศึกษานี้จึงพบว่าแนวโน้มที่อัตราการไหล 10 มล./นาที่ ระบบฟิซฟิล์มไบโอสคริปเบอร์มีประสิทธิภาพในการบำบัดโลหะไชยาไนต์ ได้ดีกว่าที่อัตราการไหล 30 มล./นาที่ ยกเว้นแคดเมียมที่อัตราการไหล 30 มล./นาที่ สามารถถูกกำจัดได้ดีกว่า

4.2.3 ผลิตภัณฑ์ (By-product) ที่เกิดขึ้นจากการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของไซโอไซยานตและโลหะไซยาไนด์

การศึกษาค้นคว้ายังพบอีกว่าสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของไซโอไซยานตและโลหะไซยาไนด์สามารถถูกเปลี่ยนรูปกลายเป็นสารที่มีความเป็นพิษลดลง (Less toxic) ปฏิบัติการย่อยสลายไซโอไซยานตทั้งในสถานะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนดังแสดงในสมการที่ 1-4 (Whitlock, 1990; Hung and Pavlostathis, 1997; Akcil, 2003)



หรือ



หรือ



ขณะที่ปฏิบัติการกำจัดโลหะไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์จะเปลี่ยนเป็นสารที่มีความเป็นพิษน้อยลง ดังแสดงในสมการที่ 5-7 (Whitlock, 1990; Akcil, 2003)



ซึ่งในการศึกษานี้ดำเนินการวิเคราะห์สารผลิตภัณฑ์ที่อาจเกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์รวมกลุ่มในรูปของ ซัลเฟต (Sulfate: SO_4^{2-}) ไบคาร์บอเนต (Bicarbonate: HCO_3^-) แอมโมเนีย (Ammonia: NH_3) และไนเตรท (Nitrate: NO_3^-) จากการศึกษาพบว่าที่อัตราการไหล 10 มล./นาที มีค่าความเข้มข้นเริ่มต้นของซัลเฟตและไนเตรท เท่ากับ 58.87 มก./ล. และ 0.05 มก./ล. ตามลำดับ ส่วนไบคาร์บอเนตและแอมโมเนียไม่พบในช่วงเวลาที่ 0 อนุภาคใดก็ตามสำหรับค่าซัลเฟตและไนเตรทที่พบนั้นเกิดมาจาก Buffer medium ที่เป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการศึกษาเมื่อเริ่มมีการบำบัดไซโอไซยานตและโลหะไซยาไนด์ตั้งแต่ 6 ชั่วโมงแรก พบว่ามีสารผลิตภัณฑ์เริ่มเกิดขึ้นในช่วงที่ 6 ของการศึกษาเช่นกัน ซึ่งตลอดช่วงระยะเวลา 24 ชั่วโมงของการศึกษาพบว่าซัลเฟตและไนเตรทมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยมีค่าสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 มีค่าเท่ากับ 60.60 มก./ล. และ 0.06 มก./ล. ตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของสารผลิตภัณฑ์จะแปรผกผันกับปริมาณของ

ไรโอโซยานต์และโลหะไซยาไนด์ที่บำบัดได้ ขณะที่ไบคาร์บอเนตมีค่าเพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 6 เท่ากับ 75.00 มก./ล.หินปูน และหลังจากนั้นจะมีแวนไน้มลดลงเท่ากับ 5.00 มก./ล.หินปูน ในชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษา ขณะที่ตลอดช่วงระยะเวลาการทดลองไม่พบว่ามีแอมโมเนียเกิดขึ้น เมื่อเพิ่มอัตราการไหลเป็น 30 มล./นาที่ ผลการศึกษาพบว่าซัลเฟตและไนเตรทมีแวนไน้มเพิ่มขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษาเท่ากับ 69.44 มก./ล. และ 0.11 มก./ล. ตามลำดับ เช่นเดียวกับการทดลองของอัตราการไหลที่ 10 มล./นาที่ ขณะที่ไบคาร์บอเนตและแอมโมเนียไม่พบตลอดช่วงระยะเวลาของการศึกษา รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 4.8

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาสำหรับทั้งสองอัตราการไหลไม่พบแอมโมเนียเกิดขึ้นในระบบ อาจเนื่องมาจากระบบมีปริมาณออกซิเจนที่เพียงพอสำหรับการเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วในการเปลี่ยนรูปของแอมโมเนียไปเป็นไนเตรท (Chapatwala et al., 1998; Sirianuntapiboon and Chuamkaew, 2007) หรือแอมโมเนียถูกนำไปใช้อย่างรวดเร็วเพื่อเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งไนโตรเจน โดยจุลินทรีย์ (Hung and Pavlostathis, 1999; Sorokin et al., 2001) ซึ่ง *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 สามารถย่อยสลายไซยาไนด์และผลิตภัณฑ์สุดท้ายทำให้เกิดแอมโมเนียและไนเตรท โดยความเข้มข้นไนเตรทจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียลดลงหรือไม่พบแอมโมเนีย (Potivichayanon and Kitleartpompairoat, 2010) สำหรับสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในรูปของไบคาร์บอเนตที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายไรโอโซยานต์และโลหะไซยาไนด์ โดยไบคาร์บอเนตจะเกิดขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 6 ของการศึกษาสำหรับการทดลองที่อัตราการไหล 10 มล./นาที่ และหลังจากนั้นจะมีแวนไน้มลดลงจนถึงชั่วโมงที่ 24 ของการศึกษา ส่วนการทดลองที่อัตราการไหล 30 มล./นาที่ ไม่พบว่ามีไบคาร์บอเนตเกิดขึ้น การลดลงของไบคาร์บอเนตในระบบอาจเนื่องมาจากไบคาร์บอเนตถูกเปลี่ยนรูปให้กลายเป็นรูปอื่น เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) หรือ แอมโมเนีย (NH₃) หรือ ก๊าซไนโตรเจน (N₂) ดังแสดงในสมการที่ 3 และ 4 (Whitlock, 1990; Hung and Pavlostathis, 1997; Akcil, 2003) จึงทำให้ไบคาร์บอเนตลดลงหรือทำให้ไม่พบไบคาร์บอเนตในระบบ

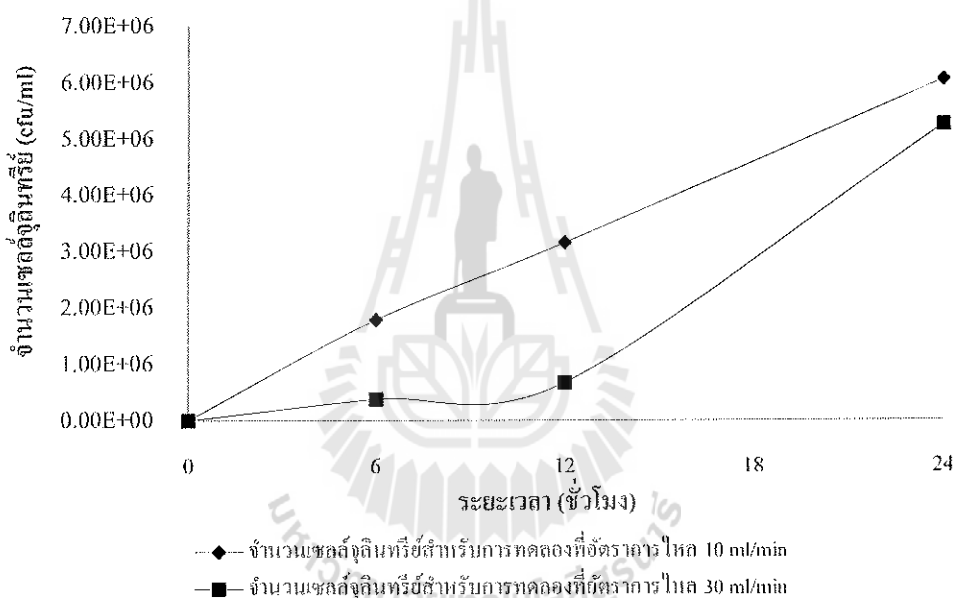
ตารางที่ 4.8 ผลิตภัณฑ์ (By-product) ที่เกิดจากการย่อยสลายไรโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์รวมกลุ่ม

เก็บตัวอย่าง (ชั่วโมง)	Liquid flow rate (มล./นาที)	ผลิตภัณฑ์ (By-product)			
		SO ₄ ²⁻ (มก./ล.)	HCO ₃ ⁻ (มก./ล. หินปูน)	NH ₃ (มก./ล.)	NO ₃ ⁻ (มก./ล.)
0	10	58.87±0.16	N.D.	N.D.	0.05±0.003
6		56.00±0.07	75.00	N.D.	0.06±0.003
12		59.49±0.07	30.00	N.D.	0.06±0.001
24		60.60±0.07	5.00	N.D.	0.06±0.006
0	30	58.53±0.46	N.D.	N.D.	0.09±0.012
6		59.18±0.18	N.D.	N.D.	0.10±0.005
12		59.61±0.18	N.D.	N.D.	0.10±0.002
24		69.44±0.14	N.D.	N.D.	0.11±0.001

หมายเหตุ: N.D. หมายถึง Not Detected ตรวจไม่พบในการศึกษาครั้งนี้

ระบบฟิสิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ เป็นระบบที่จุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) ถูกตรึงเซลล์ (Immobilization) อยู่กับตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring และแขวนลอยอิสระ (Suspended cell) อยู่ในน้ำ (Aqueous phase) จึงทำให้จุลินทรีย์รวมกลุ่มสามารถย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของไรโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งการเวียนน้ำกลับ (Recirculation) ยังช่วยให้สารประกอบไซยาไนด์สามารถถูกนำมาบำบัดซ้ำ และช่วยป้องกันการแห้งของเซลล์จุลินทรีย์ในตัวกลางพลาสติก ซึ่งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของระบบฟิสิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์อีกด้วย Chapatwala และคณะ (1998) รายงานว่า *Pseudomonas putida* ที่ถูกตรึงเซลล์ (Immobilized cell) สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ได้สูงกว่า *Pseudomonas putida* ที่แขวนลอยอิสระ (Non-immobilized cell) สอดคล้องกับ Babu และคณะ (1992) รายงานว่าที่ความเข้มข้นสูงของไซยาไนด์ (มากกว่า 120 mM) *Pseudomonas putida* ที่ถูกตรึงเซลล์ (Immobilized cell) สามารถย่อยสลายได้ดีกว่า *Pseudomonas putida* ที่แขวนลอยอิสระ (Non-immobilized cell) ที่สามารถย่อยสลายได้ไม่เกิน 4 mM เช่นเดียวกับการย่อยสลายไรโอไซยานเนตด้วย Biofilm reactor ทำให้อัตราการย่อยสลาย (Degradation rate) เกิดขึ้นสูงกว่า Suspended reactor และ Rotating biological contactor (RBC) reactor (Jeong and Chung, 2006) ตามลำดับ ซึ่งในการศึกษานี้ความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์เกิดขึ้นจากทั้งจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะอยู่บนตัวกลางพลาสติกและจุลินทรีย์ที่แขวนลอยอิสระซึ่งเกิดจากการหลุดออกของเซลล์จุลินทรีย์ โดยตลอดช่วงระยะเวลา 24 ชั่วโมงของ

การศึกษาค่าดำเนินการตรวจสอบเซลล์จุลินทรีย์ที่หลุดออกจากระบบ โดยเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทุก 6 ชั่วโมง จากการทำ Spreading plate technique เปรียบเทียบระหว่างสองอัตราการไหลพบว่าตลอดช่วงระยะเวลาของการศึกษามีการหลุดออกของเซลล์จุลินทรีย์ออกจากระบบ ซึ่งพบว่ามีจุลินทรีย์รวมกลุ่มแขวนลอยอิสระอยู่ในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 6.05×10^6 cfu/ml. และ 5.25×10^6 cfu/ml. สำหรับที่อัตราการไหล 10 มล./นาที และ 30 มล./นาที ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7) จุลินทรีย์ที่หลุดออกสำหรับทั้งสองอัตราการไหลมีจำนวนเซลล์ใกล้เคียงกัน ดังนั้นในการศึกษานี้ความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์เกิดขึ้นจากการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มทั้งจากเซลล์ที่ยึดเกาะกับตัวกลางพลาสติกและที่แขวนลอยอิสระในระบบ ซึ่งจะช่วยส่งเสริมให้ความสามารถในการย่อยสลายสูงขึ้นตามหลักการการทำงานของระบบฟิซซ์-ฟิล์ม ไบโอสคริปเบอร์ (Potivichayanon et al., 2006)



ภาพที่ 4.7 จำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่แขวนลอยอิสระในระบบ

นอกจากนั้นยังมีการศึกษาต่อหลังจากสิ้นสุดการเดินระบบในชั่วโมงที่ 24 โดยทำการตรวจสอบจำนวนเซลล์จุลินทรีย์รวมกลุ่มที่ยึดเกาะที่ตัวกลาง ด้วย Spreading plate technique หลังจากการ Sonicate เพื่อเขย่าเชื้อจุลินทรีย์ให้หลุดออกจากตัวกลางพลาสติก โดยสุ่มตัวอย่างของตัวกลางที่อยู่ตำแหน่งบนสุดของคอลัมน์ ตำแหน่งตัวกลางพลาสติกตรงกลางคอลัมน์ และตำแหน่งตัวกลางพลาสติกตรงล่างสุดของคอลัมน์ ภายหลังจากการเดินระบบพบว่าจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่ยึดเกาะอยู่บนตัวกลางเท่ากับ 4.95×10^5 cfu/ml., 2.16×10^6 cfu/ml. และ 1.37×10^6 cfu/ml. ตามลำดับ ซึ่งพบว่าตัวกลางพลาสติกที่อยู่บนสุดของคอลัมน์มีการหลุดของเซลล์จุลินทรีย์มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่ยึดเกาะอยู่บนตัวกลางที่ตำแหน่งอื่น อาจเนื่องมาจากด้านบนตัวกลางพลาสติก

มีโอกาสสัมผัสกับสารมลพิษโดยตรงมากกว่าตำแหน่งอื่นทำให้เกิดการชะของเซลล์จุลินทรีย์หลุดออกไปได้ รวมทั้งจากการสู่มตัวกลางในคอลัมน์โดยการชั่งน้ำหนักแห้งของตัวกลางภายหลังจากการเดินระบบ เพื่อดูแนวโน้มการมีอยู่ของเซลล์จุลินทรีย์พบว่าหลังจากการเดินระบบยังคงมีจุลินทรีย์ยืคเกาะอยู่บนตัวกลาง (ตารางที่ 4.9) การคงอยู่ของเซลล์จุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มทั้งที่ยึดเกาะอยู่บนตัวกลางและแขวนลอยอิสระในระบบนั้นแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์รวมกลุ่ม SUTS 1 และ SUTS 2 สามารถเจริญเติบโตและใช้สารประกอบไซยาไนด์เป็นแหล่งสารอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 4.9 น้ำหนักของตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring ที่เพิ่มขึ้นภายหลังจากการเดินระบบระยะแรก

ตัวกลางพลาสติก	น้ำหนักตัวกลาง PP ring ก่อนเริ่มเดินระบบ* (กรัม)	น้ำหนักตัวกลาง PP ring หลังเดินระบบ* (กรัม)	น้ำหนักตัวกลาง PP ring ที่เพิ่มขึ้น* (กรัม)
1	2.0681±0.0000	2.0716±0.0001	0.0035±0.0000
3	2.0291±0.0000	2.0298±0.0000	0.0007±0.0000
4	2.0430±0.0001	2.0468±0.0001	0.0037±0.0001
5	2.0388±0.0000	2.0423±0.0000	0.0035±0.0000
7	2.0504±0.0000	2.0559±0.0001	0.0055±0.0000
8	2.0419±0.0001	2.0447±0.0001	0.0028±0.0001

หมายเหตุ: * หมายถึง Mean±SD

4.3 ผลการศึกษาระยะยาว (Long term period) ของการพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber)

จากผลการศึกษาระยะแรก คือการหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราการไหล (Liquid flow rate) เพื่อนำไปใช้กับการศึกษาระยะยาวสำหรับการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber) พบว่าอัตราการไหลที่ 10 มล./นาที่ ที่ระยะเวลาพักเก็บ 21 นาที ทำให้ระบบมีประสิทธิภาพในการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ได้ดีกว่าที่อัตราการไหล 30 มล./นาที่ ที่ระยะเวลาพักเก็บ 7 นาที ดังนั้นในการศึกษาระยะยาว (Long term period) จึงนำสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคืออัตราการไหลที่ 10 มล./นาที่ โดยมีระยะเวลาพักเก็บ 21 นาที อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยส่วนใหญ่จะแยกทำการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์แต่ละชนิด เช่น การย่อยสลายไซยาไนด์ การย่อยสลายโรโอไซยาเนต การย่อยสลายโลหะไซยาไนด์ (Silva-avalos et al., 1990; Hung and Pavlostathis, 1997; Barclay et al., 1998; Patil and Paknikar, 2000; Jcong and Chung, 2006; Dash et al., 2009; Gurbuz et al., 2009; Potivichayanon and Kitleartpornpaioat, 2010) ซึ่งจากการทดสอบเบื้องต้น

จะเห็นว่าจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) คือ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 สามารถบำบัดสารประกอบไฮยาไนด์ในรูปของไซโอไฮยาเนตร่วมกับโลหะไฮยาไนด์ได้ดี ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้ออกแบบทำการพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารประกอบไฮยาไนด์มากกว่าหนึ่งชนิดด้วยระบบฟิสิกส์ฟิล์มไบโอสครับเบอร์เพื่อให้สามารถประยุกต์ใช้จริงในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมซึ่งมีการปนเปื้อนสารประกอบไฮยาไนด์มากกว่าหนึ่งชนิด การทดลองนี้อาจเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการนำจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มไปปรับใช้สำหรับการบำบัดสารประกอบไฮยาไนด์หลายชนิดต่อไป

ขั้นนี้ก่อนเริ่มเดินระบบฟิสิกส์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์สำหรับการบำบัดสารประกอบไฮยาไนด์ในรูปของไซโอไฮยาเนตและโลหะไฮยาไนด์ ดำเนินการตรึงเซลล์ (Immobilized cell) จุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มกับตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring ก่อน เช่นเดียวกับการศึกษาระยะแรก (Short term period) เพื่อให้จุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มยึดเกาะอยู่กับตัวกลางพลาสติก ดำเนินการตรึงเซลล์เป็นระยะเวลา 30 วัน หลังจากนั้นทำการสุ่ม (Random) ชั่งน้ำหนักตัวกลางพลาสติกในวันที่ 30 ก่อนเริ่มเดินระบบ เพื่อดูน้ำหนักของตัวกลางที่เพิ่มขึ้น ซึ่งหมายถึงการมีอยู่ของจุลินทรีย์ที่ยึดเกาะอยู่บนตัวกลางจากการชั่งน้ำหนักพบว่ามีจุลินทรีย์จับที่ตัวกลาง โดยน้ำหนักของตัวกลางเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย 0.0035 กรัม (ตารางที่ 4.10) จากนั้นจึงทำการ Pack column โดยการนำตัวกลางที่มีจุลินทรีย์ยึดเกาะอยู่เข้าในระบบทำการเดินระบบต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 30 วันผลการศึกษาและประสิทธิภาพของระบบแสดงในตารางที่ 4.11 และ 4.12 และ ภาพที่ 4.8

ตารางที่ 4.10 การสุ่ม (Random) ชั่งน้ำหนักตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring หลังจากการตรึงเซลล์ (Cell immobilization) ในวันที่ 30

ลำดับที่	น้ำหนักตัวกลาง PP ring ที่เพิ่มขึ้น* (กรัม)
1	0.0035±0.0001
2	0.0036±0.0001
เฉลี่ย (Average)	0.0035±0.0001

หมายเหตุ: * หมายถึง Mean±SD

ตารางที่ 4.11 ผลการศึกษาการบำบัดโลหะโซเดียมไนต์และโซเดียมไซยาเนตด้วยระบบฟอกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ ตลอดช่วง 30 วันของการศึกษา

ระยะเวลา (วัน)	โซเดียมไซยาเนต* (มก./ล.)	โซเดียมไนต์* (มก./ล.)	สังกะสี* (มก./ล.)	แคดเมียม* (มก./ล.)
0	72.04±0.055	0.76±0.017	0.561±0.002	0.105±0.004
1	62.08±2.052	0.64±0.000	0.209±0.002	0.077±0.0005
2	64.31±0.000	0.16±0.003	0.266±0.001	0.076±0.001
3	62.71±0.277	0.38±0.033	0.236±0.006	0.088±0.011
4	60.94±0.111	0.39±0.018	0.209±0.001	0.097±0.0001
5	63.92±0.333	0.17±0.004	0.218±0.0005	0.082±0.002
6	62.63±3.716	0.17±0.011	0.417±0.002	0.090±0.001
7	41.92±0.499	0.17±0.003	0.587±0.021	0.088±0.001
8	40.24±0.555	0.36±0.038	0.526±0.0005	0.089±0.002
9	44.55±0.333	0.19±0.008	0.390±0.006	0.091±0.002
10	52.69±0.194	0.16±0.012	0.312±0.006	0.097±0.001
11	52.02±0.139	0.17±0.003	0.447±0.002	0.092±0.002
12	54.69±0.250	0.16±0.015	0.233±0.029	0.092±0.002
13	42.73±1.359	0.17±0.004	0.297±0.004	0.094±0.002
14	46.53±0.083	0.17±0.004	0.234±0.004	0.095±0.001
15	42.78±0.222	0.15±0.006	0.286±0.003	0.094±0.003
16	44.75±0.236	0.18±0.007	0.201±0.001	0.093±0.002
17	42.52±0.125	0.15±0.003	0.200±0.001	0.095±0.002
18	43.93±0.208	0.18±0.004	0.273±0.002	0.096±0.001
19	42.43±0.499	0.17±0.003	0.240±0.000	0.097±0.001
20	42.66±0.319	0.16±0.012	0.226±0.002	0.101±0.001
21	43.53±0.388	0.16±0.012	0.240±0.018	0.098±0.0004
22	44.41±0.360	0.17±0.011	0.191±0.0004	0.100±0.002
23	44.16±0.055	0.18±0.007	0.197±0.001	0.098±0.001
24	49.86±0.305	0.17±0.000	0.196±0.003	0.100±0.001
25	37.53±0.111	0.16±0.003	0.176±0.002	0.097±0.002
26	34.04±0.166	0.17±0.004	0.187±0.003	0.097±0.002

ตารางที่ 4.11 ผลการศึกษาการบำบัดโลหะโซลาร์โซลาร์และโซลาร์โซลาร์ด้วยระบบฟลักซ์-ฟิล์มไบโอสกรีนเบอร์ ตลอดช่วง 30 วันของการศึกษา (ต่อ)

ระยะเวลา (วัน)	โซลาร์โซลาร์*	โซลาร์โซลาร์*	สังกะสี*	แคดเมียม*
	(มก./ล.)	(มก./ล.)	(มก./ล.)	(มก./ล.)
27	33.66±0.125	0.18±0.007	0.176±0.002	0.094±0.002
28	31.04±0.028	0.17±0.007	0.187±0.000	0.090±0.001
29	30.31±0.000	0.18±0.007	0.192±0.0003	0.086±0.001
30	29.96±0.111	0.16±0.003	0.204±0.001	0.085±0.002

หมายเหตุ: * หมายถึง Mean±SD

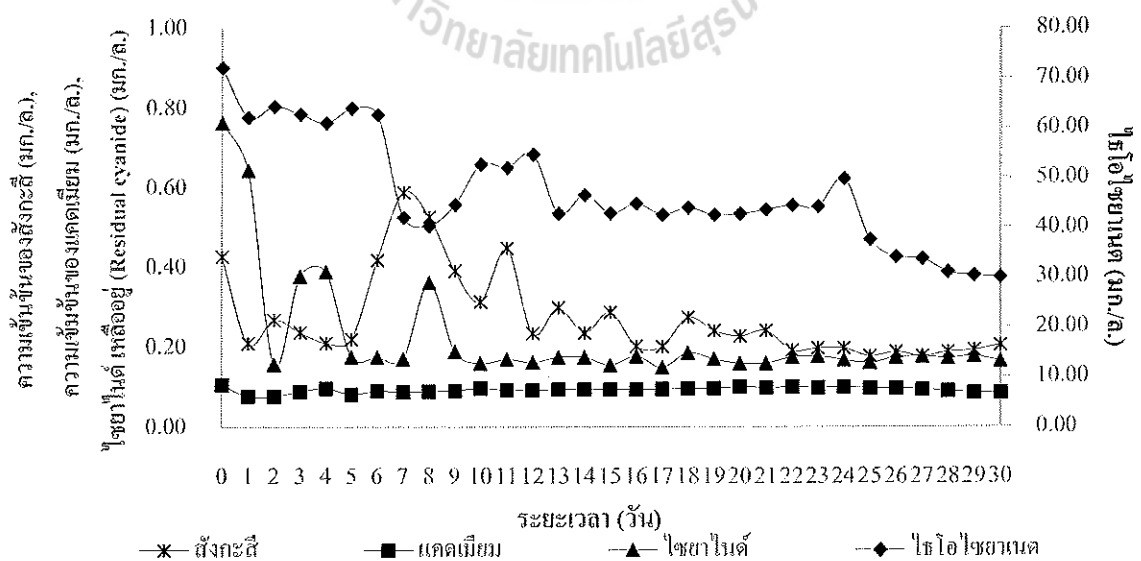
ตารางที่ 4.12 ประสิทธิภาพการบำบัดโลหะโซลาร์โซลาร์และโซลาร์โซลาร์ด้วยระบบฟลักซ์-ฟิล์มไบโอสกรีนเบอร์

ระยะเวลา (วัน)	โซลาร์โซลาร์	โซลาร์โซลาร์	สังกะสี	แคดเมียม
	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)	(ร้อยละ)
0	0.00	0.00	0.00	0.00
1	13.83	15.65	62.80	26.51
2	10.72	79.55	52.54	27.17
3	12.96	50.60	57.99	15.87
4	15.41	49.15	62.68	7.70
5	11.27	77.17	61.07	22.01
6	13.06	77.14	25.68	13.97
7	41.81	77.82	N.E.	16.39
8	44.15	52.73	6.27	15.02
9	38.16	75.37	30.47	13.58
10	26.86	79.22	44.35	7.51
11	27.79	77.82	20.34	12.27
12	24.09	78.91	58.40	12.21
13	40.69	77.17	46.99	10.44
14	35.41	77.17	58.26	9.99
15	40.61	79.80	49.02	10.44
16	37.87	76.82	64.11	11.03

ตารางที่ 4.12 ประสิทธิภาพการบำบัดโลหะไซยาไนด์และไซโอไซยานเนตด้วยระบบฟอกซ์-ฟิล์มไบโอสคริมเบอร์ (ต่อ)

ระยะเวลา (วัน)	ไซโอไซยานเนต (ร้อยละ)	ไซยาไนด์ (ร้อยละ)	สังกะสี (ร้อยละ)	แคดเมียม (ร้อยละ)
17	40.98	80.56	64.37	9.79
18	39.02	75.77	51.40	8.62
19	41.10	77.82	57.23	8.09
20	40.79	79.22	59.68	4.24
21	39.58	79.22	57.17	6.46
22	38.35	77.14	65.90	4.96
23	38.70	76.82	64.97	6.53
24	30.78	78.13	65.02	4.96
25	47.90	79.00	68.55	7.57
26	52.75	77.17	66.62	7.57
27	53.28	76.82	68.60	10.64
28	56.91	77.49	66.60	14.36
29	57.92	76.82	65.79	17.89
30	58.41	78.43	63.63	18.61

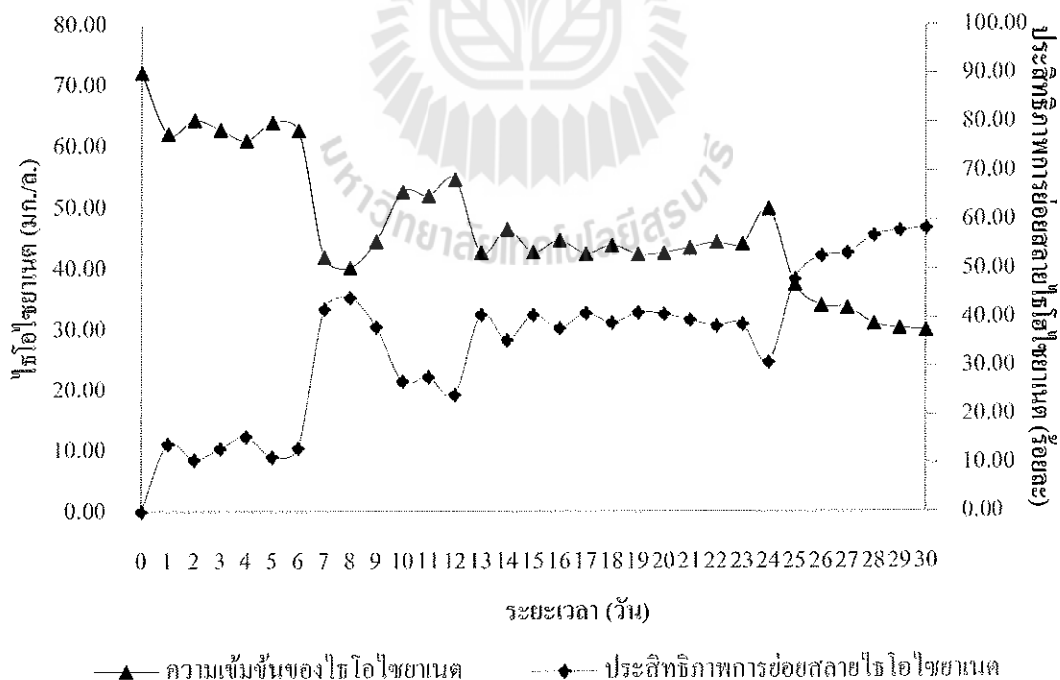
หมายเหตุ: N.E. หมายถึง Not Efficiency



ภาพที่ 4.8 เปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์แต่ละประเภท

4.3.1 การบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของไทโอไซยาเนต (Thiocyanate: SCN⁻)

ผลการศึกษาการบำบัดสารไทโอไซยาเนตด้วยระบบฟิสิกส์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ตลอดช่วงระยะเวลา 30 วัน พบว่าไทโอไซยาเนตสามารถถูกย่อยสลายได้ตั้งแต่ 24 ชั่วโมงแรกของการศึกษา ซึ่งในช่วงวันแรกจนถึงวันที่ 6 ของการเดินระบบ ไทโอไซยาเนตมีความเข้มข้นลดลงเหลือโดยเฉลี่ยเท่ากับ 62.08 มก./ล. และมีประสิทธิภาพการย่อยสลายคิดเป็นร้อยละเฉลี่ยเท่ากับ 13.83 หลังจากนั้นความสามารถในการย่อยสลายไทโอไซยาเนตมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น พบว่าความเข้มข้นของไทโอไซยาเนตลดลงเหลือ 41.92 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 41.81 ในวันที่ 7 ของการเดินระบบ และการย่อยสลายไทโอไซยาเนตจะเกิดขึ้นค่อนข้างสม่ำเสมอในช่วงวันที่ 13 ถึงวันที่ 24 ของการเดินระบบ โดยประสิทธิภาพในการย่อยสลายในช่วงนี้คิดเป็นร้อยละ 38.66 มีความเข้มข้นของไทโอไซยาเนตลดลงเหลือโดยเฉลี่ยเท่ากับ 44.19 มก./ล. และความสามารถในการย่อยสลายไทโอไซยาเนตในมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในช่วงวันที่ 25 ถึงวันที่ 30 ของการเดินระบบ ไทโอไซยาเนตลดลงเหลือโดยเฉลี่ย 32.76 มก./ล. ประสิทธิภาพโดยเฉลี่ยคิดเป็นร้อยละ 54.53 ซึ่งการย่อยสลายไทโอไซยาเนตจะเพิ่มสูงขึ้นสูงสุดในวันที่ 30 ของการเดินระบบ โดยมีไทโอไซยาเนตเหลืออยู่เท่ากับ 29.96 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 58.41 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการเดินระบบฟิสิกส์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์จุลินทรีย์รวมกลุ่มสามารถบำบัดไทโอไซยาเนตได้อย่างต่อเนื่อง เห็นได้จากความเข้มข้นไทโอไซยาเนตที่ลดลง (ภาพที่ 4.9)

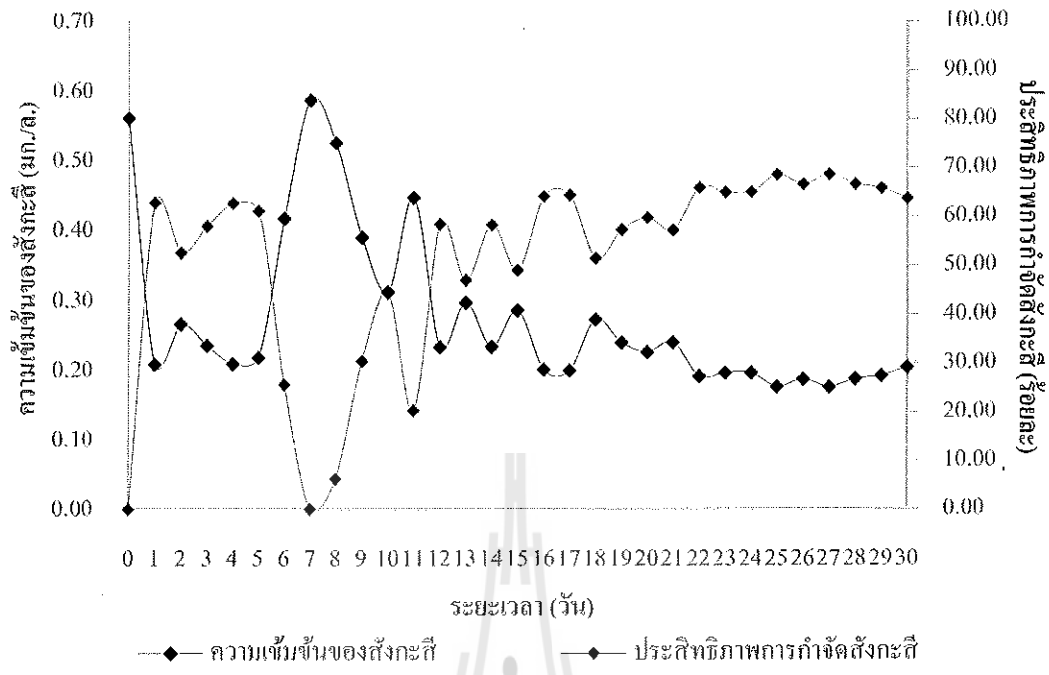


ภาพที่ 4.9 ประสิทธิภาพการบำบัดไทโอไซยาเนตด้วยระบบฟิสิกส์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์

แนวโน้มนักกล่าวบ่งบอกได้ว่าจุลินทรีย์มีการปรับสภาพให้สามารถอยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของไซโอไซยานเนตสูงได้ตลอดระยะเวลาการศึกษา Elaine และคณะ (2004) รายงานว่าการย่อยสลายไซโอไซยานเนตจะเกิดขึ้นได้ดีในช่วงที่จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตสูงสุดคืออยู่ในช่วง Exponential phase สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Betts และคณะ (1979) ที่การย่อยสลายไซโอไซยานเนตโดย *Arthrobacter* sp. เกิดขึ้นได้ดีในช่วง Exponential phase เช่นกัน โดยใช้ไซโอไซยานเนตเป็นแหล่งของพลังงาน ซัลเฟอร์ และ/หรือ ไนโตรเจน เพื่อการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ใหม่ (Sorokin et al., 2001; Chapatwala et al., 1998) ทำให้ไซโอไซยานเนตลดลง โดยที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ของจุลินทรีย์ สำหรับในการศึกษานี้จุลินทรีย์รวมกลุ่มสามารถเจริญเติบโตได้ดีในระบบโดยพิจารณาจากข้อมูลการทำเทคนิค Spreading plate และการชั่งน้ำหนักแห้งของตัวกลางพลาสติกหลังการทดลองซึ่งมีจุลินทรีย์ยึดเกาะอยู่ น้ำหนักแห้งที่เพิ่มขึ้นของตัวกลางสามารถบ่งบอกได้ว่าจุลินทรีย์สามารถทนต่อความเป็นพิษและย่อยสลายไซโอไซยานเนตได้ อย่างไรก็ตาม Wood และคณะ (1998) รายงานว่าไซโอไซยานเนตมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นอยู่ในช่วง 58-116 มก./ล. ขณะที่ Neufeld และคณะ (1981) รายงานว่าการย่อยสลายไซโอไซยานเนตโดยจุลินทรีย์ (Mixed bacteria culture) ในระบบจะถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.5 ก./ล. ถึงแม้ว่าไซโอไซยานเนตจะไม่มีมาตรฐานกำหนดสำหรับโรงงานอุตสาหกรรมในการกำจัดก่อนปล่อยทิ้งออกสู่สิ่งแวดล้อม แต่ไซโอไซยานเนตสามารถก่อให้เกิดพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสามารถถูกสะสมได้ในสิ่งแวดล้อมทั้งในน้ำ และดิน นอกจากนี้ ไซโอไซยานเนตยังสามารถทำปฏิกิริยากับโลหะต่างๆ เช่น เงิน พรอท ตะกั่ว ทองแดง และสังกะสี เกิดเป็นเกลือที่ไม่ละลายน้ำซึ่งทำให้มีความเป็นพิษสูงขึ้น ดังนั้นไซโอไซยานเนตจึงถือว่าเป็นสารที่ควรจะต้องได้รับการบำบัดก่อนปล่อยทิ้งลงสู่สิ่งแวดล้อม เช่นเดียวกับไซยาไนด์และโลหะหนัก

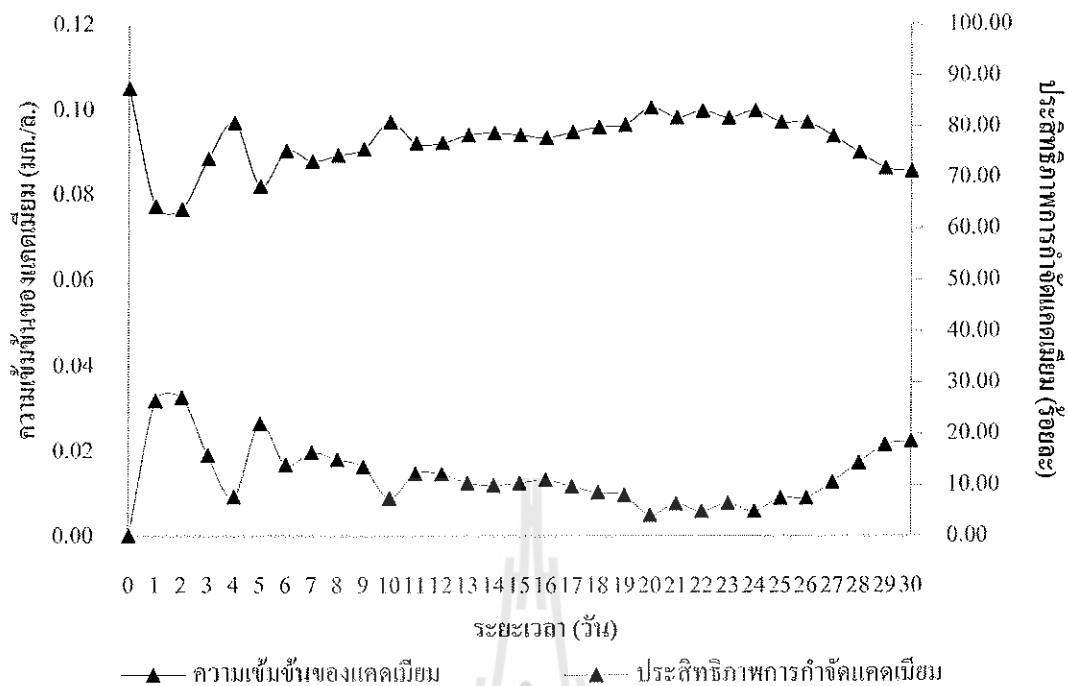
4.3.2 การบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของโลหะไซยาไนด์ (Metal cyanide)

ผลการศึกษากำจัดสังกะสี ด้วยระบบฟลักซ์-ฟิล์มไบโอสคริปเบอรัลตลอดช่วงระยะเวลา 30 วัน จากความเข้มข้นเริ่มต้นของสังกะสีเท่ากับ 0.561 มก./ล. พบว่าระบบสามารถกำจัดสังกะสีได้อย่างรวดเร็วตั้งแต่ 24 ชั่วโมงแรกหลังจากเริ่มเดินระบบ โดยความเข้มข้นของสังกะสี ลดลงเหลือเพียง 0.209 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 62.80 อย่างไรก็ตามความสามารถของระบบในการกำจัดสังกะสีจะเริ่มคงที่ในช่วงวันที่ 12 ถึงวันที่ 30 ของการศึกษา โดยสามารถกำจัดสังกะสีลดลงเหลือโดยเฉลี่ยเท่ากับ 0.218 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 61.17 ซึ่งการกำจัดสังกะสีสามารถเกิดขึ้นได้สูงสุดในวันที่ 27 ของการศึกษา โดยมีความเข้มข้นลดลงเหลือเพียง 0.176 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 68.60 ความสามารถในการกำจัดสังกะสีด้วยระบบฟลักซ์-ฟิล์มไบโอสคริปเบอรัลดังแสดงในภาพที่ 4.10



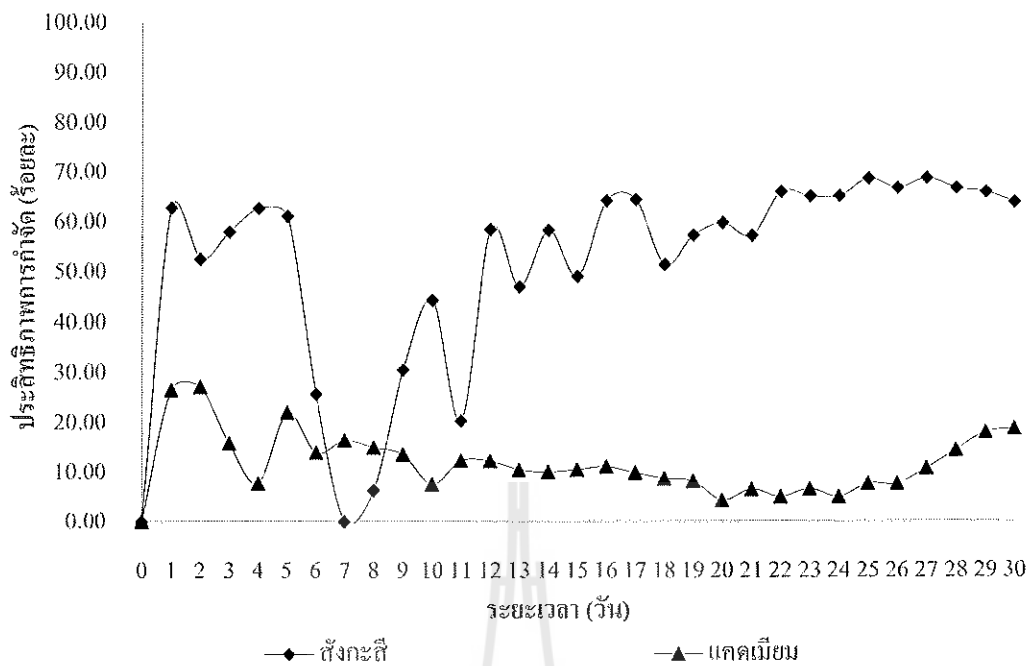
ภาพที่ 4.10 แนวโน้มการกำจัดสังกะสี ด้วยระบบฟิซซ์-ฟิล์มไบโอโอสคริปเบอร์ ตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการศึกษา

สำหรับผลการศึกษากำจัดแคดเมียมในรูปแบบของแคดเมียมไซยาไนด์ ความเข้มข้นของแคดเมียมเริ่มต้นเท่ากับ 0.105 มก./ล. ซึ่งแคดเมียมสามารถถูกกำจัดได้โดยจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มตั้งแต่ 24 ชั่วโมงแรกของการเดินระบบ โดยมีความเข้มข้นของแคดเมียมลดลงเท่ากับ 0.077 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 26.51 และสามารถกำจัดโลหะหนักในรูปแบบของแคดเมียม ได้สูงสุดในวันที่ 2 ของการเดินระบบ ความเข้มข้นลดลงเหลือ 0.076 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 27.17 และภายหลังจากวันที่ 2 ของการเดินระบบความสามารถในการกำจัดแคดเมียม เริ่มมีแนวโน้มลดลง ซึ่งจะมีความเข้มข้นของแคดเมียมโดยเฉลี่ยในระบบอยู่ที่ 0.0934 มก./ล. ตั้งแต่วันที่ 3 จนถึงวันที่ 30 ของการศึกษา ถึงแม้จะมีการสะสมของแคดเมียมในระบบ แต่พบว่าแคดเมียม มีแนวโน้มลดลงในวันที่ 29 และ 30 ของการเดินระบบ ซึ่งในวันที่ 30 ของการเดินระบบพบว่าแคดเมียมลดลงเหลืออยู่เท่ากับ 0.085 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 18.61 (ภาพที่ 4.11) จะเห็นได้ว่าระบบสามารถบำบัดแคดเมียม ได้เล็กน้อยเมื่อเทียบกับสังกะสี



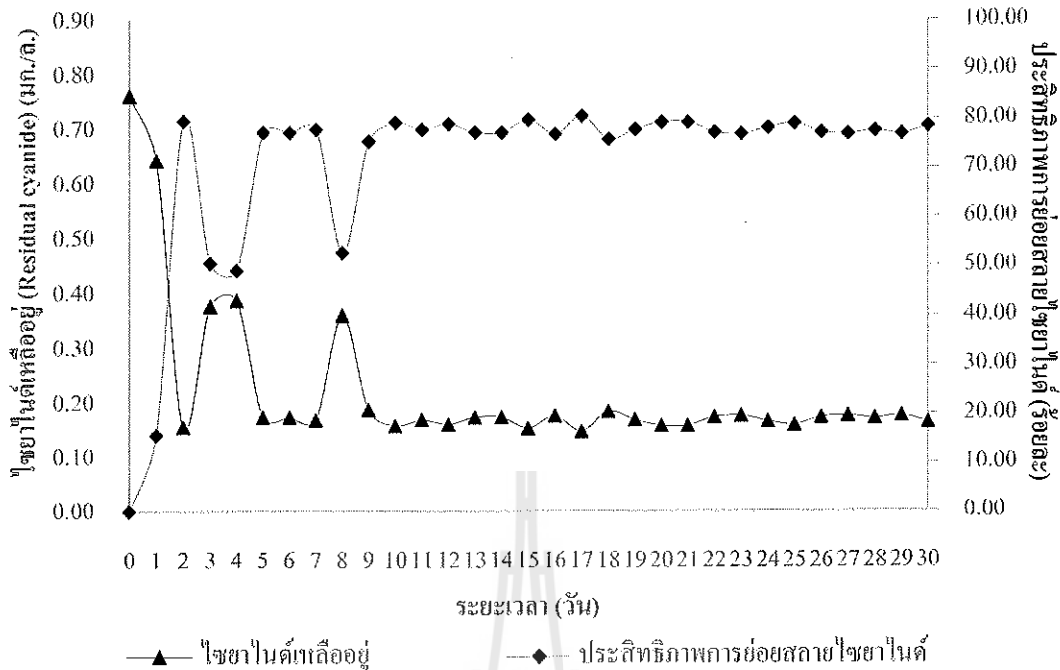
ภาพที่ 4.11 แนวโน้มการกำจัดแคดเมียม โดยจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่ม (Mixed culture) ตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการศึกษา

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัด โลหะหนักในรูปของสังกะสีและแคดเมียม ด้วยระบบฟิซ-ฟิล์มไบโอโอสคริปเบอร์ดังแสดงในภาพที่ 4.12 พบว่าระบบสามารถกำจัดสังกะสีได้ดีกว่าแคดเมียมตลอดทั้งช่วงระยะเวลา 30 วันของการเดินระบบสอดคล้องกับการศึกษาในระยะแรกที่จุลินทรีย์สามารถกำจัดสังกะสีได้ดีกว่าเช่นกัน เมื่อพิจารณาจากวันที่สามารถกำจัดสังกะสีได้สูงสุดคือในวันที่ 27 ของการเดินระบบสามารถกำจัดสังกะสีได้คิดเป็นร้อยละ 68.60 ขณะที่แคดเมียมสามารถถูกกำจัดได้สูงสุดในวันที่ 2 คิดเป็นร้อยละ 27.17 ดังนั้นจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มสามารถกำจัดโลหะหนักในรูปของสังกะสีได้ดีกว่าแคดเมียม อาจเนื่องมาจากโลหะบางชนิด เช่น สังกะสีเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นแต่ในปริมาณน้อยโดยใช้เป็นองค์ประกอบในการสร้างเอนไซม์ และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์



ภาพที่ 4.12 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำจัดตั้งกะติและแคตเมียมด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ ตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการเดินระบบ

ขณะที่ผลการศึกษการบำบัดไซยาไนด์ (CN) ซึ่งอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อน (Cyanide complexes) ของตั้งกะติไซยาไนด์และแคตเมียมไซยาไนด์ เป็นรูปที่จุลินทรีย์สามารถนำไซยาไนด์ไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและ/หรือไนโตรเจนได้ยากกว่าไซยาไนด์ที่อยู่ในรูปอิสระ (Free cyanide) พบว่าระบบสามารถบำบัดไซยาไนด์ให้มีความเข้มข้นลดลงจากความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 0.76 มก./ล. โดยไซยาไนด์สามารถถูกย่อยสลายได้ตั้งแต่วันแรกหลังจากเริ่มเดินระบบคือในช่วง 24 ชั่วโมงแรก ซึ่งช่วงแรกของการเดินระบบ ประสิทธิภาพในการบำบัดยังไม่คงที่อาจเนื่องจากระบบมีการปรับสภาพการบำบัดในสภาวะที่มีสารประกอบหลายตัว และหลังจากเดินระบบเป็นระยะเวลา 10 วัน ประสิทธิภาพในการบำบัดไซยาไนด์เริ่มมีความต่อเนื่องและพบว่าสามารถบำบัดได้สูงสุดในวันที่ 17 ของการศึกษาซึ่งมีไซยาไนด์เหลืออยู่เท่ากับ 0.15 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 80.56 และความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มจะค่อนข้างสม่ำเสมอ พบว่ามีไซยาไนด์เหลืออยู่ (Residual cyanide) โดยเฉลี่ยเท่ากับ 0.17 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ โดยเฉลี่ยเท่ากับ 77.85 ตั้งแต่วันที่ 9 จนถึงวันที่ 30 ของการเดินระบบ อย่างไรก็ตามในวันที่ 30 ของการเดินระบบ จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ให้มีความเข้มข้นลดลงเหลือ 0.16 มก./ล. คิดเป็นร้อยละ 78.43 ไซยาไนด์ที่เหลืออยู่และประสิทธิภาพในการบำบัดตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการศึกษาดังแสดงในภาพที่ 4.13



ภาพที่ 4.13 ไซยาไนด์ที่เหลืออยู่และประสิทธิภาพในการบำบัดไซยาไนด์ด้วยระบบฟิซซ์-ฟิล์มไบโอสคริมเบอร์

อย่างไรก็ตาม ประเทศไทยมีข้อจำกัดตามกฎหมายสำหรับการปล่อยทิ้งของน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม อนุญาตให้ปล่อยน้ำทิ้งที่มีการปนเปื้อนของไซยาไนด์ สังกะสีและแคดเมียมออกสู่สิ่งแวดล้อมไม่เกิน 0.2 มก./ล., 5 มก./ล. และ 0.03 มก./ล. ตามลำดับ (ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2539) ผลการศึกษานี้ น้ำทิ้งที่ออกจากระบบโดยเฉลี่ยมีค่าไม่เกินค่ามาตรฐานสำหรับไซยาไนด์ และ สังกะสี โดยที่ระบบสามารถบำบัดไซยาไนด์ได้อย่างรวดเร็วตั้งแต่ 24 ชั่วโมงแรกของการศึกษา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yakubenko และคณะ (1995) รายงานว่าการย่อยสลายไซยาไนด์โดย *Pseudomonas fluorescens* B-5040 จะเกิดขึ้นได้สูงสุดในช่วง Exponential phase คือในช่วง 6-24 ชั่วโมงแรกของการย่อยสลาย โดยจุลินทรีย์สามารถใช้ไซยาไนด์สำหรับเป็นแหล่งของคาร์บอนเพื่อการเจริญเติบโต และเปลี่ยนเป็นรูปอื่นซึ่งอยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษลดลงดังที่ได้กล่าวไว้ (Chakraborty and Veeramani, 2006; Sirianuntapiboon and Chuamkaew, 2007; Potivichayanon and Kitleartpornpairat, 2010) ขณะที่การกำจัดโลหะหนักในรูปของสังกะสีและแคดเมียมนั้นระบบจะใช้ความสามารถของจุลินทรีย์ในการกำจัดหรือลดความเป็นพิษของโลหะหนัก ซึ่งมีการศึกษาที่หลากหลายโดยใช้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีความสามารถในการกำจัดโลหะหนักแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน การศึกษาก่อนหน้านี้มีการรายงานว่าสายพันธุ์ของ *Pseudomonas* sp. สามารถทนต่อความเป็นพิษของ

แคดเมียมและ/หรือสังกะสีได้ดี (Malik and Jaiswal, 2000; Raja et al., 2006; Ozgur and Aysel, 2012) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Sannasi และคณะ (2009) ที่ได้มีการศึกษาการกำจัดโลหะหนักในรูปของ Cd(II), Cr(VI), Cu(II), Ni(II), และ Pb(II) โดยใช้จุลินทรีย์หลากหลายชนิดเช่นกัน คือ *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Flavobacterium* sp., *Chryseomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Agrobacterium* sp., *Bacillus* sp., *Arthrobacter* sp., และ *Micrococcus* sp. สำหรับการศึกษานี้ใช้จุลินทรีย์แบบรวมกลุ่ม (Mixed culture) คือ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 ในการกำจัดสังกะสีและแคดเมียมในรูปของ $Zn(CN)_2$ และ $Cd(CN)_2$ พบว่าจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มสามารถกำจัดสังกะสีและแคดเมียมได้ตั้งแต่ 24 ชั่วโมงแรก แต่หากพิจารณาจากผลจากการศึกษาระยะแรกจะพบว่าจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มสามารถถูกกำจัดได้ตั้งแต่ 6 ชั่วโมงแรกเช่นเดียวกับ ไชโอไซยานเนตและไซยาไนด์ โดยความสามารถในการกำจัดสังกะสีจะค่อนข้างคงที่ตั้งแต่วันที่ 12 จนถึงวันที่ 30 ของการเดินระบบ และการกำจัดสังกะสีมีแนวโน้มลดลงตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการเดินระบบ ขณะที่แคดเมียมพบว่าตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการเดินระบบ จุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มสามารถกำจัดแคดเมียมได้ในปริมาณน้อยโดยสามารถกำจัดแคดเมียมได้ดีที่สุดในวันที่ 2 ของการเดินระบบ ถึงแม้จะมีการสะสมของแคดเมียมในระบบ จุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มก็ยังจะสามารถเจริญเติบโตอยู่ได้ บ่งบอกได้ว่าจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มสามารถทน (Resistance) ต่อความเป็นพิษของแคดเมียมได้ ถึงจะสามารถกำจัดแคดเมียมได้เพียงเล็กน้อยก็ตาม Tosapol และคณะ (2015) รายงานว่า *P. aeruginosa* B237 และ *C. taiwanensis* E324 สามารถทนต่อความเป็นพิษของทั้งแคดเมียมและสังกะสีได้ ขณะที่ *T. paurometabola* A155 สามารถทนต่อความเป็นพิษของสังกะสีเท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่า Cd^{2+} และ Zn^{2+} สามารถถูกดูดซับ (Absorb) ได้อย่างรวดเร็วที่ผนังเซลล์ (Cell wall) ซึ่งที่ผนังเซลล์สามารถสะสม (Accumulation) Cd^{2+} และ Zn^{2+} ได้มากกว่าภายในเซลล์ โดยกลไกการกำจัด Cd^{2+} และ Zn^{2+} สามารถเกิดขึ้นภายใน 15 นาทีหลังจาก Inoculation ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า Anionic functional group ที่อยู่บนผนังเซลล์ของจุลินทรีย์เกี่ยวข้องกับการจับกับ Cd^{2+} ion และ Zn^{2+} ion ที่ภายนอกเซลล์ (Lima et al., 2006; Vijayaraghavan and Yun, 2008) ซึ่งสำหรับการศึกษานี้เมื่อพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) ของ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 ในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ด้วยระบบฟิซ-ฟิล์มไบโอสครันเบอร์ในช่วงที่มีการบำบัดได้สูงสุดหรือมีประสิทธิภาพดีที่สุด พบว่าระบบสามารถบำบัดไซยาไนด์ได้ดีกว่า สังกะสี ไชโอไซยานเนต และแคดเมียม ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 80.56, 68.60, 58.41 และ 27.17 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามจากที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นว่างานวิจัยส่วนใหญ่จะแยกบำบัดสารประกอบไซยาไนด์แต่ละชนิดเท่านั้น แต่เมื่อมีการศึกษาการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์มากกว่าหนึ่งชนิดย่อมมีผลต่อการบำบัดโดยจุลินทรีย์ สารบางชนิดอาจมีผลยับยั้งการย่อยสลายสารอีกชนิดหนึ่งได้ ทำให้ความสามารถในการบำบัดลดลง Shivarman และคณะ (1985)

รายงานว่า การปรากฏของฟีนอล (Phenol) และไซยาไนด์มีผลต่อการยับยั้งการย่อยสลายไรโอไซยานเนต เช่นเดียวกับการศึกษาของ Paruchuri และคณะ (1990) รายงานว่าความเข้มข้นของไซยาไนด์มากกว่า 2.5 มก./ล. พบว่ามีผลต่อระยะเวลาในการบำบัดไรโอไซยานเนต ซึ่งต้องใช้เวลาในการบำบัดเพิ่มขึ้น และการยับยั้งการย่อยสลายไรโอไซยานเนตจะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ถ้ามีไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 10 มก./ล. เป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่น่าจะทำให้การย่อยสลายประกอบไซยาไนด์ลดลงได้

4.3.3 ผลิตภัณฑ์ (By-products) ที่เกิดขึ้นหลังจากการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์

จุลินทรีย์มีระบบเอนไซม์และกระบวนการสลายสารประกอบไซยาไนด์เฉพาะตัว จึงสามารถใช้สารประกอบไซยาไนด์เป็นแหล่งของคาร์บอนและ/หรือไนโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโต และเข้าทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนสารประกอบไซยาไนด์ให้เป็นแอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน ไนไตรท์ ไนเตรท ไบคาร์บอเนต ซัลเฟต ขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบไซยาไนด์ สำหรับการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาผลิตภัณฑ์ (By-products) ที่เกิดขึ้นหลังจากการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ด้วยระบบฟ็อกซ์ฟิล์มไบโอสตรัมเบอร์ ในรูปของแอมโมเนีย ไนเตรท ไบคาร์บอเนต และซัลเฟต (ตารางที่ 4.13 และภาพที่ 4.14) โดยเมื่อระบบมีการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ จุลินทรีย์ทำหน้าที่ในการย่อยสลายสารประกอบดังกล่าวและให้ผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นซึ่งอยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษลดลง ซึ่งในระบบมีความเข้มข้นของซัลเฟตและไนเตรทเริ่มต้นเท่ากับ 26.25 มก./ล. และ 0.48 มก./ล. ตามลำดับ โดยซัลเฟตและไนเตรทที่พบเริ่มต้นในระบบนั้นเกิดจากองค์ประกอบของสารอาหาร Buffer medium (BMG) และจากการศึกษาพบว่า มีสารผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นในรูปของไบคาร์บอเนตและไนเตรทเท่ากับ 54.50 มก./ล. หินปูน และ 0.54 มก./ล. ตามลำดับใน 24 ชั่วโมงแรกของการศึกษา เมื่อไรโอไซยานเนตและไซยาไนด์ถูกย่อยสลาย โดยเฉพาะไซยาไนด์ที่สามารถถูกย่อยสลายอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 ของการศึกษา พบว่ามีไบคาร์บอเนตเกิดขึ้นสูง เท่ากับ 92.00 มก./ล. ในวันที่ 2 ของการศึกษา หลังจากนั้นไม่พบมีไบคาร์บอเนตเกิดขึ้นในระบบ ขณะที่ในระบบสามารถตรวจพบไนเตรทตลอดระยะเวลา 30 วันของการเดินระบบ โดยพบค่าในช่วง 0.40 – 0.50 มก./ล. ตลอด 20 วันแรกของการศึกษา โดยไนเตรทจะเกิดขึ้นสูงสุดเท่ากับ 0.61 มก./ล. ในวันที่ 5 ของการเดินระบบ ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไรโอไซยานเนตและไซยาไนด์ที่ถูกบำบัดไปหรือที่ถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์รวมกลุ่ม อย่างไรก็ตามในการทดลองไม่พบว่ามีแอมโมเนียเกิดขึ้น อาจเนื่องมาจากแอมโมเนียถูกออกซิไดซ์โดยจุลินทรีย์กลายเป็นไนเตรท จึงทำให้ไม่พบแอมโมเนียในระบบ แต่พบในรูปของไนเตรทแทน อย่างไรก็ตามจากการทดลองนี้พบว่ามีแอมโมเนียเกิดขึ้นในระหว่างวันที่ 19 ถึงวันที่ 21 ของการเดินระบบเท่ากับ 0.14 มก./ล. หลังจากนั้นก็ไม่พบแอมโมเนียเกิดขึ้นในระบบจนถึงวันที่ 30 ของการศึกษานี้ สารผลิตภัณฑ์ที่ไม่พบในบางช่วงของการเดินระบบอาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์รวมกลุ่มนำสารผลิตภัณฑ์

เหล่านั้นไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตและการสร้างเซลล์ใหม่ โดยการนำไปใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนและ/หรือคาร์บอน จึงทำให้ไม่พบหรือพบแต่มีความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ลดลง

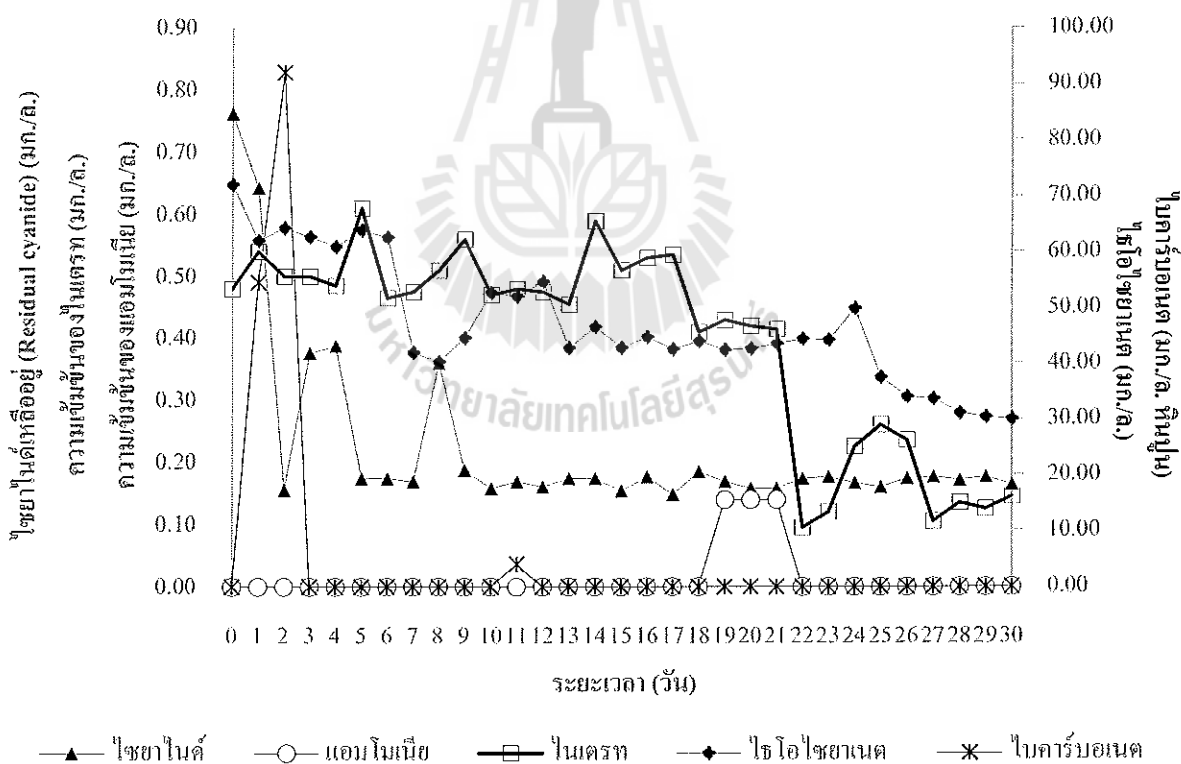
ตารางที่ 4.13 ผลิตภัณฑ์ (By-product) ที่เกิดจากการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์ รวมกลุ่มตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการศึกษา

ระยะเวลา (วัน)	SO ₄ ²⁻ (มก./ล.)	HCO ₃ ⁻ (มก./ล. หินปูน)	NH ₃ (มก./ล.)	NO ₃ ⁻ (มก./ล.)
0	26.25±0.35	N.D.	N.D.	0.48±0.000
1	23.10±0.14	54.50	N.D.	0.54±0.014
2	18.25±0.35	92.00	N.D.	0.50±0.042
3	31.50±0.28	N.D.	N.D.	0.50±0.014
4	37.45±0.21	N.D.	N.D.	0.49±0.007
5	38.00±0.14	N.D.	N.D.	0.61±0.042
6	33.00±0.14	N.D.	N.D.	0.47±0.021
7	37.50±0.57	N.D.	N.D.	0.48±0.007
8	37.65±0.78	N.D.	N.D.	0.51±0.000
9	36.75±0.49	N.D.	N.D.	0.56±0.000
10	40.55±0.21	N.D.	N.D.	0.47±0.000
11	37.20±0.28	4.00	N.D.	0.48±0.000
12	39.80±1.13	N.D.	N.D.	0.48±0.007
13	39.20±0.14	N.D.	N.D.	0.46±0.007
14	39.25±0.07	N.D.	N.D.	0.59±0.000
15	33.25±0.78	N.D.	N.D.	0.51±0.000
16	34.75±0.07	N.D.	N.D.	0.53±0.000
17	36.55±0.35	N.D.	N.D.	0.54±0.007
18	37.95±0.21	N.D.	N.D.	0.41±0.000
19	36.80±0.14	N.D.	0.14±0.00	0.43±0.014
20	40.00±0.14	N.D.	0.14±0.00	0.42±0.014
21	39.75±0.35	N.D.	0.14±0.00	0.42±0.007
22	41.00±0.57	N.D.	N.D.	0.10±0.007
23	58.05±0.92	N.D.	N.D.	0.12±0.000

ตารางที่ 4.13 ผลิตภัณฑ์ (By-product) ที่เกิดจากการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์ รวมกลุ่มตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการศึกษา (ต่อ)

ระยะเวลา (วัน)	SO ₄ ²⁻ (มก./ล.)	HCO ₃ ⁻ (มก./ล. หินปูน)	NH ₃ (มก./ล.)	NO ₃ ⁻ (มก./ล.)
24	37.45±0.21	N.D.	N.D.	0.23±0.007
25	61.00±0.28	N.D.	N.D.	0.26±0.000
26	83.05±0.21	N.D.	N.D.	0.24±0.021
27	90.35±0.49	N.D.	N.D.	0.11±0.007
28	93.10±0.28	N.D.	N.D.	0.14±0.007
29	100.65±0.35	N.D.	N.D.	0.13±0.007
30	85.15±0.35	N.D.	N.D.	0.15±0.007

หมายเหตุ: N.D. หมายถึง Not Detected ตรวจไม่พบในการศึกษาครั้งนี้



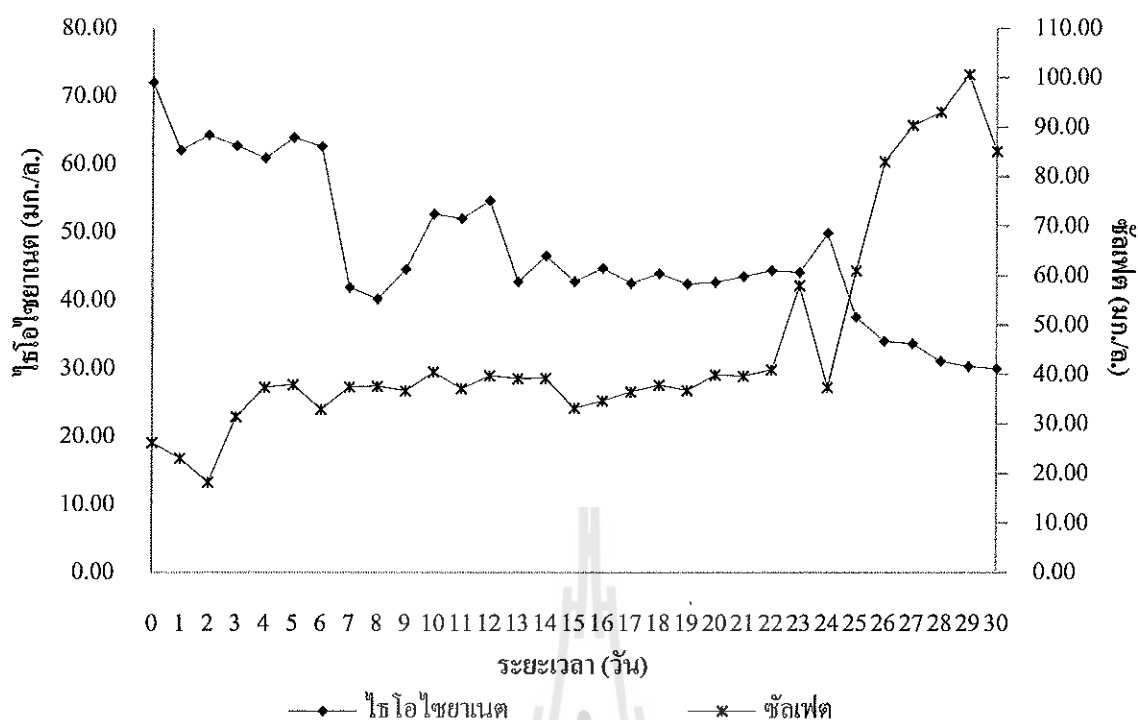
▲ ไซยาไนด์ ○ แอมโมเนีย □ ไนเตรท ◆ ไธโอไซยาเนต * ไบคาร์บอเนต

ภาพที่ 4.14 ความสัมพันธ์ของการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มกับ สารผลิตภัณฑ์ (By-products) ที่เกิดขึ้น

สารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายไรโอไซยานตโดยจุลินทรีย์อีกกรุปหนึ่งคือซัลเฟต ซึ่งเป็นรูปที่มีความเป็นพิษลดลง ตามปฏิกิริยาดังล่าง ดังนี้

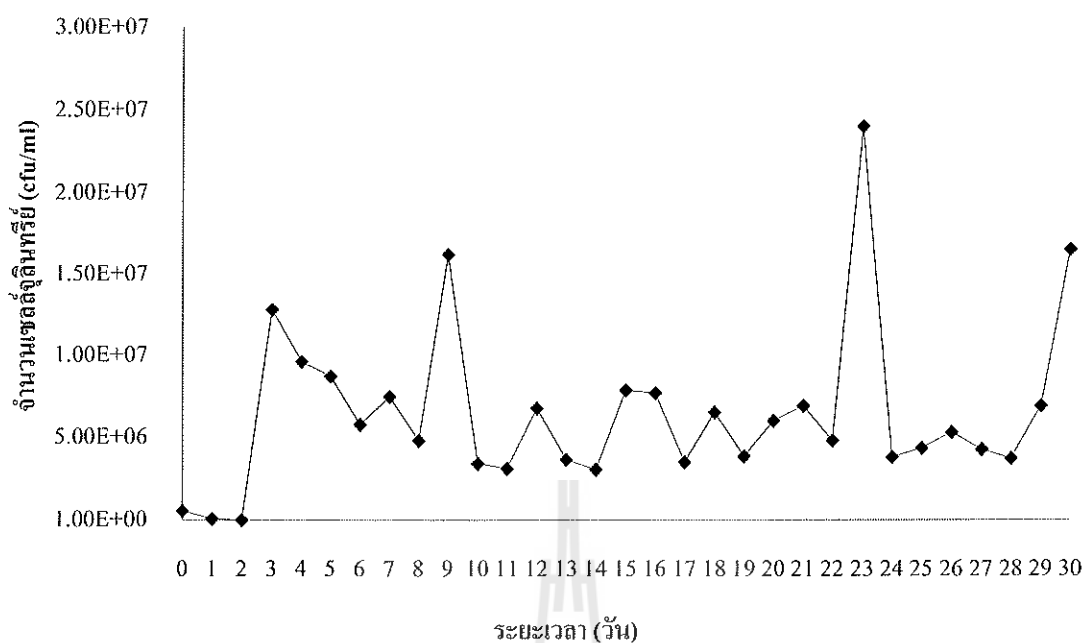


จากการศึกษาพบว่า มีซัลเฟตเกิดขึ้นตลอดช่วงระยะเวลา 30 วันของการเดินระบบ โดยปริมาณซัลเฟตที่เกิดขึ้นจะค่อนข้างคงที่ในช่วงวันที่ 3 ถึงวันที่ 24 ของการเดินระบบ โดยมีปริมาณซัลเฟตอยู่ในช่วง 30-50 มก./ล. อย่างไรก็ตาม การเกิดขึ้นของซัลเฟตขึ้นอยู่กับอัตราการย่อยสลายไรโอไซยานตโดยจุลินทรีย์ และพบว่าซัลเฟตมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่วันที่ 25 จนถึงวันที่ 30 ของการเดินระบบสอดคล้องกับประสิทธิภาพในการย่อยสลายไรโอไซยานตที่เพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 25 จนถึงวันที่ 30 ของการเดินระบบเช่นกัน โดยมีซัลเฟตเกิดขึ้นสูงสุดในวันที่ 29 ของการเดินระบบเท่ากับ 100.65 มก./ล. ซึ่งมีไรโอไซยานตลดลงเหลืออยู่ 30.31 มก./ล จากความเข้มข้นเริ่มต้น 72.04 มก./ล. ดังนั้นความเข้มข้นของไรโอไซยานตที่ลดลงทำให้มีซัลเฟตเกิดขึ้นสอดคล้องกับปฏิกิริยาการย่อยสลายไรโอไซยานตโดยจุลินทรีย์ ความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายไรโอไซยานตโดยจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มกับปริมาณซัลเฟตที่เกิดขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 4.15 ซึ่งแอมโมเนีย และซัลเฟตจะเป็นสารผลิตภัณฑ์สุดท้ายสำหรับการย่อยสลายไรโอไซยานต (Juntack et al., 2008; Grigor'eva et al., 2009; Huddy et al., 2015) อย่างไรก็ตามถึงแม้การย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ให้กลายเป็นสารผลิตภัณฑ์ซึ่งอยู่ในรูปที่มีพิษลดลง แต่สารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นก็อาจส่งผลต่อการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ได้เช่นกัน Paruchuri et al. (1990) รายงานว่าการปรากฏของแอมโมเนียที่มีความเข้มข้นมากกว่า 2 ก./ล. จะลดอัตราการย่อยสลายไรโอไซยานตของจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Hyouk และคณะ (2002) รายงานว่าแอมโมเนียและไนเตรทที่มีความเข้มข้น 3 ก./ล. และ 1.5 ก./ล. ตามลำดับ มีผลเล็กน้อยต่อการยับยั้งการย่อยสลายไรโอไซยานต เมื่อเปรียบเทียบกับ การศึกษานี้พบว่าระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียและไนเตรทที่เกิดขึ้นตลอดทั้ง 30 วันของการเดินระบบยังไม่ก่อให้เกิดผลกระทบหรือยับยั้งการย่อยสลายไรโอไซยานต สังเกตได้จากประสิทธิภาพการบำบัดที่เพิ่มขึ้น และจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่อยู่ภายในระบบทั้งที่แขวนลอยและไหลเวียนอยู่ในระบบ (ภาพที่ 4.16)



ภาพที่ 4.15 ความสัมพันธ์ของการย่อยสลายไอโอสายานต โดยจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มกับซัลเฟตที่เกิดขึ้น

ตามผลการศึกษาโดยจุลินทรีย์ที่แขวนลอยอิสระในระบบ โดยเฉลี่ยแต่ละวันมีจำนวนเซลล์จุลินทรีย์เท่ากับ 6.51×10^6 cfu/ml. ซึ่งจุลินทรีย์ที่ใช้ในการบำบัดและย่อยสลายสารประกอบไฮยาไนต์เกิดขึ้นได้จากทั้งจุลินทรีย์ที่ถูกตรึง (Immobilized cell) อยู่กับตัวกลางพลาสติกซึ่งมีน้ำหนักรวมเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ย 0.0151 กรัม (ตารางที่ 4.14) และจุลินทรีย์ที่แขวนลอยอิสระอยู่ในระบบซึ่งเกิดจากการหลุดออกจากตัวกลางของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ทั้งสองสถานะจะช่วยส่งเสริมให้ความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไฮยาไนต์เกิดขึ้นได้ดี เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้านี้ในการนำจุลินทรีย์รวมกลุ่ม SUTS 1 และ SUTS 2 บำบัดก๊าซไฮโดรเจนไฮยาไนต์ด้วยระบบฟิซ-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (สิราภรณ์, 2553) โดยพบว่ามีประสิทธิภาพสูงถึงร้อยละ 100 แม้ว่าจะเพิ่มความเข้มข้นของไฮโดรเจนไฮยาไนต์ถึง 30 ppm



ภาพที่ 4.16 จุลินทรีย์ที่แขวนลอยอิสระในระบบฟลักซ์-ฟิล์มไบโอสกริมเบอร์

ตารางที่ 4.14 น้ำหนักของตัวกลางพลาสติก Polypropylene pall (PP) ring ที่เพิ่มขึ้นหลังจากการเดินระบบระยะยาวในวันที่ 30 ของการศึกษา

ตัวกลางพลาสติก	น้ำหนักตัวกลาง PP ring ก่อนเริ่มเดินระบบ* (กรัม)	น้ำหนักตัวกลาง PP ring หลังเดินระบบ* (กรัม)	น้ำหนักตัวกลาง PP ring ที่เพิ่มขึ้น* (กรัม)
1	2.0530±0.0001	2.0643±0.0001	0.0113±0.0001
2	2.0529±0.0001	2.0628±0.0001	0.0099±0.0001
3	2.0524±0.0000	2.0627±0.0001	0.0103±0.0000
4	2.0616±0.0001	2.0759±0.0001	0.0143±0.0001
5	2.0676±0.0001	2.0816±0.0001	0.0140±0.0001
6	2.0522±0.0001	2.0687±0.0001	0.0165±0.0001
7	2.0403±0.0000	2.0587±0.0001	0.0184±0.0000
8	2.0522±0.0001	2.0741±0.0000	0.0219±0.0000
9	2.0495±0.0001	2.0691±0.0001	0.0197±0.0001

หมายเหตุ: * หมายถึง Mean±SD

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 การศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture)

จุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) ของ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Buffer medium ที่มีสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของไซโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์ ในรูปของ Zinc cyanide และ Cadmium cyanide จากการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์รวมกลุ่ม SUTS 1 และ SUTS 2 สามารถเจริญเติบโตได้สูงสุดในวันที่ 3 ของการศึกษา มีจำนวนโคโลนีเท่ากับ 1.03×10^8 cfu/มล. ซึ่ง *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 สามารถเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้ดีกว่า *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 ในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์ทั้งสองชนิด โดยพบว่าไซโอไซยานเนตมีความเข้มข้นลดลงจาก 87.88 มก./ล. เหลือ 57.30 มก./ล. ขณะที่ไม่พบไซยาไนด์เหลืออยู่ตั้งแต่วันที่ 1 ของการศึกษา แต่ยังคงพบสังกะสีและแคดเมียมในวันที่ 7 ของการศึกษา 0.378 และ 0.0095 มก./ล. ตามลำดับ คิดเป็นประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซโอไซยานเนต ไซยาไนด์ สังกะสี และแคดเมียมร้อยละ 34.80, >99.99, 14.48 และ 81.00 ตามลำดับ

5.2 การศึกษาระยะแรก (Short term period) ของการพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber)

การศึกษาอัตราการไหลและระยะเวลาที่เก็บที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายไซโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ โดยการเปรียบเทียบระหว่างอัตราการไหลที่ 10 มล./นาที่ และที่อัตราการไหล 30 มล./นาที่ เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดซึ่งจะส่งเสริมให้ระบบมีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงขึ้น พบว่าระบบสามารถบำบัดไซโอไซยานเนตให้ลดลงได้ต่อเนื่อง เมื่อระบบมีอัตราการไหลที่เหมาะสมคือที่ 10 มล./นาที่ ที่ระยะเวลากักเก็บประมาณ 21 นาที คิดเป็นประสิทธิภาพในการบำบัดร้อยละ 23.23 แต่เมื่อเพิ่มอัตราการไหลเป็น 30 มล./นาที่ ระยะเวลากักเก็บประมาณ 7 นาที ระยะเวลากักเก็บประมาณ 7 นาที ระบบบำบัดได้ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 6 ของการศึกษา คิดเป็นประสิทธิภาพร้อยละ 17.11 สำหรับการย่อยสลายโลหะไซยาไนด์ในรูปของสังกะสีไซยาไนด์และแคดเมียมไซยาไนด์ ที่อัตราการไหล 10 มล./นาที่ ไม่พบไซยาไนด์เหลืออยู่ (Residual cyanide) ในชั่วโมงที่ 12 ของการศึกษา ประสิทธิภาพการบำบัดโลหะหนักในรูปของสังกะสีและแคดเมียม ที่ 24 ชั่วโมงคิดเป็นร้อยละ 52.29 และ 14.26 ตามลำดับ เมื่อเพิ่มอัตราการไหลเป็น 30 มล./นาที่ ที่ระยะเวลา

กักเก็บ 7 นาที พบว่าไม่มีไซยาไนด์เหลืออยู่ในชั่วโมงที่ 24 ส่วนสังกะสีและแคดเมียมสามารถถูกกำจัดตลอดช่วงระยะเวลาการทดลองเช่นเดียวกับที่อัตราการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10 มล./นาที่ ประสิทธิภาพการบำบัดคิดเป็นร้อยละ 36.96 และ 29.75 ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้พบว่าการย่อยสลายโลหะไซยาไนด์ที่อัตราการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10 มล./นาที่ สามารถย่อยสลายไซโอไซยานเนต ไซยาไนด์และสังกะสี ได้ดีกว่าที่อัตราการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30 มล./นาที่ อาจเนื่องมาจากที่อัตราการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10 มล./นาที่ มีระยะเวลาการกักเก็บที่นานกว่าคือที่ 21 นาที ทำให้จุลินทรีย์รวมกลุ่มมีระยะเวลาพักในการสัมผัสกับสารมลพิษและย่อยสลาย นอกจากนี้ยังพบว่าสำหรับการทดลองทั้งสองอัตราการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มสามารถกำจัดโลหะหนักในรูปของสังกะสีได้ดีกว่าแคดเมียม ดังนั้นสำหรับการศึกษาระยะแรกนี้พบว่าที่อัตราการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10 มล./นาที่ ที่ระยะเวลาการกักเก็บ 21 นาที มีแนวโน้มการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ได้ดีกว่า ส่งผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดสูงขึ้น ซึ่งหลังจากการบำบัดพบว่าสารประกอบไซยาไนด์สามารถถูกเปลี่ยนเป็นสารที่มีความเป็นพิษลดลง คือ ไบคาร์บอเนต ไนเตรทและซัลเฟต ส่วนแอมโมเนียไม่พบในการศึกษานี้

5.3 การศึกษาระยะยาว (Long term period) ของการพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์ (Fixed-film bioscrubber)

การศึกษาระยะยาวสำหรับการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปของไซโอไซยานเนตและโลหะไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์รวมกลุ่ม (Mixed culture) *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 ตลอดช่วง 30 วันของการศึกษาด้วยการใช้สภาวะที่เหมาะสมคืออัตราการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 10 มล./นาที่ ที่ระยะเวลาการกักเก็บ 21 นาที เพื่อให้ความสามารถในการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์เกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด การศึกษานี้พบว่าจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์มากกว่าหนึ่งชนิดได้ และสามารถถูกย่อยสลายได้ตั้งแต่ 6 ชั่วโมงแรกของการศึกษา พบว่าระบบสามารถบำบัดไซยาไนด์ได้ดีกว่า สังกะสี ไซโอไซยานเนต และแคดเมียม ตามลำดับ คิดเป็นประสิทธิภาพร้อยละ 80.56, 68.60, 58.41 และ 27.17 ตามลำดับ เทียบจากวันที่เกิดการย่อยสลายได้สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานการปล่อยน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรมอนุญาตให้ปล่อยน้ำทิ้งที่มีการปนเปื้อนของไซยาไนด์ สังกะสี และแคดเมียม ออกสู่สิ่งแวดล้อมไม่เกิน 0.2 มก./ล., 5 มก./ล. และ 0.03 มก./ล. ตามลำดับ (ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2539) ซึ่งจากการทดลองพบว่าน้ำทิ้งที่ออกจากระบบสำหรับไซยาไนด์และสังกะสี มีค่าไม่เกินมาตรฐานกำหนด ยกเว้นแคดเมียม ขณะที่ไซโอไซยานเนตไม่มีมาตรฐานกำหนดไว้ แต่ไซโอไซยานเนตอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสามารถทำปฏิกิริยากับโลหะหนักได้ ทำให้เกิดการสะสมในสิ่งแวดล้อมดังนั้นจึงถือเป็นอีกพารามิเตอร์หนึ่งที่ต้องได้รับการบำบัดก่อนปล่อยทิ้งออกสู่สิ่งแวดล้อมเช่นกัน นอกจากนี้การบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ด้วยระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์

สามารถเปลี่ยนรูปสารประกอบดังกล่าวให้อยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษลดลงปรากฏในรูปของ แอมโมเนีย ไนเตรท ไบคาร์บอเนต และซัลเฟต ซึ่งสารผลิตภัณฑ์เหล่านี้สามารถถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน สำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อไปได้

จากการศึกษาวิจัยนี้สรุปได้ว่าจุลินทรีย์รวมกลุ่ม *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 เป็นจุลินทรีย์กลุ่มใหม่ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไซยาไนด์มากกว่าหนึ่งชนิด ซึ่งอาจสามารถประยุกต์ใช้ได้จริงในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีการปนเปื้อนสารประกอบไซยาไนด์มากกว่าหนึ่งชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารไซโอไซยาเนตและโลหะไซยาไนด์ในรูปของสังกะสีและแคดเมียม

5.4 ข้อเสนอแนะจากการศึกษาวิจัย

- ควรมีการพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์เพื่อนำไปใช้ในการกำจัดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะไซยาไนด์ประเภทอื่น เช่น Copper cyanide, Iron cyanide, Ferric cyanide และ Chromium cyanide เป็นต้น

- ควรมีการนำระบบฟอกซ์-ฟิล์ม ไบ โอสคริบเบอร์ที่มีจุลินทรีย์รวมกลุ่มนี้ไปทดสอบใช้ในการบำบัดกับน้ำเสียจริงที่เกิดจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีการปนเปื้อนของสารประกอบไซยาไนด์

- ควรมีการพัฒนาความสามารถของจุลินทรีย์รวมกลุ่มเพื่อนำไปทดสอบใช้กับระบบบำบัดประเภทอื่นๆ เช่น ระบบบำบัดแบบที่จุลินทรีย์แขวนลอยในระบบ

บรรณานุกรม

- กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. (2539). กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม ฉบับที่ 3 (ออนไลน์). ที่มา: http://infofile.pcd.go.th/law/3_94_water.pdf?CFID=4481081&CFTOKEN=67141427.
- จตุรรัตน์ อาชวรัตน์ถาวร. (2547). ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับไซยาไนด์. รายงานวิชาการ ฉบับที่ สอพ.4/2547 สำนักอุตสาหกรรมพื้นฐาน กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่. 48 หน้า.
- ชัชวาลิ กะลัมพะเหติ. (2535). การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ไซยาไนด์จากเหมืองทอง. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ. ปีที่ 40. ฉบับที่ 123. หน้า 24 - 28.
- ทินพันธุ์ เนตรแพ. (2545). การดูดซับแคดเมียมและตะกั่วทางชีวภาพ โดย *Aspergillus oryzae*. วิทยานิพนธ์ วท.ม. มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- รัชชัย หงษ์ศรีสุวรรณ. (2546). การประยุกต์ระบบ SBR สำหรับการบำบัดโลหะหนักที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- ปรีชา จารูวาระกุล. (2550). ไซยาไนด์กับอุตสาหกรรมเหมืองแร่ทองคำ. รายงานวิชาการ ฉบับที่ สอพ. 3/2550 กลุ่มอุตสาหกรรมพื้นฐาน 4 สำนักอุตสาหกรรมพื้นฐาน กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่. 49 หน้า.
- พิมล เรียนพัฒนา และ ชัยวัฒน์ เจนวานิชย์. (2539). เคมิสถภาวะแวดล้อม. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- วิสุทธิ เสงวีศรี. (2537). สารแคดเมียม. วารสารข่าวสารวัดภูมิพิษ. 21(1): 1-3.
- ศุภมาส พนิชศักดิ์พัฒนา. (2540). ภาวะมลพิษของดินจากการใช้สารเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สันทนต์ ศิริอนันต์ไพบูลย์. (2552). ระบบบำบัดน้ำเสีย การเลือกใช้ การออกแบบ การควบคุม และการแก้ปัญหา. สำนักพิมพ์ท็อป. กรุงเทพมหานคร.
- สิราภรณ์ โพธิ์วิชยานนท์. (2550). การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์. รายงานการวิจัย รหัสโครงการ SUT6-617-50-12-90. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- สิราภรณ์ โพธิ์วิชยานนท์. (2553). การพัฒนาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการกำจัดกลิ่นในรูปของก๊าซไฮโดรเจนไซยาไนด์โดยใช้ระบบฟิซซ์-ฟิล์มไบโอสตรัคเจอร์. รายงานการวิจัย รหัสโครงการ SUT6-617-53-12-04. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- Abn, J.H., Lee, S. and Hwang, S. (2005). Growth kinetic parameter estimation of *Klebsiella* sp. utilizing thiocyanate. *Process Biochemistry*. 40: 1363-1366.

- Ahuja, P., Mohapatra, H., Saxena, R.K. and Gupta, R. (2001). Reduced Uptake as a mechanism of zinc tolerance in *Oscillatoria anguisissima*. *Current Microbiology*. 43: 305-310.
- Aiking, H. Stijnman, A., Garderen, C.V., Heerikhuizen, H.V. and Riet, J.V. (1984). Inorganic phosphate accumulation and cadmium detoxification in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 growing in continuous culture. *Appl Environ Microbiol*. 47: 374-377.
- Akcil, A. (2003). Destruction of cyanide in gold mill effluents: biological versus chemical treatments. *Biotechnol. Adv.* 21: 501-511.
- APHA, AWWA, WPCF. (1995). Standards method for the examination of water and wastewater. 19th ed. American Public Health Association. Washington DC.
- APHA, AWWA, WPCF. (2005). Standards method for the examination of water and wastewater. 25th ed. American Public Health Association. Washington DC.
- Aronstein, B.N., Maka, A. and Srivastava, V.J. (1994). Chemical and biological removal of cyanide from aqueous and soil-containing systems. *Appl Microbiol Biotechnol*. 41: 700-707.
- Babu, G.R.V., Wolfram, J.H. and Chapatwara K.D. (1992). Conversion of sodium cyanide to carbon dioxide and ammonium by immobilized cells of *Pseudomonas putida*. *J Ind Microbiol*. 9: 235-238.
- Barclay, M., Hart, A., Knowles, C.J., Meeussen, J.C.L. and Tett, V.A. (1998). Biodegradation of metal cyanides by mixed and pure cultures of fungi. *Enzyme Microb Technol*. 22: 223-231.
- Baxter, J. and Cummings, S.P. (2006). The current and future applications of microorganism in the bioremediation of cyanide contamination. *A Van Leeuw*. 90: 1-17.
- Beard, S.J. (1997). Zinc (II) tolerance in *Escherichia coli* K-12: Evidence that the *zntA* gene encodes a cation transport ATPase. *Molecular Microbiology*. 25: 883-891.
- Benjamin, M.M. (2002). *Water chemistry*. NY: McGraw-Hill.
- Betts, PM., Rinder, DF. and Flecker, JR. (1979). Thiocyanate utilization by an *Arthrobacter*. *Can. J. Microbiol*. 25: 1277-1282.
- Blackwell, K.J., Singleton, I. and Tobin, J.M. (1995). Metal cation uptake by yeast. a review. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 43: 579-584.
- Bomstein, R.A. (1972). Waste treatment with microbial nucleoprotein flocculating Agent. 3: 684-706.
- Botz, M.M. (2001). Overview of cyanide treatment methods. *Mining environmental management*. UK : Mining journal Ltd.
- Boucabeille, C., Bories, A., Ollivier, P. and Michel, G. (1994). Microbial degradation of metal complexed cyanides and thiocyanate from mining wastewaters. *Environ Pollut*. 84: 59-67.

- Brierley, C.L. (1990). Metal immobilization using bacteria. In *Microbial Mineral Recovery*. New York: McGraw-Hill.
- Chakraborty, S. and Veeramani, H. (2006). Effect of HRT and recycle ratio on removal of cyanide, phenol, thiocyanate and ammonia in an anaerobic-anoxic-aerobic continuous system. *Process Biochem.* 41: 96-105.
- Chapatwala, K.D., Rabu, G.R.V., Vijaya, O.K., Kumar, K.P. and Wolfram, J.H. (1998). Biodegradation of cyanides, cyanates and thiocyanates to ammonia and carbon dioxide by immobilized cells of *Pseudomonas putida*. *J Ind Microbiol and Biot.* 20: 28-33.
- Dash, R.R., Balomajumder, C. and Kumar, A. (2009). Removal of metal cyanides from aqueous solutions by suspended and immobilized cells of *Rhizopus oryzae* (MTCC 2541). *Eng Life Sci.* 9(1): 53-59.
- Dubey, S.K. and Holmes, D.S. (1995). Biological cyanide destruction mediated by microorganisms. *World J Microbiol Biotechnol.* 11: 257-265.
- Dzombak, D.A., Ghosh, R.S., and Wong-Chong, G.M. (2006). *Cyanide in water and soil: Chemistry, Risk, and Management*. United States: CRC Press, pp. 93-121.
- Ebbs, S. (2004). Biological degradation of cyanide compounds. *Curr Opin Biotech.* 15: 231-236.
- Elaine, M. Souza-Fagundes, Luiz, H.R., Newton, C.M. Gomes, Mercia, H.S. and Patricia, F.P. (2004). Thiocyanate degradation by pure and mixed cultures of microorganisms. *Brazilian Journal of Microbiology.* 35: 333-336.
- EPA. (1997). Methylene bis(Thiocyanate). United States Environmental Protection Agency. EPA-738-F-97-005.
- Filali, K.B. (2000). Waste water bacterial isolates resistant to heavy metal and Antibiotic. *Current microbiology.* 41: 151-156.
- Gantzer, C.J. and Maier, W.J. (1990). *Biological degradation of cyanide by nitrogen-fixing cyanobacteria*. Research and Development, Risk Reduction Engineering. United States Environmental Protection Agency.
- Gherrou, A. and Kerdjoudj, H. (2002). Specific membrane transport of silver and copper as $\text{Ag}(\text{CN})_3^{2-}$ and $\text{Cu}(\text{CN})_4^{3-}$ ions through a supported liquid membrane using K^+ -crown ether as a carrier. *Desalination.* 151: 87-94.
- Goncalves, M.M.M., Pinto, A.F. and Granato, M. (1998). Biodegradation of free cyanide, thiocyanate and metal complexed cyanides in solutions with different compositions. *Environ Technol.* 19: 133-142.

- Gourdon, R. (1990). Comparison of cadmium biosorption by Grampositive and Gram-negative bacteria from activated sludge. *Biotechnol.Lett.* 12(11): 839-842.
- Gourdon, R. (1990). Mechanism of cadmium uptake by activated sludge. *Appl. Microbiol.* 34: 274-278.
- Grigor'eva, N.V., Smirnova, Yu. V. and Dulov, L.E. (2009). Thiocyanate decomposition under aerobic and oxygen-free conditions by aboriginal bacterial community isolated from the waste of a metallurgical works. *Microbiology.* 78(4): 402-406.
- Gupta, A. Whitton, BA., Morby, AP., Huckle, JW. and Robinson, NJ. (1992). Amplification and rearrangement of a prokaryotic metallothionein locus *smt* in *Synechococcus* PCC-6301 selected for tolerance to cadmium. *Proc. R. Soc. Lond Ser B Biol Sci.* 248: 273-281.
- Gurbuz, F., Ciftci, H. and Akcil, A. (2009). Biodegradation of cyanide containing effluents by *Scenedesmus obliquus*. *Hazardous Materials.* 162: 74-79.
- Huddy, R.J, van Zyl, A.W., van Hille, R.P. and Harrison, S.T.L. (2015). Characterisation of the complex microbial community associated with the ASTER™ thiocyanate biodegradation system. *Minerals Engineering.* 76: 65-71
- Hung, C.H. and Pavlostathis, S.G. (1997). Aerobic biodegradation of thiocyanate. *Wat Res.* 3(11): 2761-2770.
- Hung, C.H. and Pavlostathis, S.G. (1999). Kinetics and modelling of autotrophic thiocyanate biodegradation. *Biotechnol. Bioeng.* 62: 1-11.
- Hsu, J.P., Chiang, T.Y. (1991). Removal of cadmium ions in wastewater through biosorption. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 7(5): 571-572.
- Hyoun, K.K., Seung, H.W. and Jong, M.P. (2002). Thiocyanate degradation by *Acremonium strictum* and inhibition by secondary toxicants. *Biotechnology Letters.* 24: 1347-1351.
- Jeong, Y.S. and Chung, J.S. (2006). Biodegradation of thiocyanate in biofilm reactor using fluidized-carriers. *Process Biochem.* 41: 701-707.
- Jeong, Y.S. and Chung, J.S. (2006). Simultaneous removal of COD, thiocyanate, cyanide and nitrogen from coal process wastewater using fluidized biofilm process. *Process Biochem.* 41: 1141-1147.
- Juntack, L., Seungyong, L., Sang-Don, K. and Seokhwan, H. (2008). Biochemical indication of microbial mass changes using ATP and DNA measurement in biological treatment of thiocyanate. *Appl Microbiol Biotechnol.* 80: 525-530.
- Kao, C.M., Liu, J.K., Lou, H.R., Lin, C.S. and Chen, S.C. (2003). Biotransformation of cyanide to methane and ammonia by *Klebsiella oxytoca*. *Chemosphere.* 50: 1055-1061.

- Karavaiko, G.I., Kondrat'eva, T.F., Savari, E.E. (2000). Microbial degradation of cyanide and Thiocyanate. *Microbiology*. 69: 167-173.
- Kasan, H.C. (1993). The role of waste activated sludge and bacteria in metal-ion removal from solution. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 23 (1): 79 -117.
- Knowles, C.J. (1976). Microorganisms and cyanide. *Bacteriol Rev*. 40: 652-680.
- Raina, M.M., Lan, L.P., Charles P.G. (2009). *Environmental microbiology*. Elsevier. UK. pp 38-42.
- Lester, E.A. (1987). *Heavy metals in wastewater and sludge treatment process (Vol.1-2)*. Florida: CRC Press.
- Lim, J., Lee, S. and Kim, S.D. (2008). Biochemical indication of microbial mass changes using ATP and DNA measurement in biological treatment. *Appl Microbiol Biotechnol*. 80: 525-530.
- Lima, A.I.G., Corticeiro, S.C. and Figueira, E.Md.A.P. (2006). Glutathione-mediated cadmium sequestration in *Rhizobium leguminosarum*. *Enzym. Microb. Tech*. 39: 763-769.
- Lin, J.E. and Wang, H.Y. (1991). Degradation of pentachlorophenol by non-immobilized, immobilized and co-immobilized *Arthrobacter* cells. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 72(4): 311-314.
- Liu, J., Baozhen, W., Li, W., Chengji, J., Cao, X. and Wang, L. (1996). Removal of nitrogen from coal gasification and coke plant wastewater in anoxic aerobic submerged biofilm-activated sludge (SBF-AS) hybrid system. *Water Sci Technol*. 34: 17-24.
- Lodi, A., Solisio, C. and Converti, A. (1998). Cadmium Zinc Copper Silver and Chromium removal from wastewaters by *Sphaerotilus natans*. *Bioprocess Engineering*. 19: 197 – 203.
- Macaskie, L.E. and Dean, A.C.R. (1982). Cadmium Accumulation By Micro-organisms. *Environ. Technol. Let*. 3: 49-56.
- Malik, A. and Jaiswal, R. (2000). Metal resistance in *Pseudomonas* strains isolated from soil treated with industrial wastewater. *World J Microbiol Biotechnol*. 16: 177-182.
- McDwith, B.W. and Lefelhocz, J.F. (1981). In: Single-stage biological treatment of coke plant wastewater with a hybrid suspended growth fixed film reactor. *Ann Arbor Sci*. pp. 68-76.
- Meehan, S. M. (2000). The Aqueous chemistry of cyanide and nitrogen. [Online]. Available: http://thesis.lib.unimelb.edu.au/adt-root/uploads/approved/adtVU2002.0068/public/05_Ch3.pdf,
- Melcer, H. and Nutt, S.G. (1988). Nitrogen control of complex industrial wastewater. *J Environ Eng, ASCE*. 114: 166-178.

- Moran, R. (2000). Cyanide uncertainties. [Online]. Available: [http://www.eireview.org/eir/eirhome.nsf/\(DocLibrary\)/4255D0784BD4023F85256BFB006E9686/\\$FILE/Cyanide_Uncertainties%20\(Feiler\).pdf](http://www.eireview.org/eir/eirhome.nsf/(DocLibrary)/4255D0784BD4023F85256BFB006E9686/$FILE/Cyanide_Uncertainties%20(Feiler).pdf).
- Mudder, T.I, Botz, M.M. and Smith, A. (2001). Chemistry and Treatment of Cyanidation Wastes, 2nd ed. Mining Journal Books LTD. London. 373 p.
- Nies, D.H. and Silver, S. (1989). Plasmid determined inducible efflux is responsible for Resistance to cadmium, zinc and cobalt in *Alcaligenes eutrophus*. *J. Bacteriol.* 171: 896-900.
- Nies, D.H. (1992). CzcR and CzcD, gene products affecting regulation of cobalt, zinc, and cadmium resistance (*czc*) in *Alcaligenes eutrophus*. *J. Bacteriol.* 174: 8102-8110.
- Nies, D.H. (1999). Microbial heavy metal resistance. *Appl Microbiol Biotechnol.* 51: 730-750.
- Neufeld, R.D., Mattson, L. and Lubon, P. (1981). Thiocyanate bio-oxidation kinetics. *J. Environ. Eng-ASCE* 108: 1035-1049.
- Olafson, R.W., Abcl, K. and Sim, R.G. (1979). Procarytic metallothionein : Preliminary Characterization of a blue green alge heavy-metal binding protein. *Biochem. Biophys Res Commun.* 89: 36.
- Ozgun, C. and Aysel, U. (2012). Bio-monitoring of heavy metal resistance in *Pseudomonas* and *Pseudomonas* Related Genus. *J. biol. Environ. Sci.* 6(18): 233-242.
- Paruchuri, Y.L., Shivaraman, N. and Kumaran, P. (1990). Microbial transformation of thiocyanate. *Environ. Pollut.* 68: 15-28.
- Patil, Y.B. and Paknikar, K. M. (2000). Development of a process for biotransformation of metal cyanides from waste waters. *Process Biochem.* 35: 1139-1151.
- Patterson, J.W. (1985). *Industrial Wastewater Treatment Technology*, 2nd ed. Butterworths. London, UK. pp. 115-134.
- Pazirandeh, M., Well, B.M. and Ryan, R.L. (1998). Development of bacterium-based heavy metal biosorbents: entranced uptake of cadmium and mercury by *Escherichia coli* expressing a metal binding motif. *Appl Environ microbial.* 64(10): 4068-4072.
- Potivichayanon, S., Pokkthitayook, P. and Kruatrachue, M. (2006). Hydrogen sulfide removal by a novel fixed-film bioscrubber system. *Process Biochemistry.* 41(3):708-715.
- Potivichayanon, S. and Kitleartpornpaivat, R. (2010). Biodegradation of cyanide by a novel cyanide-degrading bacterium. *Proceedings of ICEESD 2010 International Conference on Energy, Environment, Sustainable Development in World Academy of Science, Engineering and Technology.* Paris, France. 66: 606-609.

- Raja, C.E., Anbazhagan, K. and Selvam, G.S. (2006). Isolation and characterization of a metal-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 22: 577-585.
- Ragan, H.A. and Mast, T.J. (1990). Cadmium inhalation and male reproductive toxicity. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 114:1-22.
- Raybuck, S.A. (1992). Microbes and microbial enzymes for cyanide degradation. *Biodegradation.* 3: 3-18.
- Sannasi, P., Kader, J., Othman, O. and Salmijah, S. (2009). Physical growth and biomass characterization of bacterial cells exposed to Cd(II), Cr(VI), Cu(II), Ni(II) and Pb(II). *Journal of Environmental Research and Development.* 4(1): 8-18.
- Scott, J.A. and Karanjikar, A.M. (1992). Repeated cadmium biosorption by regenerated *Enterobacter aerogenes* biofilm attached to activated carbon. *Biotechnol.Lett.* 8: 737-740.
- Shivaraman, N., Kumaran, P., Pandey, R.A., Chatterjee, S.K., Choudhary, K.R. and Parhd, N.M. (1985). Microbial degradation of thiocyanate, phenol and cyanide in a completely mixed aeration system. *Environ. Pollut. Ser. A (UK).* 39: 141-150.
- Silva-avalos, J., Richmond, M.G., Nagappan, O. and Kunz, D.A. (1990). Degradation of the metal-cyano complex tetracyanonickelate(II) by cyanide-utilizing bacterial isolates. *Appl Environ Microbiol.* 56(12): 3664-3670.
- Silver, S. (1996). Bacterial heavy metal resistance: New surprises. *Ann Rev Microbiol.* 50, 753-789.
- Sirianuntapiboon, S. and Chuamkaew, C. (2007). Packed cage rotating biological contactor system for treatment of cyanide wastewater. *Bioresource Technol.* 98: 266-272.
- Sorokin, D.Y., Tourova, T.P., Lysenko, A.M. and Kuenen, J.G. (2001). Microbial thiocyanate utilization under highly alkaline conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 528-538.
- Tangaromsuk, J., Pokethitiyook, P., Kruatrachue, M. and Upatham, E.S. (2002). Cadmium biosorption by *Sphingomonas paucimobilis* Biomass. *Bioresource Technoligy.* 85: 103-105.
- Taniguchi, J. (2000). Zinc biosorption by a zinc-resistant bacterium, *Brevibacterium* sp. Strain HZM-1. *Appl Microbiol Biotechnol.* 54: 581-588.
- Thelwell, C., Robinson, N.J. and Turner-Cavet, J.S. (1998). An SmtB-like repressor from *Synechocystis* PCC 6803 regulates a zinc exporter. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95: 10728-10733.
- Tossapol, L. Najjapak, S. Anchana, S., Thiranun, A., Malceya, K. and Prayad, P. (2015). Bioaccumulation and biosorption of Cd²⁺ and Zn²⁺ by bacteria isolated from a zinc mine in Thailand. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 122: 322-330.

- USAMRICD. (2002). Cyanide. [Online]. Available: https://www.rke.vaems.org/wvems/Libraryfiles/Dis/03_23.pdf.
- U.S. EPA. (1994). Treatment of cyanide heap leaches and tailings. [Online] Available: <http://www.epa.gov/epaoswer/other/mining/techdocs/cyanide.pdf>.
- Valentine, N.B. Bolton Jr.H., Kingsley, M.T., Drake, G.R., Balkwill, D.L. and Plymale, A.E. (1996). Biosorption of cadmium, cobalt, nickel, and strontium by a *Bcaillus simplex* strain isolated from the vadose zone. *J.Ind.Microbiol.* 16: 189-196.
- Vijaraghavan, K. and Yun, Y.S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnol. Adv.* 26:266-291.
- Volesky, B. (1990). Removal and recovery of heavy metals by biosorption. *Biosorption of heavy metal.* 14: 139-172.
- Weast, R.C. (1984). *CRC handbook of chemistry and physics*, 64 edn. CRC, Boca Raton, Fla. Noplace.
- Whitlock, J.L. (1990). Biological detoxification of precious metal processing wastewaters. *Geomicrobiol. J.* 8: 241-249.
- Wild, J. (1987). Liquid wastes from the metal finishing industry. *Surveys industrial Wastewater Treatment*, Vol 3, Manufacturing and Chemical industries, Longman Group, Harlow, UK, pp. 21-64.
- Wood, A.P., Kelly, D.P., McDonald, I.R., Jordan, S.L., Morgan, T.D., Khan, S., Murrell, J.C. (1998). A novel pink-pigmented facultative methylotroph, *Methylobacterium thiocyanatum* sp. nov. capable of growth on thiocyanate or cyanate as sole nitrogen sources. *Arch Microbiol.* 169: 148-158.
- Yakubenko, L.N., Podolska, V.I., Vember, V.E. and Karamushka, V.I. (1995). The influence of transition metal cyanide complexes on the electro-surface properties and energy parameters of bacterial cells. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.* 104: 11-16.
- Yasemin, K., Cigdem, A., Sema, T., Adil, D., Omer, G. and M. Yakup, A. (2002). Biosorption of Hg and Cd from aqueous solutions comparison of biosorptive capacity of alginate and immobilized live and heat inactivated *Phanerochaete chrysosporium*. *Process Biochemistry.* 37: 601-610.



ภาคผนวก ก.
วิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ไซยาไนด์เหลืออยู่ (Residual cyanide: CN) ด้วยวิธีการกลั่นและการไตเตรท (APHA, AWWA, WPCF, 2005)

1.1 การกลั่นไซยาไนด์ (Distillation) สำหรับวิธี Weak Acid Dissociable Cyanide (WAD)

อุปกรณ์

ชุดกลั่นไซยาไนด์ (ภาพที่ ผ.1)

สารเคมี

1. สารละลายกรดแอสติก (Acetic acid) (1+9) : Acetic acid ปริมาตร 1 เท่า ผสมกับน้ำกลั่น ในปริมาตร 9 เท่า

2. สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ (Acetate buffer) : ละลาย Sodium acetate trihydrate ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 410 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร และเติม Acetic acid เพื่อให้สารละลายมี pH อยู่ที่ 4.5 (ประมาณ 500 มิลลิลิตร)

3. Methyl red indicator

4. สารละลายสังกะสีอะซิเตท (Zinc acetate solution) (100 กรัม/ลิตร): ละลายสังกะสีอะซิเตท ($\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 120 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

5. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์: ละลาย NaOH 40 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตร ให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

6. Lead carbonate (PbCO_3)

วิธีวิเคราะห์

1. ประกอบชุดกลั่นไซยาไนด์โดยต่อ Round flask (หมายเลข 1) เข้ากับ Cold finger jacket (หมายเลข 2) และ Cold finger (หมายเลข 3) ยึดให้ติดกันด้วยตัวหนีบ

2. เติมตัวอย่างน้ำ 250 มิลลิลิตร ลงใน Round flask (หมายเลข 1) เข้าทาง Inlet tube (หมายเลข 4)

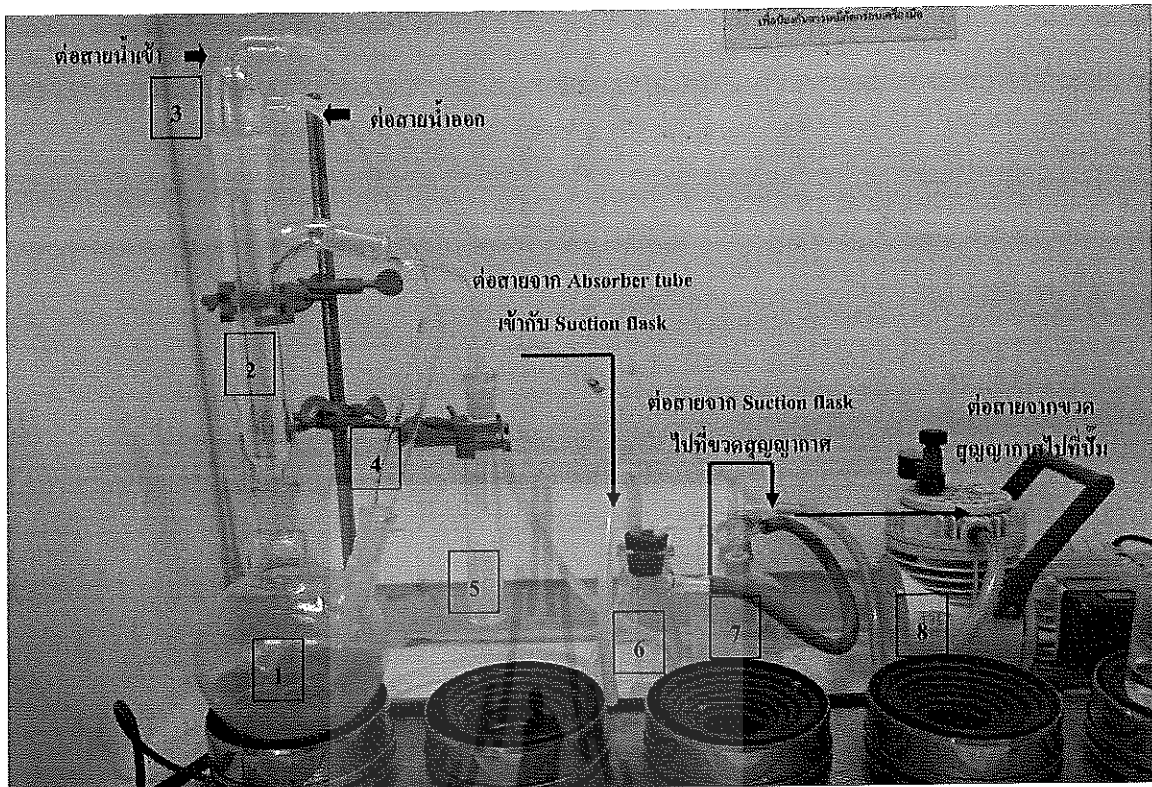
3. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 มิลลิลิตร ลงใน Absorber tube (หมายเลข 5) (ท่อกระจายลมต้องจมอยู่ใต้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์) ถ้าในตัวอย่างน้ำมีซัลไฟด์ให้เติม Lead carbonate (PbCO_3) 50 มิลลิกรัม หรือมากกว่านั้นลงไป ใน Absorber tube ด้วยเพื่อให้เกิดการตกตะกอนของซัลไฟด์ (ถ้ามีซัลไฟด์จะมีตะกอนสีดำตกตะกอนอยู่ที่ก้น tube) แล้วต่อเข้ากับ Cold finger jacket (หมายเลข 2) ยึดให้ติดกันด้วยตัวหนีบ

4. ต่อสายน้ำเข้าและสายน้ำออกเข้ากับ Cold finger (หมายเลข 3)

5. ต่อสายจาก Absorber tube (หมายเลข 5) เข้ากับ Suction flask (หมายเลข 6)

6. ต่อสายจาก Suction flask (หมายเลข 6) ไปที่ขวดสุญญากาศ (หมายเลข 7)

7. ต่อสายจากขวดสุญญากาศ (หมายเลข 7)ไปที่ปั๊ม (หมายเลข 8)
8. เดินเครื่อง Suction (หมายเลข 8) และปรับวาล์วจนกระทั่งอัตราการเข้า Round flask (หมายเลข 1) ประมาณ 1-2 ฟอง/วินาที (ฟองอากาศต้องไม่ทำให้ระดับของเหลวใน Absorber tube (หมายเลข 5) สูงกว่า 6.5-10 มิลลิเมตร
หมายเหตุ : ถ้าฟองอัตราการเข้าใน Round flask น้อยเกินไปจะทำให้เกิดแรงดันภายในทำให้เกิดน้ำพุ่งออกจาก Round flask ออกทาง Inlet tube (หมายเลข 4) แก้ไข โดยปรับฟองอัตราการเข้า Round flask เพิ่มขึ้น
9. เติมสารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์ 10 มิลลิลิตร และสารละลายซิงค์อะซีเตท 10 มิลลิลิตร เข้าทาง Inlet tube (หมายเลข 4)
10. เติม Methyl red indicator 2-3 หยด และชะล้าง Inlet tube (หมายเลข 4) ด้วยน้ำกลั่น ถ้า Solution ไม่เป็นสีชมพูเติมกรดแอซิดจจนมีสีชมพูคงอยู่
11. เปิดเตาอย่าให้ไฟแรงจนน้ำเดือดถึงปากท่อคอนเดนเซอร์ (ระดับที่เหมาะสมคือมี Reflux rate 40-50 หยด/นาที) ต้มรีฟลักซ์นานไม่น้อยกว่า 1 ชั่วโมง (อย่าลืมเปิดน้ำหล่อเย็น) (ในการทดลองกลั่นไซยาไนด์ใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง)
12. ดับเตาแต่อย่าเพิ่งเลิก Suction ทิ้งให้เย็น 15 นาทีและเทของเหลว (น้ำไซยาไนด์) ใน Absorber tube (หมายเลข 5) ลงในขวดสะอาด ล้างท่อต่อระหว่างคอนเดนเซอร์และหลอดทดลองด้วยน้ำกลั่นและเก็บน้ำชะล้างรวมกับน้ำไซยาไนด์
13. เจือจางสารละลายที่ได้ด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 150 มิลลิลิตร นำไปหาด้วยวิธีไตเตรทต่อไป



ภาพที่ ผ.1 ชุดกลั่นไซยาไนด์

1.2 การวิเคราะห์ไซยาไนด์ด้วยวิธีการไตเตรท (Titration method)

สารเคมี

1. สารละลายอินดิเคเตอร์ : ละลาย p-dimethylaminobenzalrhodanine 20 มิลลิกรัม ในอะซีโตน 100 มิลลิลิตร
 2. สารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรท : ละลายซิลเวอร์ไนเตรท (AgNO_3) 3.27 กรัมในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร สารละลายนี้ต้องเทียบกับมาตรฐานกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์โดยวิธี Argentometric โดยใช้โพแตสเซียมโครเมต (K_2CrO_4) เป็นอินดิเคเตอร์ สารละลายนี้ 1.00 มิลลิลิตร = 1.00 มิลลิกรัม CN^-
 3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์: ละลาย NaOH 1.6 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร
- วิธีการวิเคราะห์
1. สารละลายที่ได้จากการกลั่นปริมาตร 150 มิลลิลิตร เติมสารละลายอินดิเคเตอร์ 0.25 มิลลิลิตร จะได้สีเหลือง เขย่าให้เข้ากัน
 2. ไตเตรทตัวอย่างน้ำด้วยสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท เมื่อถึงจุดยุติจะได้สีชมพูอมส้ม
 3. ทำแบลนด์โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และใส่สารเคมีทุกอย่างเหมือนกันตัวอย่างน้ำ แล้วนำไปไตเตรท

การคำนวณ

$$\text{มิลลิกรัม/ลิตร ของไซยาไนด์} = \frac{(A-B) \times 1000}{250} \times \frac{150}{\text{ปริมาตรที่กลั่นได้}}$$

A = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรทที่ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรทที่ไตเตรทกับแบลงค์ (มิลลิลิตร)

2. การวิเคราะห์ไซโอไซยานต (Thiocyanate: SCN⁻) ด้วยวิธีการเทียบสีด้วยเฟอร์ริกไนเตรท (Ferric nitrate) (APHA, AWWA, WPCF, 2005)

สารเคมี

1. สารละลายเฟอร์ริกไนเตรท (Ferric nitrate solution) : ละลาย Fe(NO₃)₃ · 9H₂O 404 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร และเติมกรดไนตริกเข้มข้น 80 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1000 มิลลิลิตร
2. สารละลายกรดไนตริก (Nitric acid solution) 0.1 นอร์มัล : ผสมกรดไนตริกเข้มข้น 6.4 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น
3. สารละลายสต็อกไซโอไซยานต (Stock thiocyanate solution): ละลายโพแตสเซียมไซโอไซยานต (KSCN) 1.673 กรัม ในน้ำกลั่นและเจือจางให้เป็น 1 ลิตร ; 1 มิลลิตร = 1 มิลลิกรัม SCN⁻
4. สารละลายมาตรฐานไซโอไซยานต (Standard thiocyanate solution) : สารละลายสต็อกไซโอไซยานต 10 มิลลิลิตร เจือจางเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น ; 1 มิลลิตร = 0.01 มิลลิกรัม SCN⁻
5. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide solution) 4 กรัม/ลิตร: ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร และเจือจางให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

การสร้างกราฟมาตรฐานไซโอไซยานต

1. เตรียมชุดของสารละลายมาตรฐานที่มีไซโอไซยานต 0.02 มก. ถึง 0.40 มก. โดยปิเปตจากสารละลายมาตรฐานโพแตสเซียมไซโอไซยานต ลงในขวดรูปชมพูนขนาด 200 มิลลิลิตรและเจือจางด้วยน้ำกลั่นผสมให้เข้ากัน และพล็อตกราฟการดูดกลืนแสง

การสร้างสี

2. ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการกรองหรือที่เจือจางเพื่อให้ความเข้มข้นของ SCN⁻ อยู่ระหว่าง 0.1 และ 2 มิลลิกรัม/ลิตร ปรับพีเอชให้เท่ากับ 2 โดยเติมกรดไนตริกเข้มข้น ปิเปตตัวอย่างมา 50 มิลลิลิตร และเติมเฟอร์ริกไนเตรท 2.5 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน ตรวจวัดการดูดกลืนแสง โดยใช้ความยาวคลื่นเท่ากับ 460 นาโนเมตร

3. ทำแบบลงค์โดยใช้ น้ำกลั่นและเติมสารเคมีทุกอย่างเหมือนกับตัวอย่าง
การคำนวณ

$$\text{มิลลิกรัม SCN/ลิตร} = (m_{a_1} + b) \times \text{dilution factor}$$

เมื่อ a_1 = absorbance of sample solution

3. การวิเคราะห์สังกะสี (Zinc: Zn) ด้วยวิธี Direct Air-Acetylene Flame (APHA, AWWA, WPCF, 2005)

เครื่องมือ

1. เครื่อง Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)
2. Zn Hallow cathode lamp

สารเคมี

1. น้ำกลั่นที่ปราศจากโลหะหนัก: ใช้น้ำนี้สำหรับเตรียมน้ำยาเคมี เตรียมสารละลายมาตรฐาน และการเจือจางตัวอย่าง

2. กรดไนตริก (Nitric Acid) เข้มข้น
3. สารละลายมาตรฐานสังกะสีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร \pm 4 มิลลิกรัม/ลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง (Sample preparation) : ตวงตัวอย่างมา 100 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริก เข้มข้น 5 มิลลิลิตร ใส่เม็ดแก้วแล้วนำไปตั้งบนเตาให้ความร้อน โดยทำให้สารละลายค่อยๆ เดือด และระเหยไปอย่างช้าๆ จนได้สารละลายใส ไม่มีสี ปริมาตร 10-20 มิลลิลิตร (อาจเติมกรดไนตริกเข้มข้น ได้้อีก) โดยให้กระบวนการย่อยสมบูรณ์ สังเกตจากสีสารละลายจะใส (ระวังอย่าให้แห้ง) จากนั้นให้กรองสารละลาย (หากจำเป็น) แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น หากตัวอย่างมีความเข้มข้นสูงควรทำการเจือจางตัวอย่างก่อนการวัดค่าด้วยเครื่อง AAS

2. การเตรียมกราฟมาตรฐาน: เตรียมสารละลายมาตรฐานสังกะสีที่เหมาะสมอย่างน้อย 4 ระดับให้มีความเข้มข้น และเติมกรดไนตริกเข้มข้น 1% ให้กับสารละลายมาตรฐาน นำตัวอย่างมาตรฐานที่ได้เข้าวิเคราะห์ตามวิธีใช้ของเครื่อง Atomic Absorption Spectrometer โดยวิธี Direct Air-Acetylene Flame Method แต่ละเครื่อง และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น

3. วิเคราะห์ตัวอย่าง: นำตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrometer โดยวิธี Direct Air-Acetylene Flame Method

การคำนวณ

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4. การวิเคราะห์แคดเมียม (Cadmium: Cd) ด้วยวิธี Direct Air-Acetylene Flame (APHA, AWWA, WPCF, 2005)

เครื่องมือ

1. เครื่อง Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)
2. Cd Hollow cathode lamp

สารเคมี

1. น้ำกลั่นที่ปราศจากโลหะหนัก: ใช้น้ำนี้สำหรับเตรียมน้ำยาเคมี เตรียมสารละลายมาตรฐาน และการเจือจางตัวอย่าง

2. กรดไนตริก (Nitric Acid) เข้มข้น
3. สารละลายมาตรฐานแคดเมียมความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม/ลิตร \pm 4 มิลลิกรัม/ลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง (Sample preparation) : ตวงตัวอย่างมา 100 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริก เข้มข้น 5 มิลลิลิตร ใส่เม็ดแก้วแล้วนำไปตั้งบนเตาให้ความร้อน โดยทำให้สารละลายค่อยๆ เดือด และระเหยไปอย่างช้าๆ จนได้สารละลายใส ไม่มีสี ปริมาตร 10-20 มิลลิลิตร (อาจเติมกรดไนตริกเข้มข้นได้อีก) โดยให้กระบวนการย่อยสมบูรณ์ สังเกตจากสีสารละลายจะใส (ระวังอย่าให้แห้ง) จากนั้นให้กรองสารละลาย (หากจำเป็น) แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น หากตัวอย่างมีความเข้มข้นสูงควรทำการเจือจางตัวอย่างก่อนการวัดค่าด้วยเครื่อง AAS

2. การเตรียมกราฟมาตรฐาน: เตรียมสารละลายมาตรฐานแคดเมียมที่เหมาะสมอย่างน้อย 4 ระดับให้มีความเข้มข้น และเติมกรดไนตริกเข้มข้น 1% ให้กับสารละลายมาตรฐาน นำตัวอย่างมาตรฐานที่ได้เข้าวิเคราะห์ตามวิธีใช้ของเครื่อง Atomic Absorption Spectrometer โดยวิธี Direct Air-Acetylene Flame Method แต่ละเครื่อง และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้น

3. วิเคราะห์ตัวอย่าง: นำตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrometer โดยวิธี Direct Air-Acetylene Flame Method

การคำนวณ

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

5. การวิเคราะห์ไบคาร์บอเนต (Bicarbonate: HCO_3^-) ด้วยวิธีการไตเตรท (Titration method) (APHA, AWWA, WPCF, 2005)

สารเคมี

1. น้ำที่ปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์: ต้มน้ำกลั่นให้เดือดและทิ้งให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องใช้น้ำนี้เพื่อเตรียมน้ำยาเคมีหรือสำหรับการเจือจาง
2. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์: ละลายฟีนอล์ฟทาลีน 5 กรัม ในเอทานอล 95% จำนวน 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้เป็น 1000 มิลลิลิตร
3. สารละลายเมทิลออเรนจ์: ละลายผงเมทิลออเรนจ์ 500 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นจำนวนเล็กน้อยแล้วเจือจางจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
4. สารละลายโซเดียมไฮโอซัลเฟต 0.1 นอร์มัล: ละลาย $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 25 กรัม ในน้ำกลั่นเจือจางได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร
5. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 0.05 นอร์มัล: อบโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 3-5 กรัม ที่อุณหภูมิ 250°C นาน 4 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถทำแห้ง ชั่ง Na_2CO_3 ที่อบแล้ว 2.45 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตรขนาด 1 ลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร อย่าเก็บสารละลายนี้ นานกว่า 1 สัปดาห์
6. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 1.00 นอร์มัล (เพื่อใช้สำหรับเตรียม 0.1 นอร์มัล และ 0.02 นอร์มัล)
 - 6.1) เตรียมกรดซัลฟูริกให้มีความเข้มข้นมากกว่า 1 นอร์มัล (ใช้กรดเข้มข้นประมาณ 30 มล. ละลายในน้ำ 1 ลิตร)
 - 6.2) ชั่งโซเดียมคาร์บอเนตที่อบแล้วประมาณ 1.00 - 1.10 กรัม ต้องทราบน้ำหนักที่แน่นอน ละลายในน้ำกลั่น 100 มล. ทำ 3 ครั้ง
 - 6.3) ไตเตรตด้วยกรดซัลฟูริกที่เตรียมโดยใช้อินดิเคเตอร์ผสมระหว่างบรอมครีซอลกรีนกับเมทิลเรดจากสีฟ้าให้เป็นสีชมพูอมส้ม จดปริมาตรที่ใช้แต่ละครั้ง (หาค่าเฉลี่ยปริมาตรกรดที่ใช้)
 - 6.4) คำนวณปริมาตรกรดที่ใช้ทำปฏิกิริยาพอดีกับโซเดียมคาร์บอเนต โดยโซเดียมคาร์บอเนต 1.06 กรัม จะทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดซัลฟูริก 1.0 นอร์มัล จำนวน 20 มิลลิลิตร เช่น ถ้าชั่ง Na_2CO_3 1.05 กรัม จะทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดซัลฟูริก 19.8 มิลลิลิตร
 - 6.5) คำนวณปริมาตรน้ำที่จะเติมให้สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกมีความเข้มข้น 1.00 นอร์มัลพอดี
 - 6.6) สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.100 นอร์มัล โดยเจือจางกรดซัลฟูริก 1.00 นอร์มัล จำนวน 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เทียบความเข้มข้นที่

แน่นอนด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.05 นอร์มัล จำนวน 40.0 มิลลิลิตร (ควรปรับให้ได้ความเข้มข้น 0.10 นอร์มัลพอดี)

6.7) สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.02 นอร์มัล โดยเจือจางกรดซัลฟูริก 1.00 นอร์มัล จำนวน 20.0 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร เทียบความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.05 นอร์มัล จำนวน 20.0 มิลลิลิตร (ควรปรับให้ได้ความเข้มข้น 0.10 นอร์มัลพอดี)

วิธีวิเคราะห์

การเลือกขนาดของตัวอย่าง

1. ให้เลือกปริมาตรของตัวอย่างและความเข้มข้นของไตเตรทให้เหมาะสม
2. สำหรับตัวอย่างที่มีค่าความเป็นด่างน้อยกว่า 1000 มิลลิกรัม/ลิตร หินปูน ให้เลือกปริมาตรตัวอย่างที่ให้ค่าความเป็นด่างน้อยกว่า 50 มิลลิกรัม/ลิตร หินปูน และไตเตรทด้วย 0.02 นอร์มัล ของ H_2SO_4 หรือ HCl
3. ในกรณีที่ตัวอย่างมีค่าความเป็นด่างมากกว่า 1000 มิลลิกรัม/ลิตร หินปูน ให้เลือกปริมาตรตัวอย่างที่ให้ค่าความเป็นด่างน้อยกว่า 250 มิลลิกรัม/ลิตร หินปูน และไตเตรทด้วย 0.1 นอร์มัล ของ H_2SO_4 หรือ HCl
4. สำหรับวิธีที่ใช้หาตัวอย่างที่มีค่าความเป็นด่างต่ำ ให้ไตเตรทด้วย 0.02 นอร์มัล H_2SO_4 โดยใช้ปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร

Phenolphthalein alkalinity (P)

1. หยดอินดิเคเตอร์สำหรับพีเอช 8.3 (ฟีนอล์ฟทาเลิน หรือ เมตาครีซอลเพอร์เฟิล) 3 หยดลงในตัวอย่างน้ำ 50 หรือ 100 มิลลิลิตร
2. ไตเตรทด้วย 0.02 นอร์มัล H_2SO_4 หรือ HCl จนอินดิเคเตอร์เปลี่ยนสีแสดงจุดสิ้นสุดของการไทเทรต คือกระทั่งสีชมพูของน้ำตัวอย่างหายไป
3. กรณีที่ใช้ฟีนอล์ฟทาเลินเป็นอินดิเคเตอร์ ถ้าหยดฟีนอล์ฟทาเลินลงในตัวอย่างแล้วไม่เกิดสีชมพู แสดงว่าไม่มีสภาพด่างฟีนอล์ฟทาเลิน จดปริมาตรกรดที่ใช้ โดยปกติถ้าพีเอชของตัวอย่างน้อยกว่า 8.3 จะไม่มีสภาพด่าง P

Total alkalinity (T)

1. หยดอินดิเคเตอร์สำหรับพีเอช 4.5 (เมทิลออเรนจ์หรือบรอมครีซอลกรีน) 3 หยดลงในสารละลายซึ่งได้ทำการหา Phenolphthalein alkalinity แล้ว (โดยใช้หยดฟีนอล์ฟทาเลินเป็นอินดิเคเตอร์) หรือใช้ตัวอย่างใหม่ในปริมาตรเท่าเดิม ไตเตรทด้วย 0.02 นอร์มัล H_2SO_4 หรือ HCl จนกระทั่งถึงจุดสมมูลย์
2. ในกรณีที่ใช้เมทิลออเรนจ์เป็นอินดิเคเตอร์จุดสมมูลย์ จะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีส้ม

3. จดปริมาตรที่ใช้ ถ้าใช้ตัวอย่างเดิมจากข้อ 2 ต้องคำนวณสภาพต่างทั้งหมดจากปริมาตรกรดรวมที่ได้จากข้อ 2 และข้อ 3

การคำนวณ

$$\text{Phenolphthalein alkalinity (P), มิลลิกรัม/ลิตร หินปูน} = \frac{A \times N \times 50000}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มล.)}}$$

$$\text{Total alkalinity (T), มิลลิกรัม/ลิตร หินปูน} = \frac{B \times N \times 50000}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มล.)}}$$

เมื่อ A คือ มิลลิลิตรของสารละลายกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทจนถึงจุดยุติของฟีนอล์ฟทาลีน

B คือ มิลลิลิตรของสารละลายกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทจนถึงจุดยุติของเมทิลออเรนจ์

N คือ นอร์มัลลิตีของสารละลายกรดมาตรฐาน

ตารางที่ ผ.1 การคำนวณหาค่าส่วนประกอบต่างๆของสภาพต่าง

กรณี	ผลการไตเตรท	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/ลิตร หินปูน)		
		ไฮดรอกไซด์	คาร์บอเนต	ไบคาร์บอเนต
1	P=0	0	0	T
2	P<T/2	0	2P	T-2P
3	P= T/2	0	2P	0
4	P> T/2	2P-T	2(T-P)	0
5	P=T	T	0	0

6. การวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (Ammonia-Nitrogen: $\text{NH}_3\text{-N}$) ด้วยวิธีการกลั่น (Distillation) และการไตเตรท (Titration method) (APHA, AWWA, WPCF, 2005)

สารเคมี

1. สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ (Borate buffer solution) : นำโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ จำนวน 88 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลายโซเดียมเตตราโบเรต ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) 500 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนียจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร (5 กรัม $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ หรือ 9.5 กรัม $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ต่อสารละลาย 1000 มิลลิลิตร)

2. สารละลายที่ใช้ปรับพีเอช

2.1) โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมล/ลิตร

2.2) กรดซัลฟิวริก 0.5 โมล/ลิตร

3. สารละลายกรดบอริก : ละลาย H_3BO_3 20 กรัม ในน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนียจนได้ ปริมาตร 1 ลิตร

4. มิกซ์อินดิเคเตอร์ : ละลายเมทิลเรดอินดิเคเตอร์ (Methyl red indicator) 200 มิลลิกรัมใน เอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 95) 100 มิลลิตร ละลายเมทิลินบลู 100 มิลลิกรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 95) 50 มิลลิตร แล้วผสมสารละลายทั้ง 2 ชนิดเข้าด้วยกัน สารละลายนี้ควรเตรียมทุกๆเดือน

ข้อสังเกต : สารละลายอินดิเคติงบอริกแอสซิจจะมีสีม่วงถ้าไม่มีแอมโมเนียละลายอยู่ ถ้ามี แอมโมเนียละลายอยู่จะได้สีเขียว แสดงว่าสารละลายนี้ใช้ไม่ได้ ให้เตรียมใหม่และควรเตรียมทุกๆ เดือน

5. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.01 โมล/ลิตร

6. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 6 โมล/ลิตร: ละลาย NaOH 240 กรัม ในน้ำกลั่นที่ปราศจาก แอมโมเนียจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิตร

วิธีการวิเคราะห์

1. สำหรับตัวอย่างน้ำที่เป็นกรดหรือด่าง ต้องปรับพีเอชให้เป็นกลางก่อนด้วยโซเดียม ไฮดรอกไซด์ 1 โมล/ลิตร หรือกรดซัลฟิวริก 0.5 โมล/ลิตร

2. ตวงตัวอย่างน้ำที่ได้ปรับพีเอชเป็นกลางแล้ว 100 มิลลิตร ลงในขวดเจลาทาล์ และใส่เม็ด แก้วลงไป 3-4 เม็ด

3. เติมสารละลายบอริคบัฟเฟอร์ 25 มิลลิตร ลงในตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์แล้วปรับ พีเอชให้ได้ 9.5 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 6 โมลาร์

4. นำไปกลั่น โดยต่อกับคอนเนคติงบัลบ์ ซึ่งจะต่อกับเครื่องควบแน่นอีกทีหนึ่ง โดยให้ปลาย ของเซฟตีบัลบ์จุ่มอยู่ใต้สารละลายจับแอมโมเนีย

5. เก็บส่วนที่กลั่นออกมาให้ได้ประมาณ 200 มิลลิตร ไว้ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิตร ที่มีสารละลายกรดบอริกอยู่ 50 มิลลิตร นำส่วนที่กลั่นได้นี้ไปหาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนด้วย วิธีการไตเตรท

6. ทำแบลนด์โดยใช้สารเคมีทุกอย่างเหมือนกับตัวอย่างน้ำ แล้วนำไปกลั่น

7. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.01 โมล/ลิตร เมื่อถึง จุดยุติจะได้สีม่วงอ่อน

การคำนวณ

$$\text{มิลลิกรัม/ลิตร แอมโมเนีย-ไนโตรเจน} = \frac{(A-B) \times 1000 \times M \times 28}{\text{ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการกลั่น (มล.)}$$

- เมื่อ A = มิลลิลิตรของกรดซัลฟิวริกมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่างน้ำ
 B = มิลลิลิตรของกรดซัลฟิวริกมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทกับแบลงค์
 M = โมล/ลิตร ของกรดซัลฟิวริกมาตรฐานที่ใช้

7. การวิเคราะห์ไนเตรท-ไนโตรเจน (Nitrate-Nitrogen: NO_3^- -N) ด้วยวิธีบรูซีน (Brucine Method) (APHA, AWWA, WPCF, 1995)

สารเคมี

1. สารละลายสต็อกไนเตรท : ละลาย Anhydrous KNO_3 721.8 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นแล้ว เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร สารละลายนี้ 1 มิลลิลิตร จะมีไนเตรท-ไนโตรเจน 0.1 มิลลิกรัม
2. สารละลายมาตรฐานไนเตรท-ไนโตรเจน: นำสารละลายสต็อกไนเตรทมา 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร สารละลายนี้ 1 มิลลิลิตรจะมีไนเตรท-ไนโตรเจน 1 ไมโครกรัม
3. สารละลายโซเดียมอาร์ซีไนต์ : ละลาย NaAsO_2 5 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

ข้อควรระวัง : ระวังเป็นพิษหลีกเลี่ยงการเข้าปาก

4. สารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิก (Brucine-sulfanilic acid solution) : ละลาย Brucine sulfate ($\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$) $\cdot\text{H}_2\text{SO}_4$ 1 กรัม และ Sulfanilic acid 0.1 กรัม ในน้ำร้อน 70 มิลลิลิตร เติมกรดเกลือเข้มข้น 3 มิลลิลิตร ทำให้เย็น เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้เก็บไว้ได้หลายเดือน สีชมพูที่ค่อยๆ เกิดขึ้นไม่มีผลต่อการวิเคราะห์

ข้อควรระวัง : ระวังเป็นพิษหลีกเลี่ยงการเข้าปาก

5. สารละลายกรดซัลฟิวริก: ค่อยๆเทกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 500 มิลลิลิตรลงในน้ำกลั่น 125 มิลลิลิตร ที่ละน้อยแล้วปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง ปิดจุกให้แน่นเพื่อกันความชื้นจากอากาศภายนอก

6. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ : ละลาย NaCl 300 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่างก่อนทำการทดลอง

ถ้าตัวอย่างน้ำมีคลอรีนอยู่ให้กำจัดออกก่อน โดยการเติมโซเดียมอาร์ซีไนต์ 1 หยด (0.05 มิลลิลิตร) ต่อคลอรีน 0.1 มิลลิกรัม แล้วใส่เพิ่มไปอีก 1 หยด ต่อตัวอย่างน้ำ 50 มิลลิลิตร

2. การทำให้เกิดสี

2.1) ปิเปตตัวอย่างน้ำ 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้ว และนำสารละลายมาตรฐาน

ในเตรทที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ใส่ลงในหลอดหลายๆหลอด เพื่อนำไปเตรียมกราฟมาตรฐาน แล้วทำให้เย็นโดยแช่ในอ่างน้ำแข็ง

2.2) เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน (ห้ามใช้เครื่องกวน เพราะจะทำให้ค่าที่ได้ผิดไป)

2.3) เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในอ่างน้ำแข็ง ถ้ามีความขุ่นหรือเกิดสีขึ้นในตอนนี้นำไปอ่านค่าทรานสมิตแดนซ์ จะเป็นค่าเบลนค์ของตัวอย่าง (Sample blank) และค่าเบลนค์ของสารละลาย (Reagent blank) แล้วนำไปวางในอ่างน้ำแข็งอีกครั้ง

2.4) เติมสารละลายบรูซัน-กรดซัลฟานิลิก 0.25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2.5) นำไปวางในเครื่องอองไอน้ำที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วให้นำมาแช่ในอ่างน้ำแข็งที่เย็นจนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง

2.6) นำไปวัดค่าทรานสมิตแดนซ์ ของสารละลายมาตรฐานในเตรทที่ความเข้มข้นต่างๆ และตัวอย่างน้ำ โดยนำค่าที่อ่านได้มาหักค่าที่ได้จากเบลนค์ของสารละลายกับเบลนค์ของตัวอย่างเสียก่อน แล้วจึงอ่านค่าความเข้มข้นของไนเตรท-ไนโตรเจนจากกราฟมาตรฐานของสารละลายไนเตรท

3. การเตรียมกราฟมาตรฐาน

การเตรียมกราฟมาตรฐานไนเตรทในช่วง 0-10.0 มิลลิกรัม/ลิตร แล้วเติมสารเคมีตั้งข้อ 2 เพื่อให้เกิดสี แล้วนำไปวัดค่าทรานสมิตแดนซ์ของสีจากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

การคำนวณ

$$\text{มิลลิกรัม/ลิตร ของไนเตรท-ไนโตรเจน} = \frac{\text{ไมโครกรัม ไนเตรท-ไนโตรเจน}}{\text{ตัวอย่างน้ำ (มล.)}}$$

$$\text{มิลลิกรัม/ลิตร ไนเตรท} = \text{มิลลิกรัม/ลิตร ไนเตรท-ไนโตรเจน} \times 4.43$$

8. การวิเคราะห์ซัลเฟต (Sulfate: SO_4^{2-}) ด้วยวิธีวัดความขุ่น (Turbidimetric method) (APHA, AWWA, WPCF, 2005)

สารเคมี

1. สารละลายบัฟเฟอร์ A : ละลาย $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 30 กรัม , $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 5 กรัม , KNO_3 1 กรัม และ CH_3COOH (99%) 20 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เจือจางจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

2. สารละลายบัฟเฟอร์ B (ต้องการเมื่อตัวอย่างมีซัลเฟตในความเข้มข้นน้อยกว่า 10 mg

SO_4^{2-}): ละลาย $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 30 กรัม, $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 5 กรัม, KNO_3 1 กรัม, Na_2SO_4 0.111 กรัม และ CH_3COOH (99%) 20 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เจือจางจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

3. แบริยมคอลลอยด์ : BaCl_2 ที่เป็นผลึกขนาด 20-30 mesh

4. สารละลายมาตรฐานซัลเฟต : เตรียมสารละลายมาตรฐานซัลเฟตใน 4.1 หรือ 4.2

4.1) เจือจาง 10.4 มิลลิลิตร สารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.02 นอร์มัล ให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4.2) ละลาย anhydrous Na_2SO_4 0.1479 กรัม ในน้ำกลั่น เจือจางจนได้ 1000 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. Formation of BaSO_4 Turbidity :

นำตัวอย่างมา 100 มิลลิลิตร หรือปริมาตรที่เหมาะสมแล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ 100 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ 20 มิลลิลิตร ผสมและคนโดยใช้เครื่อง ในขณะที่คน ค่อยๆ เติม BaCl_2 crystal 1 ช้อน และเริ่มจับเวลาทันที คนประมาณ 60 ± 2 วินาที ด้วยความเร็วคงที่ เมื่อถึงเวลาให้หยุดคนทันที

2. Measurement of BaSO_4 Turbidity :

หลังจากที่เวลาคนสิ้นสุดลง เทสารละลายลงใน Absorption cell ของสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ วัดค่าความขุ่นที่ 5 ± 5 วินาที ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

3. Preparation of calibration curve :

เตรียมสารละลายซัลเฟตที่มีความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 มิลลิกรัมต่อลิตร (ถ้ามากกว่า 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ความแน่นอนของวิธีนี้จะลดลง) โดยการปิเปต 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40 มิลลิลิตรของสารละลายซัลเฟตที่เตรียมไว้ใส่ในขวดรูปกรวยแล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และทำทุกอย่างเหมือนตัวอย่าง และตรวจสอบความน่าเชื่อถือได้ของ Standard curve โดยทำ Standard ทุกๆ 4 ตัวอย่าง

4. Correction of sample color and turbidity :

โดยทำแบล็กเหมือนตัวอย่างแต่ไม่ต้องเติม BaCl_2

การคำนวณ

$$\text{มิลลิกรัม/ลิตร ซัลเฟต} = \frac{\text{มก. SO}_4^{2-} \times 1000}{\text{ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (มล.)}}$$

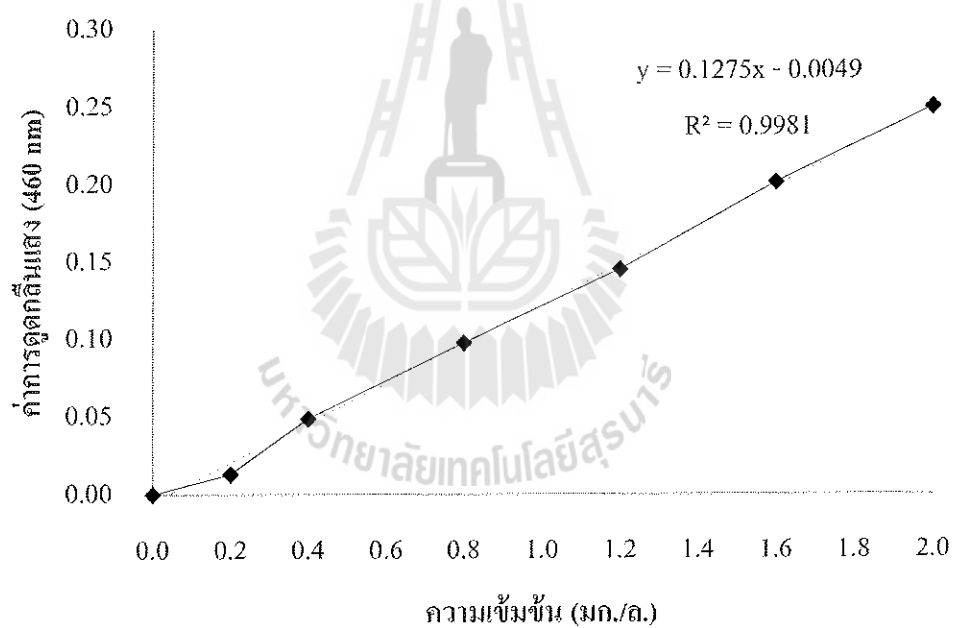


ภาคผนวก ข.

กราฟถาวรละลายมาตรฐาน

สารมาตรฐานไซโอไธยานต (Thiocyanate standard)

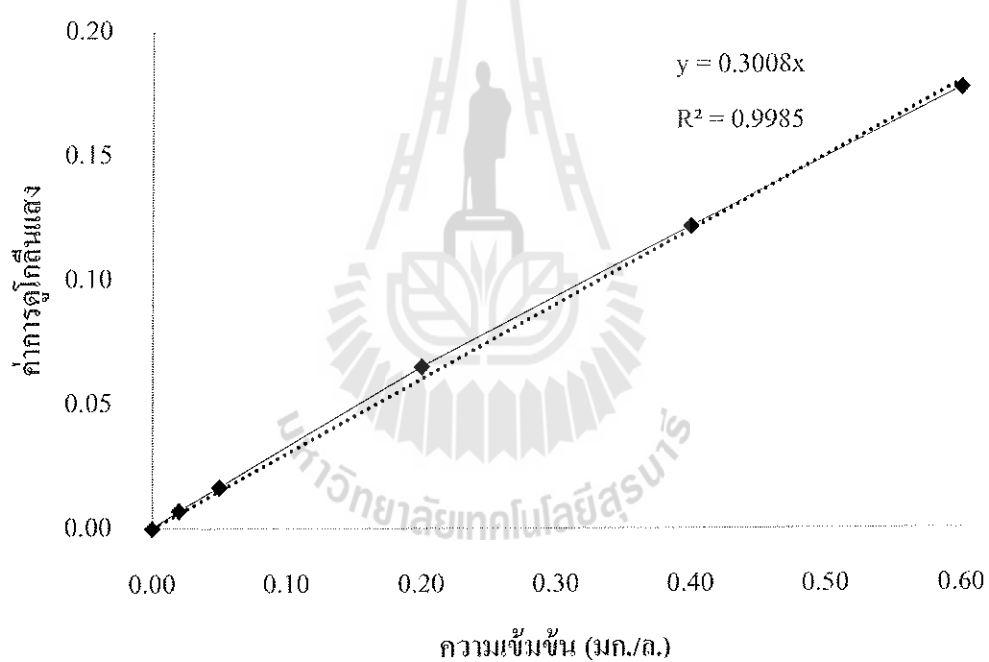
ความเข้มข้น (มก./ล.)	ค่าการดูดกลืนแสง (460 nm)
0.0	0.0000
0.2	0.0131
0.4	0.0489
0.8	0.0975
1.2	0.1452
1.6	0.2015
2.0	0.2499



ภาพที่ ๘.2 กราฟสารละลายมาตรฐานไซโอไธยานต (Thiocyanate: SCN^-)

สารละลายมาตรฐานสังกะสี (Zinc standard)

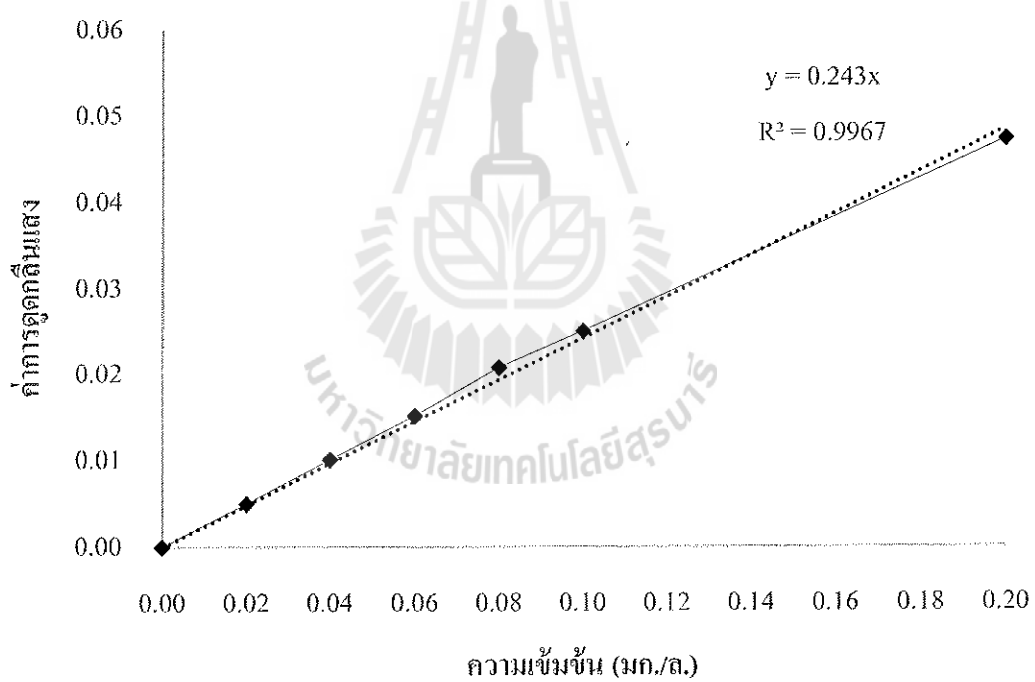
ความเข้มข้น (มก./ล.)	ค่าการดูดกลืนแสง
0.00	0.0000
0.02	0.0071
0.05	0.0166
0.20	0.0651
0.40	0.1218
0.60	0.1777



ภาพที่ ผ.3 กราฟสารละลายมาตรฐานสังกะสี (Zinc: Zn)

สารละลายมาตรฐานแคดเมียม (Cadmium standard)

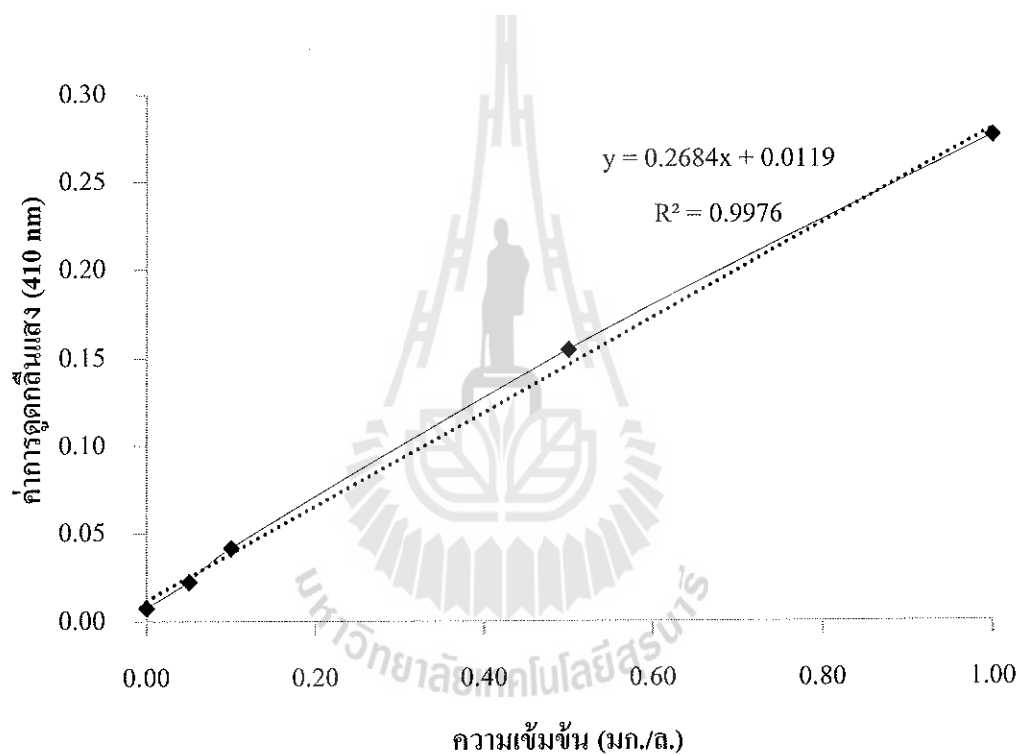
ความเข้มข้น (มก./ล.)	ค่าการดูดกลืนแสง
0.00	0.0000
0.02	0.0051
0.04	0.0101
0.06	0.0152
0.08	0.0209
0.10	0.0251
0.20	0.0473



ภาพที่ ๗.4 กราฟสารละลายมาตรฐานแคดเมียม (Cadmium: Cd)

สารละลายมาตรฐานไนเตรท (Nitrate standard)

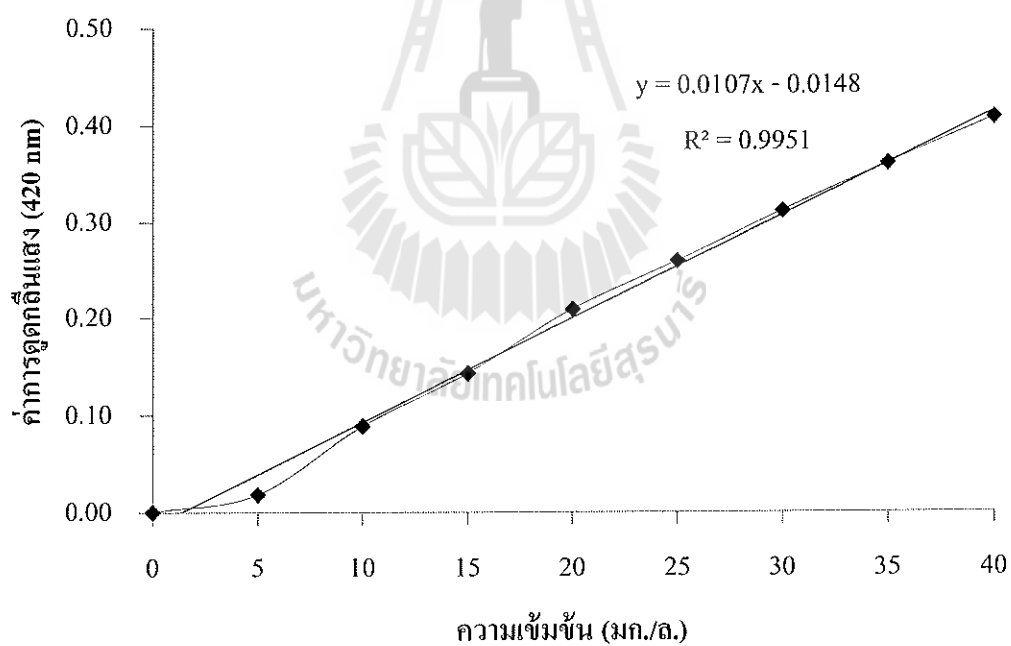
ความเข้มข้น (มก./ล.)	ค่าการดูดกลืนแสง (410 nm)
0.0	0.0077
0.05	0.0224
0.1	0.0417
0.5	0.1546
1	0.2759



ภาพที่ ๗.5 กราฟสารละลายไนเตรท (Nitrate: NO_3^-)

สารละลายมาตรฐานซัลเฟต (Sulfate standard)

ความเข้มข้น (มก./ล.)	ค่าการดูดกลืนแสง (420 nm)
0	0.0003
5	0.0183
10	0.0888
15	0.143
20	0.209
25	0.2593
30	0.3117
35	0.361
40	0.408



ภาพที่ ๘.๖ กราฟสารละลายซัลเฟต (Sulfate: SO_4^{2-})

ประวัติคณะผู้วิจัย

ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย

หัวหน้าโครงการ

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาว สิริภรณ์ โพธิวิชยานนท์

(ภาษาอังกฤษ) Miss Siraporn Potivichayanon

2. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

3. ที่อยู่หน่วยงาน

สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม สำนักวิชาแพทยศาสตร์

111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422-3936 โทรสาร 0-4422-3920 E-mail: siraporn@sut.ac.th,
possil2@yahoo.com

4. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2558 Certificate of International Program in Integrated Water Management training course, in the framework of the International program in Environmental Science, Saxion University of Applied Sciences, Deventer, the Netherlands. Supported by Netherlands Fellowship Programmes (NFP)

พ.ศ. 2551 Certificate of International Training Program in Ecological Alternatives in Sanitation, Stockholm Environment Institute, Sweden

พ.ศ. 2548 Ph.D. (Biology) International Program, Faculty of Science, Mahidol University

พ.ศ. 2541 วท.บ. (สาธารณสุขศาสตร์) สาขาวิชาวิทยาศาสตร์อนามัยสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยมหิดล

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

Odor treatment, Biodegradation and Bioremediation, Ecological sanitation

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ :

6.1 หัวหน้าโครงการวิจัย:

เรื่องที่ 1 Removal of hydrogen sulfide by fixed-film bioscrubber

เรื่องที่ 2 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์

เรื่องที่ 3 Water management and sanitation in a community

เรื่องที่ 4 การประเมินความเสี่ยงของการนำน้ำเสียจากชุมชนขนาดเล็กที่ผ่านบำบัดแล้ว มาใช้ในการเพาะปลูก ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2551 (งบเร่งด่วน)

- เรื่องที่ 5 การพัฒนาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการกำจัดกลิ่นโดยใช้ระบบฟิکش-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์
- เรื่องที่ 6 การผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์โดยเชื้อจุลินทรีย์
- เรื่องที่ 7 การพัฒนาความสามารถของระบบฟิکش-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์
- 6.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :
- เรื่องที่ 1 Removal of hydrogen sulfide by fixed-film bioscrubber. (ผู้วิจัยหลัก)
แหล่งทุน Asian Development Bank (ADB)
- เรื่องที่ 2 Optimization of bioscrubber system for hydrogen sulfide removal. (ผู้ช่วยวิจัย)
แหล่งทุน Asian Development Bank (ADB)
- เรื่องที่ 3 การประเมินห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทดสอบตามแนวทางปฏิบัติที่ดีที่สุดของห้องปฏิบัติการ: กรณีการชะแคะเมี่ยมและตะกั่วจากภาชนะเซรามิก
ห้องปฏิบัติการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี: ภายใต้งานโครงการพัฒนารอบนโยบายการเพิ่มศักยภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์เพื่อการเสริมสร้างความเข้มแข็งของอุตสาหกรรมของประเทศไทยในการรับรองผลกระทบจากการประกาศใช้ระเบียบว่าด้วยสารเคมี (REACH) ของสหภาพยุโรป (ผู้ร่วมวิจัย)
แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
- เรื่องที่ 4 Water management and sanitation in a community (ผู้วิจัยหลัก)
แหล่งทุน ภายใต้งานความร่วมมือ การแนะนำและปรึกษาของ Swedish International Development Cooperation Agency (Sida) ใน โปรแกรม International Training Programme (ITP) in Ecological Alternatives in Sanitation โดย Stockholm Environment Institute (SEI)
- เรื่องที่ 5 การประเมินความเสี่ยงของการนำน้ำเสียจากชุมชนขนาดเล็กที่ผ่านบำบัดแล้วมาใช้ในการเพาะปลูก
แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2551 (งบเร่งด่วน)
- เรื่องที่ 6 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์
แหล่งทุน เงินอุดหนุนการวิจัยเพื่อสนับสนุนการสร้างและพัฒนาักวิจัยรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เรื่องที่ 7 การพัฒนาความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ในการกำจัดกลิ่นโดยใช้ระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์

แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2553

เรื่องที่ 8 การผลิตเอทานอลจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์โดยเชื้อจุลินทรีย์

แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2553

6.3 งานวิจัยที่กำลังทำ :

เรื่องที่ 1 การพัฒนาความสามารถของระบบฟิกซ์-ฟิล์มไบโอสครับเบอร์

แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2554

สถานภาพ เสร็จสิ้นร้อยละ 90

งานตีพิมพ์เผยแพร่

- Potivichayanon S, Pokethitiyook P, Kruatrachue M. 2006. Hydrogen sulfide removal by a novel fixed-film bioscrubber system, *Process Biochem* 41: 708-715.
- Potivichayanon S and Chuersuwan N. 2009. Greywater management and reuse for plant irrigation: A case study of Ban Laloommoa Village in Thailand. *Proceedings of the 11th International Conference on Environmental Science and Technology*. Chania, Crete, Greece. P.745-752.
- Potivichayanon S and Kitleartpompairoat R. 2010. Biodegradation of cyanide by a novel cyanide-degrading bacterium. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 66: 1376-1379.
- Potivichayanon S, Sungmon T, Chaikongmao W, Kamvanin S. 2011. Enhancement of biogas production from bakery waste by *Pseudomonas aeruginosa*. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 80: 529-532.
- Potivichayanon S and Phaisanthia K. 2013. Ethanol production from carbon-rich gases by a new mixed culture of bacteria. *Proceeding of International Conference on Engineering and Applied Science*. Tokyo, Japan. P.1304-1309.
- Phaisanthia K, Potivichayanon S, Chuersuwan N, Meevasana K. 2013. Removal of heavy metals from electroplating wastewater by cassava peel waste. (Best Paper Award). *Proceeding of International Conference on Environmental Protection and Renewable Energy*. Pataya, Thailand. P.125-130.

- Potivichayanon S and Kitleartpornpaioat R. 2014. Degradation of cyanide to ammonia and nitrate by mixed culture of *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 and *Pseudomonas monteilii* SUTS 2. Proceeding of the European Conference on Sustainability, Energy & the Environment. Brighton, United Kingdom. P. 251-264.
- Supromin N, Potivichayanon S, Toensakes R. 2015. Degradation of metal cyanide from real electroplating wastewater by mixed culture of SUTS 1 and SUTS 2. (Best Paper Award). 3rd International conference on biological, chemical & environmental sciences (BCES-2015). Kuala Lumpur, Malaysia. 3: 75-80.

บทความวิชาการ

- สิริภรณ์ โพธิ์วิชยานนท์ 2553. รู้หรือไม่ว่า น้ำเสียจากครัวเรือนที่ผ่านการบำบัดแล้วนำมาใช้ในการเพาะปลูกพืชได้ดี วารสารอนามัยสิ่งแวดล้อม ปีที่ 12 ฉบับที่ 3 เมษายน-มิถุนายน 2553 หน้า 67-71.



ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นาย ประพัฒน์ เป็นตามวา

(ภาษาอังกฤษ) **Mr. PRAPAT PENTAMWA**

2. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

3. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้

สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี

สุรนารี 111 ถนนมหาวิทยาลัย ต. สุรนารี อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

หมายเลขโทรศัพท์ 044-223941 โทรสาร 044-223920

E-mail: prapat@sut.ac.th

4. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี วทบ. (สาธารณสุขศาสตร์) สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สุขภาพ (เกียรติ
นิยมอันดับสอง) สถาบัน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีที่สำเร็จ 2539

ปริญญาโท MSc. สาขาวิชา Environmental Technology and Management
สถาบัน Asian Institute of Technology ปีที่สำเร็จ 2544

ปริญญาเอก PhD. สาขาวิชา Environmental Engineering and Management
สถาบัน Asian Institute of Technology ปีที่สำเร็จ 2551

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ มลพิษทางอากาศ สารเคมีกำจัดแมลงภายในบ้าน

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

6.1 หัวหน้าโครงการวิจัย :

6.1.1 โครงการวิจัยเรื่อง Potential exposure to airborne pesticides in homes: a
case study in Bangkok Metropolitan Region.

6.1.2 โครงการวิจัยเรื่อง Air Quality in Southern Thailand during the 2005 haze
episode

6.1.3 โครงการวิจัยเรื่อง Levels and phase distribution of airborne
polychlorinated biphenyls (PCBs) in the Bangkok Metropolitan Region

6.1.4 โครงการวิจัยเรื่อง การประยุกต์ใช้ระบบวิเคราะห์อันตรายในจุดวิกฤตที่ต้อง
ควบคุม (HACCP) ในโรงอาหาร

6.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว:

6.2.1 โครงการวิจัยเรื่อง Potential exposure to airborne pesticides in homes: a case
study in Bangkok Metropolitan Region. (หัวหน้าโครงการวิจัย)

การประชุมวิชาการ

- 1) Pentamwa, P. and Kim Oanh, N.T. (2006). *Air Quality in Southern Thailand during the 2005 haze episode*. In the Proceedings of the Better Air Quality (BAQ) 2006 Workshop 13-15 December 2006 Yogyakarta, Indonesia (oral presentation).
6.2.3 โครงการวิจัยเรื่อง Levels and phase distribution of airborne polychlorinated biphenyls (PCBs) in the Bangkok Metropolitan Region (หัวหน้าโครงการ)
- 2) Pentamwa, P. and Kim Oanh, N.T. (2007). *Levels of persistent organic pollutants (POPs) in homes in Bangkok metropolitan region, Thailand*. In the Proceedings of 12th International Pacific Basin Consortium for Environment and Health Sciences (PBC) Conference October 26-29, 2007 in Beijing, China (oral presentation).
- 3) Pentamwa, P. and Kim Oanh, N.T. (2007). *Indoor Persistent Organic Pollutants in Homes in Bangkok Metropolitan Region, Thailand*, In the Proceedings of the International Conference on Air Quality Management in Southeast Asia., 21-23 November 2007, Ho Chi Minh city, Vietnam (oral presentation).
- 4) Pentamwa, P. and Kim Oanh, N.T. (2007). *Indoor Persistent Organic Pollutants in Homes in Bangkok Metropolitan Region, Thailand*, In the Annual Review Workshop on Asian Regional Research Programme on Environmental Technology Phase II (ARRPET II), November 12-14, 2007, AIT, Thailand (poster presentation).
- 5) Pentamwa, P. and Kim Oanh, N.T. (2007). *Indoor Persistent Organic Pollutants in Homes in Bangkok Metropolitan Region, Thailand*, In the Proceedings of the International Conference on Air Quality Management in Southeast Asia., 21-23 November 2007, Ho Chi Minh city, Vietnam (poster presentation).
- 6) Pentamwa, P. and Kim Oanh, N.T. (2008). *Particulate Matter and Associated Heptachlor in the indoor and outdoor air in Bangkok Homes and Vicinity, Thailand*, In the Proceedings of the Better Air Quality (BAQ) 2008 Workshop 12-14 November 2008 Bangkok, Thailand (poster presentation).
- 7) Pentamwa, P. and Kim Oanh, N.T. (2008). *Potential Exposure to Airborne Pesticides in Homes: A Case Study in Bangkok Metropolitan Region, Thailand*,

in the ERTC and AIT In-house Seminar on Exchange of Knowledge and Experience with emphasis on research and environmental technology development, 8 December 2008 at the Environmental Research and Training Center (ERTC), Thailand (oral presentation)

- 8) **Pentamwa, P. and Kim Oanh, N.T. (2009). *Dissipation of household pyrethroid pesticides in topical homes***: In the 13th international conference of the Pacific Basin Consortium for Environmental and Health, 19th-24th November 2009, Perth, Australia (oral presentation).
- 9) **Pentamwa, P. (2009). *Concentrations of Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the Ambient air of the Bangkok Metropolitan Region (BMR), Thailand*** In the Proceedings of the 8th Thailand National Environmental Conference, 25-27 March 2009, Nakornratchasima, Thailand (oral presentation).

6.2.4 โครงการวิจัยเรื่อง Effect of PM (10) pollution in Bangkok on children with and without asthma. (ผู้ร่วมวิจัย)

- 10) **Pentamwa, P. and Kim Oanh, N.T. (2010). *Implication of climate change on human exposure to household pesticides***: In the international conference workshop of Livelihood and health impact of the climate change Community adaptation strategies, 24th-25th August 2010, Khon Kaen, Thailand (oral presentation).

6.2.2 โครงการวิจัยเรื่อง Air Quality in Southern Thailand during the 2005 haze episode (หัวหน้าโครงการ)

ผลงานตีพิมพ์

- 1) Preutthipan, A., Udomsubpayakul, U., Chaisupamongkollarp, T., Pentamwa, P. (2004). ***Effect of PM (10) pollution in Bangkok on children with and without asthma***. *Pediatric pulmonology*, vol. 37(3), 187-192.
- 2) Pentamwa, P. and Kim Oanh, N.T. (2008). ***Levels of Pesticides and PCBs in Selected Homes in Bangkok Metropolitan Region, Thailand***. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1140, Environmental Challenges in the Pacific Basin, 91-112.
- 3) Pentamwa, P. and Kim Oanh, N.T. (2008). ***Air Quality in Southern Thailand during Haze Episode in relation to Air Mass Trajectory, Songklanakarin*** *Journal of Science and Technology*, 30(4), 539-546.

6.3 งานวิจัยที่กำลังทำ:

- 1) การประยุกต์ใช้ระบบวิเคราะห์อันตรายในจุดวิกฤตที่ต้องควบคุม (HACCP) ในโรงอาหาร (ทุนสนับสนุนการสร้างและพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ มทส.)



ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวรุจิรัตน์ กิจเลิศพรไพโรจน์

(ภาษาอังกฤษ) Miss Rujirat Kitleartpornpairat

2. ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์

3. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422-3973 โทรสาร 0-4422-3972 E-mail : rujirata@sut.ac.th

4. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2545 วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยบูรพา

พ.ศ. 2540 วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยบูรพา

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Water and Waste water Analysis

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ : ระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอโครงการวิจัย เป็นต้น

6.1 งานวิจัยที่ทำสำเร็จแล้ว :

เรื่องที่ 1 การย่อยสลายมาลาโคไนท์กรีน โดยใช้ Activated sludge (ผู้วิจัยหลัก)

แหล่งทุน Asian Development Bank (ADB)

เรื่องที่ 2 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์ (ผู้ช่วยวิจัย)

แหล่งทุน เงินอุดหนุนการวิจัยเพื่อสนับสนุนการสร้างและพัฒนาวิจัยรุ่นใหม่
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เรื่องที่ 3 การศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และชีวภาพในบริเวณพื้นที่ปกปัก
พันธุ์กรรมพืช อพ.สธ. เขื่อนน้ำพุง จังหวัดสกลนคร (ผู้ช่วยวิจัย)

แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2555

งานตีพิมพ์เผยแพร่

- Potivichayanon S and Kitleartpornpairat R. 2010. Biodegradation of cyanide by a novel cyanide-degrading bacterium. Proceedings of ICEESD 2010 International Conference on Energy, Environment, Sustainable Development in World Academy of Science, Engineering and Technology. Paris, France. 66: 606-609.

ประวัติผู้ช่วยโครงการวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวรัตนา เทินสะเกษ

(ภาษาอังกฤษ) Miss Rattana Toensakes

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 1 3001 00101 xx x

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยวิจัย

4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

สาขานามยสังเวดล้อม สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422-3963 E-mail : rattana.t58@gmail.com

5. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2556-ปัจจุบัน กำลังศึกษา วท.ม. (มลพิษสิ่งแวดล้อมและความปลอดภัย) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

พ.ศ. 2553 วท.บ. (อนามยสังเวดล้อม) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ : ระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอโครงการวิจัย เป็นต้น

6.1 งานวิจัยที่ทำสำเร็จแล้ว :

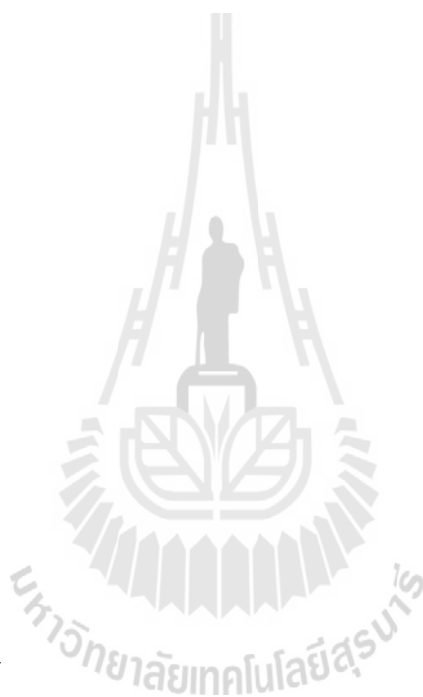
เรื่องที่ 1 การศึกษาคุณภาพน้ำทางกายภาพ เคมี และชีวภาพในบริเวณพื้นที่ปกปัก
พันธุ์กรรมพืช อพ.ศธ. เขื่อนน้ำพุง จังหวัดสกลนคร (ผู้ช่วยวิจัย)

แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2555

งานตีพิมพ์เผยแพร่

- Moungnak N, Chimmaj J, Toensakes R, Katramee A, Manatsakan S, Sukton B, Wongkloim T, Chucrsuwan N. 2014. Estimating daily exposure factors among Thai s' students : A case in an university in Northeastern Thailand. International conference on public health among the greater Mekhong sub-regional countries. Khon kean, Thailand. 6 : 197.
- Supromin N, Potivichayanon S, Toensakes R. 2015. Degradation of metal cyanide from real electroplating wastewater by mixed culture of SUTS 1 and SUTS 2. 3rd International conference on biological, chemical & environmental sciences (BCES-2015). Kuala lumpur, Malaysia. 3: 75-80.
- Toensakes R, Potivichayanon S, Supromin N. 2015. Screening and identification of biodegradable plastic polyhydroxyalkanoate-producing strains by rapid viable-colonies straining

- method. The 41th congress on science and technology of Thailand (STT41). Nakhon Ratchasima, Thailand.
- Katramee A, Toensakes R, Potivichayanon S. 2015. Biodegradation of oil and grease from synthetic wastewater by local isolation lipid degrading microorganism. The 41th congress on science and technology of Thailand (STT41). Nakhon Ratchasima, Thailand.



ประวัติผู้ช่วยโครงการวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาวนุชจลี สุพรหมอินทร์

(ภาษาอังกฤษ) Miss Nootjalee Supromin

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 1 4205 00060 xx x

3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยวิจัย

4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

สาขานาโนสิ่งแวดลอม สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422-3963 E-mail: Nootjalee_nat@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2555-ปัจจุบัน กำลังศึกษา วท.ม. (มลพิษสิ่งแวดล้อมและความปลอดภัย) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

พ.ศ. 2555 วท.ม. (อนาณัติสิ่งแวดล้อม) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
งานตีพิมพ์เผยแพร่

- Supromin N., Potivichayanon S, Toensakes R. 2015. Degradation of metal cyanide from real electroplating wastewater by mixed culture of SUTS 1 and SUTS 2. 3rd International conference on biological, chemical & environmental sciences (BCES-2015). Kuala Lumpur, Malaysia. 3: 75-80.
- Toensakes R, Potivichayanon S, Supromin N. 2015. Screening and identification of biodegradable plastic polyhydroxyalkanoate-producing strains by rapid viable-colonies straining method. The 41th congress on science and technology of Thailand (STT41). Nakhon Ratchasima, Thailand.