รหัสโครงการ SUT6-617-50-12-90

รายงานการวิจัย

การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์

(Microbial degradation of cyanide)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ดร. สิราภรณ์ โพธิวิชยานนท์

สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม

สำนักวิชาแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2550

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ 2550 ซึ่งสำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ประหยัด โภคฐิติยุกต์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและความเห็นทางวิชาการอันเป็นประโยชน์ ทำให้ผลงานวิจัยฉบับนี้มีความสมบูรณ์ครบถ้วนมากยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ได้ให้โอกาสและให้การสนับสนุนแก่นักวิจัยในการศึกษาวิจัย ทำให้งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานการวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์และเป็นแนวทางหนึ่งในการนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์แก่วงการวิจัยและโรงงานอุตสาหกรรมต่อไป

สิราภรณ์ โพธิวิชยานนท์

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ได้ และเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์แต่ละชนิดและแบบรวมกลุ่มในการย่อยสลายไซยาไนด์ โดยทำการคัดแยกจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีไซยาไนด์ปนเปื้อน ได้ 2 ชนิดคือ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ชนิดใหม่ที่พบว่าสามารถย่อยสลายไซยาไนด์ได้ เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์พบจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มมีจำนวนมากที่สุดประมาณ 5.3×10^8 CFU/ml เจริญเติบโตภายในระยะเวลาเพียง 2 วันแรกของการศึกษา ขณะที่เชื้อ SUTS 1 มีการเจริญเติบโตในช่วงวันที่ 4 ของการศึกษาโดยมีจำนวนเซลล์ประมาณ 4.7×10^8 CFU/ml ส่วน SUTS 2 มีจำนวนเซลล์น้อยที่สุดนั่นคือประมาณ 2.0×10^8 CFU/ml และเจริญเติบโตในระยะเวลา 3 วันของการศึกษา หลังจากนั้นนำมาศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1, SUTS 2 และแบบรวมกลุ่ม ในระยะเวลา 7 วันและ 15 วัน โดยทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์ที่เหลืออยู่ แอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรท์ ค่าความเป็นกรดด่าง และจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ พบว่า เชื้อ SUTS 1 และSUTS 2 สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรเหลือเพียง 3.13 และ 4.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ประสิทธิภาพการย่อยสลายคิดเป็น 87.50% และ 84.00% ส่วนจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มมีประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์เกือบ 100% ซึ่งตรวจไม่พบปริมาณไซยาไนด์เหลืออยู่ เมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้นเป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อ SUTS 1 และจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มยังคงมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์เช่นเดิม ขณะที่เชื้อ SUTS 2 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์ลดลงคิดเป็น 75.00% พบปริมาณไซยาไนด์เหลืออยู่ 12.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเป็น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อ SUTS 1 เชื้อ SUTS 2 มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นในการย่อยสลายไซยาไนด์คิดเป็น 97.90% และ 98.17% ขณะที่จุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มมีประสิทธิภาพเพียง 77.33% ซึ่งยังคงพบปริมาณไซยาไนด์เหลืออยู่ 34 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ทุกชนิดพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นไซยาไนด์น้อย นอกจากนั้นปริมาณแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้ส่วนใหญ่มีปริมาณมากขึ้นตามการย่อยสลายไซยาไนด์ที่เพิ่มขึ้น และไนเตรทมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณแอมโมเนียมีค่าลดลง แต่ค่าไนไตรท์ตรวจไม่พบในการศึกษาทุกการศึกษา ส่วนค่าความเป็นกรดด่างพบว่ามีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์สูงขึ้น โดยมีค่าอยู่ในช่วง 7.1-7.2 หากความเข้มข้นของไซยาไนด์อยู่ที่ 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าอยู่ในช่วง 7.3-7.4 หากความเข้มข้นของไซยาไนด์อยู่ที่ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นสรุปได้ว่า *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1, *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 และจุลินทรีย์แบบรวมกลุ่มมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์

Abstract

The objectives of this research were to identify cyanide-degrading microorganisms and study cyanide removal efficiency of each microorganism and mixed culture. *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 and *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 were isolated from cassava industry wastewater treatment plant contaminated with cyanide. These are the new strains of microorganisms for cyanide degradation. The microbial growth indicated that the maximum growth rate of mixed culture was approximately 5.3×10^8 CFU/ml within 2 days whereas the growth rate of SUTS 1 was approximately 4.7×10^8 CFU/ml within 4 days and SUTS 2 was 2.0×10^8 CFU/ml within 3 days of incubation. Then, the cyanide removal efficiency of each microorganism was studied at 25, 50, and 150 mg/L of cyanide on 7 and 15 days of study. The residual cyanide, ammonia, nitrate, nitrite, pH, and cell counts were analyzed. SUTS 1 and SUTS 2 had approximately 87.50% and 84.00% removal efficiency, respectively, at 25 mg/L of cyanide whereas the mixed culture exhibited the optimum efficiency for cyanide degradation that was almost 100% with no residual cyanide. At 50 mg/L of cyanide, SUTS 1 and the mixed culture still revealed the same removal efficiency as previously whereas SUTS 2 revealed the decreasing removal efficiency that was 75.00% with 12.5 mg/L of residual cyanide. At 150 mg/L of cyanide, SUTS 1 and SUTS 2 enhanced the cyanide removal efficiency up to 97.90% and 98.17%, respectively, whereas the removal of the mixed culture dropped to 77.33% with 34 mg/L of residual cyanide. Cell counts of microorganisms increased when the cyanide concentration was low. In addition, the ammonia concentrations increased when the removal efficiency was high. The nitrate concentrations increased when the ammonia decreased but the nitrite did not detect in all experiments. pH values were in the range of 7.1 to 7.2 when the cyanide concentrations were set in 25 and 50 mg/L whereas they were in the increasing range of 7.3 to 7.4 when the cyanide concentration were set in 150 mg/L. All the results indicated that *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1, *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 and the mixed culture had the efficiency for cyanide removal.

คำสำคัญ (Keywords): ไซยาไนด์ (Cyanide) การย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ (Microbial degradation) จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ (Cyanide-degrading microorganisms) ประสิทธิภาพการย่อยสลาย (Removal efficiency) ปริมาณไซยาไนด์ที่เหลืออยู่ (Residual cyanide)

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฌ
คำอธิบายสัญลักษณ์	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์	2
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.5 กรอบแนวความคิด	2
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	
2.1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับมันสำปะหลัง	4
2.1.1 ลักษณะทั่วไปทางพฤกษศาสตร์	5
2.1.2 การแพร่กระจาย	7
2.1.3 แหล่งและปริมาณการเพาะปลูก	7
2.1.4 สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเพาะปลูก	8
2.1.5 การเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลัง	9
2.1.6 การใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลัง	10
2.2 ไซยาไนด์กับมันสำปะหลัง	11
2.2.1 พันธุ์มันสำปะหลังจำแนกตามปริมาณไซยาไนด์	11
2.2.2 ไซยาไนด์ในมันสำปะหลัง	12
2.2.3 ความแปรปรวนของไซยาไนด์ในมันสำปะหลัง	16
2.2.4 วิธีลดปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลัง	17

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3 ไซยาไนด์	19
2.3.1 สารประกอบไซยาไนด์	19
2.3.2 แหล่งกำเนิดไซยาไนด์	21
2.3.3 ความเป็นพิษของไซยาไนด์	22
2.3.4 การวิเคราะห์ไซยาไนด์	23
2.4 การบำบัดไซยาไนด์	24
2.4.1 การบำบัดไซยาไนด์โดยกระบวนการทางเคมี	24
2.4.2 การบำบัดไซยาไนด์โดยการตกตะกอน	26
2.4.3 การบำบัดไซยาไนด์โดยการสลายด้วยไฟฟ้า	26
2.4.4 การบำบัดไซยาไนด์โดยกระบวนการทางชีวภาพ	26
2.4.5 วิธีอื่นๆ ที่ใช้ในการบำบัดไซยาไนด์	30
2.5 เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์	30
2.5.1 ประเทศไทย	30
2.5.2 ประเทศสหรัฐอเมริกา	32
2.5.3 เกณฑ์อื่นๆ	38
บทที่ 3 ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 จุลินทรีย์ในการทดลอง	40
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	40
3.3 การคัดแยกจุลินทรีย์	40
3.4 การทดลอง	41
3.5 การวิเคราะห์	41
3.6 การศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์	41
3.7 การคำนวณประสิทธิภาพของการย่อยสลายไซยาไนด์	41
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 การคัดแยกและบ่งชี้ชนิดของจุลินทรีย์	42
4.2 ผลการศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์แต่ละชนิด	42

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์	44
4.3.1 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อ SUTS 1	44
4.3.2 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อ SUTS 2	50
4.3.3 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อ Mixed culture	55
บทที่ 5 อภิปรายผล	
5.1 จุลินทรีย์ในการศึกษาวิจัย	60
5.2 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์	60
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
6.1 การคัดแยกและบ่งชี้ชนิดจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไซยาไนด์	63
6.2 การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายไซยาไนด์	63
6.3 ข้อเสนอแนะ	65
บรรณานุกรม	66
ภาคผนวก	76
ภาคผนวก ก	77
ภาคผนวก ข	82
ภาคผนวก ค	84
ประวัตินักวิจัย	90

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2-1	ส่วนประกอบหลักในหัวมันสำปะหลัง	10
ตารางที่ 2-2	องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อมันสำปะหลัง	11
ตารางที่ 2-3	อุตสาหกรรมที่ใช้สารประกอบไซยาไนด์	21
ตารางที่ 2-4	ปฏิกิริยาการออกซิเดชันสารประกอบไซยาไนด์	26
ตารางที่ 2-5	ระบบเอนไซม์และการย่อยสลายไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์	29
ตารางที่ 2-6	เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ในประเทศไทย	30
ตารางที่ 2-7	เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ	32
ตารางที่ 2-8	เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตใต้น้ำ	35
ตารางที่ 2-9	เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ในแหล่งน้ำประเภทต่างๆ	38
ตารางที่ 4-1	ลักษณะทั่วไปของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาวิจัย	42
ตารางที่ 4-2	จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิด	43
ตารางที่ 4-3	การศึกษาทดลองชุดควบคุม (Control experiment)	44
ตารางที่ 4-4	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรของเชื้อ SUTS 1	45
ตารางที่ 4-5	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรของเชื้อ SUTS 1	46
ตารางที่ 4-6	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตรของเชื้อ SUTS 1	48
ตารางที่ 4-7	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรของเชื้อ SUTS 2	50
ตารางที่ 4-8	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรของเชื้อ SUTS 2	52
ตารางที่ 4-9	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตรของเชื้อ SUTS 2	53
ตารางที่ 4-10	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรของเชื้อ Mixed culture	55

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 4-11	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรของเชื้อ Mixed culture	57
ตารางที่ 4-12	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตรของเชื้อ Mixed culture	58

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 2-1	การเคลื่อนย้ายสารไซยาโนจินิคกลูโคไซด์ในมันสำปะหลัง	13
ภาพที่ 2-2	สูตรโครงสร้างของลินามาริน และโลตาสตราลิน	13
ภาพที่ 2-3	การสังเคราะห์และการสลายของสารลินามาริน	14
ภาพที่ 2-4	การย่อยสลายของ Linamarin	15
ภาพที่ 4-1	การเจริญเติบโต (Growth curve) ของเชื้อ SUTS 1, SUTS 2 และ Mixed culture	43
ภาพที่ 4-2	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 1	45
ภาพที่ 4-3	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 1	47
ภาพที่ 4-4	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 1	48
ภาพที่ 4-5	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1	49
ภาพที่ 4-6	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 2 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 2	51
ภาพที่ 4-7	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 2 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 2	52
ภาพที่ 4-8	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 2 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 2	53
ภาพที่ 4-9	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 2	54
ภาพที่ 4-10	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรด้วยเชื้อ Mixed culture และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ Mixed culture	56
ภาพที่ 4-11	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรด้วยเชื้อ Mixed culture และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ Mixed culture	57

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 4- 12 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตรด้วยเชื้อ Mixed culture และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ Mixed culture 58

ภาพที่ 4-13 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ Mixed culture 59

คำอธิบายสัญลักษณ์

BM	=	Buffer medium
BMK	=	Buffer medium + Potassium cyanide
CFU/ml	=	Colony Forming Unit per Milliliter
CN^-	=	Cyanide
HCN	=	Hydrogen cyanide
KCN	=	Potassium cyanide
mg/L	=	Milligram per liter
NH_3	=	Ammonia
NO_2^-	=	Nitrite
NO_3^-	=	Nitrate
USEPA	=	U.S. Environmental Protection Agency

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

ไซยาไนด์ (Cyanide) พบได้ในโรงงานอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมถ่านหิน อุตสาหกรรมการผลิตพลาสติก-ไฟเบอร์ และอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลัง เป็นต้น (Aronstein *et al.*, 1994) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง (Cassava processing) เนื่องจากไซยาไนด์ถูกพบอยู่ในมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตแป้ง ดังนั้นตลอดกระบวนการผลิตตั้งแต่การล้างวัตถุดิบจนถึงการแปรรูปจะมีของเสียในรูปของไซยาไนด์เกิดขึ้น เช่น ไฮโดรเจนไซยาไนด์ (HCN) ไธโอไซยาเนต (SCN^-) ไซยาเนต (CNO^-) ไซยาไนด์ (CN^-) เป็นต้น นอกจากนี้ในการผลิตอาหารสัตว์จากเปลือกมันนั้น ไซยาไนด์ที่เปลือกมันสำปะหลังจะต้องถูกกำจัดหรือลดความเป็นพิษลงก่อนที่จะนำไปใช้ในการผลิต

ความเป็นพิษของไซยาไนด์ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาทางกายภาพ-เคมีในสิ่งแวดล้อม ไซยาไนด์สามารถทำปฏิกิริยากับโลหะและโลหะหนักได้หลายชนิด เช่น ทองแดง (Copper) สังกะสี (Zinc) ปรอท (Mercury) เหล็ก (Iron) แต่สารประกอบนี้ไม่คงตัวจึงทำให้ไซยาไนด์ถูกปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมตามเดิม ไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้นน้อยยังคงมีความเป็นพิษต่อมนุษย์ พืช และสัตว์ ซึ่งการก่อให้เกิดพิษเฉียบพลันต่อมนุษย์นั้นจะอยู่ในรูปของเหลว ก๊าซ หรือสารประกอบของไซยาไนด์ สามารถเข้าสู่ร่างกายโดยการหายใจ การกลืน การดูดซึมผ่านทางตา ผิวหนัง หรือเนื้อเยื่อที่มีน้ำเมือกอยู่ การหายใจที่มีความเข้มข้นของไซยาไนด์ 100-300 ppm (as HCN) จะทำให้เสียชีวิตได้ภายใน 10-60 นาที และความเป็นพิษจะมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์มากขึ้น นอกจากนี้การกลืนกินอาหารที่มีไซยาไนด์ปนเปื้อนในรูปของไฮโดรเจนไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50-200 มิลลิกรัม หรือ 1-3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว จะทำให้เสียชีวิตได้ (LD_{50}) ดังนั้นการลดปริมาณไซยาไนด์ก่อนที่จะปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง

การบำบัดไซยาไนด์ที่ใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ วิธีทางเคมี เช่น กระบวนการเร่งปฏิกิริยาทางเคมีด้วยคอปเปอร์ (Copper-catalyzed chemical process) กระบวนการไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide process) ซึ่งจะทำการกำจัดไซยาไนด์ด้วยการเติมออกซิเจน (Oxidative destruction) (Botz and Mudder, 2002; Logsdon *et al.*, 1999) แต่การบำบัดด้วยวิธีนี้ยังมีข้อจำกัดทางด้านการควบคุมทางสิ่งแวดล้อมอย่างเข้มงวดและมีค่าใช้จ่ายสูง และต้องมีการใช้สารเคมีในการบำบัด ซึ่งมีผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม

ดังนั้นการศึกษาวิจัยการย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์ที่พบจากการวิจัยนี้จะเป็นการศึกษาที่สำคัญที่นำไปสู่การบำบัดน้ำเสีย การบำบัดกลิ่น หรือดินที่มีการปนเปื้อนของไซยาไนด์ที่เกิดจากอุตสาหกรรมโดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมการผลิตมันสำปะหลังต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ได้

1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์แต่ละชนิดและแบบรวมกลุ่มในการย่อยสลายไซยาไนด์ในสภาวะเดียวกัน

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำจุลินทรีย์ที่พบในการวิจัยครั้งนี้ไปใช้ในการบำบัดน้ำเสีย บำบัดกลิ่น หรือบำบัดดินที่มีไซยาไนด์ปนเปื้อนในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาวิจัยนี้จะคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์จากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังในจังหวัดนครราชสีมา จำนวน 2 แห่ง

1.5 กรอบแนวความคิด

จุลินทรีย์ที่แยกได้จากระบบบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมผลิตแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีไซยาไนด์ปนเปื้อนอยู่ในระบบบำบัด จะมีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์ในสภาวะที่มีออกซิเจนซึ่งจะถูกเปลี่ยนรูปและกลายเป็นสารประกอบที่มีความเป็นพิษน้อยลงได้แก่ แอมโมเนียและไบคาร์บอเนต และแอมโมเนียจะเปลี่ยนเป็นไนเตรทในที่สุด (Petrozzi and Dunn, 1994) ดังแสดงในปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$CN^- + 1/2O_2 + 2H_2O \xrightarrow[\text{Microorganisms}]{\text{Aerobic}} HCO_3^- + NH_3 \quad (1)$$

$$NH_3 + 3/2O_2 \longrightarrow NO_2^- + H^+ + H_2O \quad (2)$$

$$NO_2^- + 1/2O_2 \longrightarrow NO_3^- \quad (3)$$

ดังนั้นเพื่อศึกษาเปรียบเทียบความสามารถของจุลินทรีย์แต่ละชนิดและแบบรวมกลุ่มในสภาวะเดียวกันจะมีการวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของแอมโมเนีย ไนเตรท และไซยาไนด์จากการทดลอง และจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดนี้จะนำไปใช้ในการพัฒนาการบำบัดน้ำเสีย หรือบำบัดกลิ่นจากโรงงานอุตสาหกรรมแป้งมันต่อไป

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชพลังงานที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก ชนิดที่ปลูกกันแพร่หลายทั่วโลกมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta* Crantz การจัดหมวดหมู่ทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลังเป็น ดังนี้ (Wikipedia, 2009)

Kingdom	:	Plantae
Division	:	Magnoliophyta
Class	:	Magnoliopsida
Order	:	Malpigghiales / Euphorbiales
Family	:	Euphorbiaceae
Genus	:	Manihot
Species	:	esculenta

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศในแถบเขตร้อน เป็นพืชที่เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับมนุษย์มากกว่า 500 ล้านคนทั่วโลก (Cock, 1985) โดยส่วนของมันสำปะหลังที่นำมาใช้ประโยชน์คือ ส่วนของราก (Root) แต่โดยทั่วไปมักเรียกกันว่าหัวมันสำปะหลัง การเรียกชื่อมันสำปะหลังในแต่ละท้องถิ่นที่มีการใช้ภาษาที่แตกต่างกันออกไป จะมีการเรียกชื่อที่ต่างกัน เช่น ในท้องถิ่นที่มีการใช้ภาษาอังกฤษจะเรียกมันสำปะหลังว่า คาสสาวา (Cassava) ในทวีปอเมริกาใต้แถบประเทศบราซิล ปารากวัย และอาร์เจนตินาจะเรียกว่า แทปปีโอกา (Tappioca) และถิ่นที่ใช้ภาษาโปรตุเกสจะเรียกว่า แมนดิโอกา (Mandioca) ประเทศในแถบทวีปแอฟริกาที่ใช้ภาษาฝรั่งเศส เรียกว่า แมนิออก (Manioc) และในประเทศอเมริกาที่ใช้ภาษาสเปน เรียกว่า ยัคคา (Yucca) เป็นต้น ส่วนการเรียกชื่อมันสำปะหลังในประเทศไทยนั้น แต่เดิมคนไทยเรียกว่า มันไม้หรือมันสำโรง ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เรียกว่า มันต้นเตี้ย และในภาคใต้ เรียกว่า มันเทศ (เรียกมันเทศว่ามันเหลา) แต่ในปัจจุบันคนไทยทุกคนรู้จักและเรียกชื่อว่า มันสำปะหลัง ซึ่งคล้ายกับภาษาชวาตะวันตกที่เรียกว่า สัมเปอ (Sampeu) (จรุงสิทธิ์ ลิ่มศิลา และอัจฉรา ลิ่มศิลา, 2537) แต่ก่อนชื่อวิทยาศาสตร์ของมันสำปะหลังจะเรียกตามชนิดของมันสำปะหลัง คือชนิดหวานและชนิดขม โดยชนิดหวานมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *M. esculenta* และชนิดขมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *M. palmate* และ *M. dulcis* แต่ปัจจุบันรวมเรียกเป็นชนิดเดียวว่า *M. esculenta* (ดนัย สุภาหาร, 2537)

2.1.1 ลักษณะทั่วไปทางพฤกษศาสตร์

มันสำปะหลังเป็นไม้พุ่มยืนต้นมีอายุได้หลายปี การปลูกมันสำปะหลังจะใช้ส่วนของลำต้นตัดเป็นท่อนปักลงดิน ตรงบริเวณรอยตัดที่ปักอยู่ในดินจะแตกเป็นรากฝอย หลังจากปลูกได้ประมาณ 2 เดือน รากจะค่อยๆ สะสมแป้งและมีขนาดโตขึ้น เรียกว่า หัวมันสำปะหลัง และจะสามารถเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลังหลังจาก 6 เดือนไปแล้ว โดยจะยืดอายุการเก็บเกี่ยวได้ถึง 16 เดือน โดยส่วนตาที่อยู่ด้านข้างท่อนมันจะเจริญเติบโตออกมาเป็นลำต้นต่อไป

มันสำปะหลังมีคุณสมบัติเด่นคือ เป็นพืชที่ปลูกได้ตลอดทั้งปี ปลูกง่ายไม่ต้องใช้น้ำมาก ทนต่อความแห้งแล้งได้ดี สะดวกในการดูแลรักษา ไม่มีแมลงและโรคพืชรบกวนให้ผลผลิตที่ค่อนข้างสูง ต้นทุนต่ำและสามารถปลูกได้ผลแม้ในพื้นที่ที่ความสมบูรณ์ของดินไม่เพียงพอ จึงทำให้ได้รับความนิยมในการเพาะปลูกกันในหมู่เกษตรกรอย่างกว้างขวาง

1) ลำต้น (Stem)

ลักษณะของความสูงและการแตกกิ่งของต้นมีความสัมพันธ์ตรงกันข้ามซึ่งเป็นลักษณะประจำพันธุ์ บางพันธุ์ไม่แตกกิ่งต้นจะสูง ส่วนพันธุ์ที่แตกกิ่งจะสูงน้อยกว่า บางพันธุ์อาจมีการแตกกิ่งใกล้โคน บางพันธุ์ก็แตกกิ่งส่วนที่สูงขึ้น มุมของกิ่งกับต้นอาจจะตั้งตรงหรือแผ่ออกไป กิ่งตามปกติจะไม่มีขน การแตกกิ่งมักจะแตกออกเป็น 3 กิ่ง หรือ 2 กิ่ง ส่วนแตกเป็น 4 กิ่งนั้นน้อยมาก พันธุ์ที่แตกกิ่งนั้นแตกหลายชุด เช่น จากลำต้นแตกเป็น 2-3 Primary Branch บน 2-3 Primary Branch แตกออกเป็น 2-3 Secondary Branch ซึ่งยังแตกออกไปอีกมากขึ้นอยู่กับพันธุ์ พันธุ์ที่ยิ่งแตกกิ่งหลายชุดย่อมมีดอกมากเพราะช่อดอกอยู่ที่ปลายกิ่งที่แตกออกไป

ลำต้นของมันสำปะหลัง ต้นจะเป็นเนื้อไม้ (Woody stem) ซึ่งจะมีเยื่ออ่อนเป็นเส้นบางขนาดใหญ่ทำให้หักง่าย ขนาดเส้นผ่านสูงกลางเฉลี่ยประมาณ 3-6 เซนติเมตร ต้นจะมีเปลือกบางและลอกได้ง่าย เห็นเนื้อเยื่อสีขาวภายใน สีของลำต้นแตกต่างไปตามพันธุ์ ส่วนที่ใกล้ยอดจะมีสีเขียว ส่วนต่างๆ ที่แก่ต่ำลงมาจะมีสีที่ต่างกันไป เช่น สีเงิน สีเหลือง สีน้ำตาล ซึ่งสีของลำต้นก็เป็นลักษณะหนึ่งที่ใช้ในการจำแนกพันธุ์ ลักษณะของสีต้นมักจะมีความสัมพันธ์กับผิวของราก ถ้าต้นมีสีเงินผิวของรากจะเรียบ ส่วนสีอื่นจะขรุขระ

บางต้นส่วนที่แก่ใบจะร่วงไปทำให้เกิดรอย ส่วนของก้านใบที่ติดกับต้นเรียกว่า Leaf Scar และระยะห่างระหว่าง Leaf Scar เรียกว่า Storey Length ในระหว่างที่การเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว Storey Length จะห่าง และระหว่างที่เจริญเติบโตช้า Storey Length จะแคบ บริเวณส่วนเหนือ Leaf Scar ขึ้นไปจะมีตา (Bud) ซึ่งจะงอกเป็นต้นเวลานำไปปลูก

ประโยชน์ของต้น คือ เป็นอาหารสัตว์โดยตัดลำต้นส่วนยอดผสมกับใบสดใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้อง ตากแห้งเป็นอาหารหยาบ นอกจากนั้นยังใช้ทำรั้วบ้าน รั้วสวนและคอกสัตว์เลี้ยงของชาวบ้านในชนบท

2) ใบ (Leaf)

ใบจะติดอยู่กับก้านใบ (Petiole) ที่ฐานของแผ่นใบ ส่วนก้านใบค่อนข้างจะเป็นรูปตัวเอส พยุงแผ่นใบให้อยู่ในแนวราบ ก้านใบจะมีสีเขียวหรือสีแดง ซึ่งลักษณะของใบก็ใช้เป็นส่วนหนึ่งในการแยกพันธุ์ได้ เช่น จำนวน Lobe รูปร่างของ Lobe ความยาวความกว้างของ Lobe สีของก้านใบและสีของใบอ่อน

ประโยชน์ของใบคือ สามารถใช้เป็นอาหารของมนุษย์โดยรับประทานเป็นผักสด ต้มจิ้มกับน้ำพริก นำมาแกง (ห่อหมก) ปรุงเป็นซุป หรือใช้เป็นอาหารสัตว์ในรูปใบสด นำมาตากแห้งป่นผสมกับอาหารข้นเลี้ยงสัตว์และเป็นอาหารผสม

3) ราก (Root)

เมื่อนำส่วนของต้นมันสำปะหลังที่ตัดไปปลูกจะเกิดรากจากส่วนต่างๆ ของท่อนพันธุ์ที่ปลูก คือ รากจากส่วนของเนื้อเยื่อต้นที่มีส่วนในการเพิ่มวงของรากและลำต้น (Cambium) รากจากตา (Bud) รากจาก Leaf Scar และรากที่เกิดจากส่วนโคนของหน่อที่งอกขึ้นมา (Shoot) หลังจากมันสำปะหลังอายุมากขึ้น 2-3 เดือนหลังจากการปลูก รากจะเริ่มใหญ่ขึ้น เกิดจากการสะสมแป้งในเซลล์ที่เรียกว่า เนื้อหัวมัน (Parenchyma) ระบบรากเป็นแบบรากฝอย (Fibrous root system) หรือระบบรากที่เจริญจากภายนอก (Adventitious root system) มีรากจำนวนน้อยเส้นและแผ่กระจายไม่ลึกจากผิวดิน รากที่ขยายใหญ่พันธุ์โดยทั่วไปมี 5-15 ราก รูปทรงของรากบางพันธุ์อาจยาว บางพันธุ์อาจป้อมสั้น ขึ้นอยู่กับพันธุ์ โดยทั่วไปยาวประมาณ 15-100 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-15 เซนติเมตร รากหนึ่งอาจมีน้ำหนัก 1-10 กิโลกรัม ความใหญ่ของรากจะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ มากมาย เช่น ระยะปลูก ความอุดมสมบูรณ์ของดิน พันธุ์และสภาพแวดล้อมอื่นๆ อีก

4) ช่อดอก (Inflorescence)

ช่อดอกจะมีลักษณะเรียงไม่เป็นระเบียบ (Panicle) เป็นพืชที่มีทั้งดอกตัวผู้และตัวเมียอยู่บนต้นเดียวกัน ช่อเดียวกันแต่คนละดอก ช่อดอกเกิดที่ปลายของกิ่งที่อยู่ปลายสุดหรือตรงรอยต่อที่แตกกิ่ง ส่วนพันธุ์ที่ไม่แตกกิ่งจึงไม่มีช่อดอก ดอกตัวผู้จะมีก้านดอกแต่ละดอกยาว 0.5-1.0 เซนติเมตร จะอยู่บริเวณส่วนปลายของช่อดอก มี 5 ก้านดอกในแต่ละกลีบ ไม่มีกลีบดอก จะมี 10 เกสรตัวผู้จัดเป็น 2 วงๆ ละ 5 เกสร วงในเกสรจะสั้นกว่าวงนอก แต่ละเกสรแยกกันเป็นอิสระ ดอกตัวผู้จะบานหลังดอกตัวเมีย ปกติดอกตัวเมียจะใหญ่กว่าดอกตัวผู้ มีก้านดอกแต่ละดอกยาว 1.0-2.5 เซนติเมตร ประกอบด้วย 5 ก้านดอกในแต่ละกลีบ ไม่มีรังไข่ในกลีบดอก มี 3 เกสรตัวเมีย แต่ละเกสามีไข่ 1 ใบ ดอกตัวเมียจะเกิดอยู่ส่วนโคนของช่อดอก ภายในช่อเดียวกันดอกตัวเมียจะบานก่อนดอกตัวผู้ 7-10 วัน การบานของดอกตัวผู้และดอกตัวเมียจะบานเวลาประมาณ 11.30-12.30 น.

5) ผลและเมล็ด

หลังจากปฏิสนธิแล้วรังไข่จะเจริญขยายเป็นผลแบบแคปซูล เมื่อผลโตเต็มที่จะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ ½ นิ้ว จะมี 6 ห้อง ภายในจะมี 3 เซลล์ แต่ละเซลล์จะมีเมล็ดหลังจากการปฏิสนธิแล้วประมาณ 3 เดือน ผลจะแก่เต็มที่แล้วจะแตกและดีดเมล็ดไปจากผล เมล็ดจะมีสีน้ำตาลลายดำ ขนาดกว้างประมาณ ¾ เซนติเมตร หนา ½ เซนติเมตร และยาวประมาณ 1.0 เซนติเมตร เมื่อเมล็ดตกลงดินยากแก่การสังเกตเพราะมีสีน้ำตาลลายดำคล้ายดิน ที่เมล็ดจะเห็นตุ่มไตสีขาวชัด ประโยชน์ของเมล็ด คือ สามารถนำมาสกัดน้ำมันที่มีคุณภาพดีใช้ในอุตสาหกรรมยาได้

2.1.2 การแพร่กระจาย

มันสำปะหลังมีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกาใต้ ก่อนที่คริสโตเฟอร์ โคลัมบัส จะสำรวจพบทวีปอเมริกาใน พ.ศ. 2035 การปลูกมันสำปะหลังจะพบในเขตร้อนของอเมริกากลางและใต้เท่านั้น ชาวโปรตุเกสได้นำมันสำปะหลังจากประเทศบราซิลไปสู่ทวีปแอฟริกาในช่วงประมาณคริสต์ศตวรรษที่ 16 และชาวสเปนนำมันสำปะหลังจากประเทศเม็กซิโกมายังประเทศฟิลิปปินส์ในประมาณคริสต์ศตวรรษที่ 17 และชาวดัชท์นำมาจากเกาะชวาจากสุรินัมในทวีปอเมริกาใต้ประมาณตอนต้นคริสต์ศตวรรษที่ 18 สำหรับประเทศไทยนั้นใครเป็นผู้นำมันสำปะหลังเข้ามาเมื่อใดและจากไหน ไม่ปรากฏหลักฐานแน่ชัด แต่สันนิษฐานกันว่านำเข้ามาจากประเทศมาเลเซียเมื่อต้นสมัยรัตนโกสินทร์ (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์, 2548)

ประเทศไทยมีการปลูกมันสำปะหลังเป็นการค้ากว่า 65 ปีมาแล้ว โดยเริ่มจากภาคใต้ โดยเฉพาะที่จังหวัดสงขลา เพื่อทำแป้งและทำเป็นสาคูส่งไปจำหน่ายที่ปีนังและสิงคโปร์ แต่การปลูกมันสำปะหลังเพื่อการค้าในภาคใต้ได้ค่อยๆ หมดไปในภายหลัง เนื่องจากการปลูกมันจะทำการปลูกระหว่างแถวของสวนยางพารา ดังนั้นเมื่อต้นยางพาราโตคลุมพื้นที่ทั้งหมดจึงไม่สามารถปลูกได้ จึงมีการนำมันสำปะหลังมาปลูกในภาคตะวันออก และเมื่อความต้องการผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลัง เช่น มันเส้น มันอัดเม็ด และแป้งมันสำปะหลัง เป็นความต้องการของตลาดเพิ่มมากขึ้น พื้นที่การเพาะปลูกในภาคตะวันออกจึงไม่เพียงพอ จึงมีการแพร่กระจายนำไปปลูกในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งในปัจจุบัน พบว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นพื้นที่ที่มีการปลูกมันสำปะหลังมากที่สุดของประเทศ (วิจารณ์ วิชชุกิจ, 2531; เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์, 2532)

2.1.3 แหล่งและปริมาณการเพาะปลูก

มันสำปะหลังเป็นพืชที่ปลูกง่าย ทนต่อความแห้งแล้ง โรคแมลงน้อย เพาะปลูกได้ตลอดปี ขึ้นได้ในดินเกือบทุกชนิด พื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลังในประเทศไทยมีประมาณ 7 ล้านไร่ และผลผลิตหัวมันสำปะหลังสดของประเทศไทยต่อปีประมาณ 20 ล้านตัน แหล่งปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญที่สุดของประเทศไทยในปัจจุบัน คือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในปีการผลิต 2545/46 มีพื้นที่เพาะปลูกประมาณร้อยละ 53.66 ของพื้นที่เพาะปลูกมันสำปะหลังทั้งประเทศ รองลงมาคือ ภาคกลาง

ตอนบน ซึ่งรวมภาคเหนือและภาคตะวันตกไว้ด้วยประมาณร้อยละ 32.10 และภาคตะวันออกประมาณร้อยละ 19.22 ของพื้นที่เพาะปลูกทั่วประเทศ ภาคใต้ไม่มีการเพาะปลูกเลย เนื่องจากภาคใต้มีพื้นที่ที่สามารถปลูกพืชชนิดอื่นที่ให้ผลตอบแทนที่สูงกว่าการปลูกมันสำปะหลัง ได้แก่ ยางพารา โดยจังหวัดที่ให้ผลผลิตมันสำปะหลังสูงสุด คือ จังหวัดนครราชสีมา ในปี 2545 จังหวัดนครราชสีมาให้ผลผลิตร้อยละ 22.50 ของผลผลิตรวมทั้งประเทศ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2547)

2.1.4 สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเพาะปลูก

มันสำปะหลังเป็นพืชที่สามารถปรับตัวได้สูงในการเจริญในสภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกัน โดยจะเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนชื้น ตั้งแต่เส้นรุ้งที่ 30 องศาเหนือ ถึง 30 องศาใต้ และสามารถเจริญได้ที่ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลถึง 2000 เมตร สามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อได้รับปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยต่อปีมากกว่า 2000 มิลลิลิตร แต่ในบริเวณที่มีปริมาณน้ำฝนเพียงเล็กน้อยเฉลี่ยต่อปีประมาณ 500-750 มิลลิเมตร ก็พบว่ามันสำปะหลังยังคงสามารถเจริญได้ มันสำปะหลังจัดเป็นพืชที่ทนแล้งได้ดี แต่ไม่ทนต่อสภาพภูมิอากาศที่หนาวเย็นจัด (อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 18-30 องศาเซลเซียส มันสำปะหลังสามารถปรับตัวในสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลง โดยในสภาพภูมิอากาศที่แห้งแล้งมันสำปะหลังจะทิ้งใบและสร้างใบใหม่ที่มีขนาดเล็กจำนวนเล็กน้อยขึ้นทดแทน และเมื่อเข้าสู่สภาวะที่มีน้ำมีฝนตก พืชจะใช้คาร์โบไฮเดรตที่เก็บสะสมในส่วนของรากนำกลับมาใช้ในการเจริญเติบโตแตกยอดและใบใหม่ (Balagopalan *et al.*, 1988)

มันสำปะหลังสามารถเจริญได้ดีในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ สามารถปลูกได้ในดินที่มีค่าความเป็นกรดด่างที่กว้างมาก (พีเอช 4.0-8.0) (Moore and Lawrence, 2006) Balagopalan และคณะ (1988) รายงานว่าในประเทศมาเลเซียมีมันสำปะหลังชนิดที่สามารถเจริญเติบโตในดินเปรี้ยวที่มีค่าพีเอช 3 .2 ได้ มันสำปะหลังจึงจัดเป็นพืชที่ทนต่อสภาพดินที่เป็นกรด แต่ไม่สามารถเจริญได้ในดินที่มีสภาพเป็นด่างที่มีค่าพีเอชมากกว่า 8 ขึ้นไป (เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์, 2532)

ดินที่เหมาะสมต่อการปลูกมันสำปะหลังและให้ผลผลิตสูงมากที่สุด คือ ดินร่วนหรือดินทรายที่มีความสมบูรณ์สูง มีความร่วนซุย ถ่ายเทอากาศได้ดี ซึ่งจะทำให้รากมันสามารถชอนไชไปหาอาหารได้ไกล และสามารถขยายขนาดและเติบโตได้ดี การปลูกในสภาพดินที่เหนียวแน่น พบว่าผลผลิตหัวมันสำปะหลังจะน้อย และพบว่ามันสำปะหลังไม่สามารถทนต่อสภาพที่มีน้ำท่วมขังและการถ่ายเทของน้ำไม่ดีได้ (Balagopalan *et al.*, 1988; เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์, 2532)

ปิยะวุฒิ พูลสงวน และคณะ (2542) แนะนำเทคนิคการปลูกมันสำปะหลังเพื่อเพิ่มผลผลิตและปริมาณแป้งในมันสำปะหลัง โดยช่วงเวลาที่เหมาะสมในการปลูกสามารถปลูกได้ 2 ช่วงเวลา คือ การปลูกปลายหรือหลังฤดูฝน (ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนถึงเดือนมกราคม) และการปลูกต้นหรือก่อนฤดูฝน (ตั้งแต่กุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน) ซึ่งการปลูกใน 2 ช่วงเวลาดังกล่าวมีความเหมาะสมและข้อดีที่

แตกต่างกัน คือ การปลูกมันสำปะหลังในช่วงฤดูฝนจะมีผลทำให้ความสม่ำเสมอในการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังต่ำกว่าการปลูกในช่วงก่อนฤดูฝน เนื่องจากการปลูกในช่วงหลังฤดูฝนมันสำปะหลังจะติดแล้งในช่วงระยะแรกของการเจริญเติบโต การปลูกในช่วงหลังฤดูฝนแนะนำให้ปลูกในพื้นที่ที่เป็นดินทรายหรือดินร่วนปนทราย ไม่แนะนำให้ปลูกในดินที่ค่อนข้างเหนียว ซึ่งเมื่อปลูกแล้วกระทบกับความแห้งแล้งมันสำปะหลังจะตายมาก ลักษณะของหัวมันสำปะหลังที่ปลูกในช่วงหลังฤดูฝนจะมีหัวขนาดใหญ่ ป้อม ไม่ดก ต่างจากการปลูกในช่วงก่อนฤดูฝน หัวมันจะมีขนาดเล็กกว่า เรียวยาว แต่จะมีจำนวนมากกว่า การแนะนำให้เกษตรกรปลูกในช่วง 2 ระยะเวลาดังกล่าว เนื่องจากผลผลิตที่ได้รับจะสูงกว่าการปลูกในช่วงเวลาอื่น และเมื่อทำการเก็บเกี่ยวที่อายุการเก็บเกี่ยว 12 เดือน ก็จะตรงกับช่วงที่ตลาดมีความต้องการมาก โดยเฉพาะการส่งขายให้กับโรงงานแป้งมันสำปะหลัง หรือลานมันที่รับซื้อในช่วงเวลาดังกล่าว (พฤศจิกายนถึงเมษายน) ซึ่งเป็นช่วงแล้ง เหมาะสำหรับการตากแห้งมันสำปะหลังของลานมันในการผลิตเป็นมันเส้น

2.1.5 การเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลัง

การเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลังสามารถเก็บเกี่ยวได้ตั้งแต่อายุต่ำกว่า 12 เดือนถึง 20 เดือน (Moore and Lawrence, 2006) ปิยะวุฒิ พูลสงวน และคณะ (2542) แนะนำว่าควรทำการเก็บเกี่ยวที่อายุ 12 เดือน ถ้าทำการปลูกในช่วง 2 ฤดูการปลูก เนื่องจากในช่วงเวลานี้ครบรอบการปลูก 1 ปีพอดี เป็นช่วงที่ตลาดมีความต้องการมาก และปริมาณแป้งในหัวค่อนข้างสูง และเมื่อทำการเก็บเกี่ยวแล้ว การปลูกสามารถกระทำได้อย่างต่อเนื่องทุกปี ราคาของหัวมันสำปะหลังที่ซื้อขายกันนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณแป้งที่มีอยู่ในหัวมันสำปะหลัง แต่ทั้งนี้ปริมาณแป้งที่มีอยู่ในหัวมันสำปะหลังนั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับอายุการเก็บเกี่ยวเพียงอย่างเดียว ยังขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำฝนที่พืชได้รับในช่วงการเก็บเกี่ยวด้วย โดยพบว่าถ้าในช่วงการเก็บเกี่ยวพืชได้รับปริมาณน้ำฝนมากปริมาณแป้งที่อยู่ในหัวมันสำปะหลังจะมีปริมาณลดลง พร้อมพรรณ เสรีวิชยสวัสดิ์ (2546) ได้ทำการปลูกหัวมันสำปะหลังจำนวน 3 พันธุ์ คือ ห้วยบง 60, เกษตรศาสตร์ 50 และระยอง 5 พบว่ามันสำปะหลังทั้ง 3 พันธุ์ให้ผลการทดลองไปในทางเดียวกัน คือ ที่อายุการเก็บเกี่ยว 10 เดือนจะมีปริมาณแป้งสูงที่สุด และจะมีปริมาณแป้งลดลงเรื่อยๆ ที่อายุการเก็บเกี่ยว 12 และ 14 เดือน และจะมีปริมาณแป้งเพิ่มขึ้นที่อายุ 16 เดือน เมื่อทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับปริมาณน้ำฝน พบว่าที่อายุการเก็บเกี่ยว 10 เดือน เป็นช่วงที่อยู่ในสภาพแล้ง ที่อายุการเก็บเกี่ยวที่ 12 และ 14 เดือน มีปริมาณน้ำฝนเพิ่มมากขึ้น และที่ 16 เดือน เป็นช่วงที่ได้รับปริมาณน้ำฝนลดลง แสดงให้เห็นว่าปริมาณน้ำที่ต้นมันสำปะหลังได้รับมีผลต่อปริมาณแป้งที่มีอยู่ในหัวมัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Santisopasri และคณะ (2001) ที่ได้ทำการศึกษาผลของปริมาณผลผลิตและคุณภาพของแป้งมันสำปะหลังที่เก็บเกี่ยวจากมันสำปะหลังที่อายุการเก็บเกี่ยวต่างๆ กัน โดยทำการทดลองกับมันสำปะหลังจำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่ ระยอง 1, ระยอง 5, ระยอง 60, เกษตรศาสตร์ 50 และ CMR 33-57-81 ผลการทดลองพบว่าปริมาณแป้งแปรผกผันกับปริมาณน้ำฝนที่พืชได้รับในช่วง

ที่ทำการเก็บเกี่ยว ให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกันในตัวอย่างที่ทำการทดสอบทั้ง 6 พันธุ์ เมื่อทำการปลูกในช่วงก่อนฤดูฝน (ทำการปลูกในเดือนพฤษภาคม)

จากรายงานผลการสำรวจมันสำปะหลัง ปี 2547 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2547) โดยเกษตรกรจะเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลังในช่วงอายุ 10 เดือนมากที่สุด รองลงมาคือ 12 เดือน และ 11 เดือน โดยมีปริมาณการเก็บเกี่ยวคิดเป็นร้อยละ 28.40, 26.82 และ 24.57 ตามลำดับ จากการสำรวจในช่วงเดือนตุลาคม 2546 ถึง กันยายน 2547 ช่วงที่เกษตรกรเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลังมาก คือ เดือนพฤศจิกายน ถึงเดือนมีนาคม มีร้อยละการเก็บเกี่ยวเป็น 11.71, 20.65, 19.12, 14.33 และ 12.30 ตามลำดับ

2.1.6 การใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่ทนแล้งได้ดี ขยายพันธุ์ได้ง่าย ต้นทุนการเพาะปลูกไม่สูง จึงเป็นที่นิยมของเกษตรกรโดยทั่วไป สามารถปลูกได้ในดินทั่วไป ยกเว้นในบริเวณที่ดินมีความชื้นสูง ฝนตกหนัก หรือดินเค็ม ดังนั้นจึงพบเห็นมันสำปะหลังปลูกได้ทั่วไป บริเวณที่มีการปลูกมันสำปะหลังมากที่สุดคือภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออก มีผลผลิตทั่วประเทศอยู่ปริมาณ 16-18 ล้านตันหัวมันสดต่อปี จึงถือได้ว่าประเทศไทยเป็นผู้ผลิตหัวมันรายใหญ่รายหนึ่งของโลก (ทั่วโลกมีการผลิตหัวมันสดประมาณ 160 ล้านตัน) ซึ่งการใช้ประโยชน์จากหัวมันสดภายในประเทศนั้นมีตั้งแต่การแปรรูปเบื้องต้นในระดับเกษตรกรรมจนกระทั่งใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ (กล้าณรงค์ ศรีรอต และคณะ, 2542)

มันสำปะหลังเป็นพืชที่เก็บสะสมอาหารไว้ในราก เมื่อพืชมีการสร้างอาหารจากใบและส่วนที่เป็นสีเขียวแล้ว จะสะสมในรูปของคาร์โบไฮเดรตคือแป้งไว้ในราก ความสามารถในการสร้างและสะสมแป้งในรากมีความแตกต่างกัน เนื่องมาจากพันธุ์มันสำปะหลัง อายุการเก็บเกี่ยว ปริมาณน้ำฝนในช่วงแรกก่อนการเก็บเกี่ยวและปัจจัยอื่นๆ จึงทำให้ส่วนประกอบของหัวมันสำปะหลังอาจจะแตกต่างกันออกไป โดยทั่วไปหัวมันสำปะหลังที่มีอายุ 12 เดือน ที่ได้รับปริมาณน้ำฝนเพียงพอ และไม่มีฝนตกชุกขณะเก็บเกี่ยว จะมีส่วนประกอบดังแสดงในตารางที่ 2-1 และตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-1 ส่วนประกอบหลักในหัวมันสำปะหลัง

องค์ประกอบในหัวมัน	ปริมาณ
น้ำ (%)	60.21 – 75.32
เปลือก (%)	4.08 – 14.08
เนื้อ (แป้ง) (%)	25.87 – 41.88
ไซยาไนด์ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	2.85 – 39.27

ที่มา : กล้าณรงค์ ศรีรอต และคณะ, 2542

ตารางที่ 2-2 องค์ประกอบทางเคมีในเนื้อมันสำปะหลัง

องค์ประกอบในเนื้อมัน	ปริมาณ (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)
แป้ง	71.9 – 85.0
โปรตีน	1.57 – 5.78
เยื่อใย	1.77 – 3.95
เถ้า	1.20 – 2.80
ไขมัน	0.06 – 0.43
คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่แป้ง	3.59 – 8.66

ที่มา : กล้าณรงค์ ศรีรอต และคณะ, 2542

จะเห็นว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่ในหัวมันสำปะหลังนอกจากน้ำแล้วคือแป้ง ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 70-80 จึงถือว่ามันสำปะหลังเป็นพืชที่เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานกับคนและสัตว์ได้ดี จากตารางที่ 2-1 มีสารเคมีที่น่าสนใจ คือ ไซยาไนด์ที่มีในหัวมันสำปะหลังในปริมาณที่แตกต่างกันตั้งแต่ 2.85 – 39.27 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของหัวมันสำปะหลัง สารไซยาไนด์นี้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต จะมีอยู่ในหัวมันสำปะหลังสดที่เพิ่งเก็บมา เมื่อหัวมันสำปะหลังถูกเก็บเกี่ยวจากไร่แล้ว ปริมาณไซยาไนด์จะเริ่มลดลง ถ้าถูกความร้อน (เช่น ตากแดด เผา ต้ม) สารไซยาไนด์จะแตกตัวทำให้ปริมาณที่มีอยู่ลดลงได้

2.2 ไซยาไนด์กับมันสำปะหลัง

2.2.1 พันธุ์มันสำปะหลังจำแนกตามปริมาณไซยาไนด์

มันสำปะหลังที่ปลูกในประเทศไทยแบ่งออกเป็น 3 ชนิด (จำลอง เจียมจำนรรจา, 2542) ได้แก่ ชนิดที่ใช้เป็นไม้ประดับ ชนิดหวาน (Sweet type) และชนิดขม (Bitter type) ซึ่ง 2 ชนิดหลังเป็นชนิดที่สามารถบริโภคได้โดยทางตรงและทางอ้อม ดังนั้นโดยทั่วไปมันสำปะหลังในแหล่งปลูกทั่วโลกและในประเทศไทยจึงแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดหวาน (Sweet type) และชนิดขม (Bitter type) (จรุงสิทธิ์ ลิ่มศิลา และอัจฉรา ลิ่มศิลา, 2537) ตามปริมาณไซยาไนด์

1. ชนิดหวาน (Sweet type) เป็นมันสำปะหลังที่มีปริมาณไซยาไนด์ต่ำ เนื่องจากมันสำปะหลังชนิดหวานไม่มีรสขม มีเนื้อสัมผัสที่ดีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค มีทั้งชนิดเนื้อร่วน เนื้อนุ่ม และชนิดที่เนื้อแน่นเหนียว จึงนิยมนำมาบริโภคโดยตรง เช่น ต้ม ปิ้ง และเชื่อม เป็นต้น ทำให้มีราคาสูงกว่าชนิดขม ในประเทศไทยไม่มีการปลูกเป็นพื้นที่ใหญ่ๆ เนื่องจากมีตลาดจำกัด มีปริมาณแป้งต่ำและมีราคาสูงกว่าชนิดขม

2. ชนิดขม (Bitter type) เป็นมันสำปะหลังที่มีปริมาณไซยาไนด์สูง เป็นพิษและมีรสขมไม่เหมาะสำหรับการบริโภคของมนุษย์หรือใช้หัวสดเลี้ยงสัตว์โดยตรง จัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมปลูกเพื่อใช้สำหรับอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น แป้งมันสำปะหลัง มันเส้น และมันอัดเม็ด และในอุตสาหกรรมต่อเนื่องอื่นๆ เช่น กลูโคส แอลกอฮอล์ แป้งดัดแปร เป็นต้น เนื่องจากมีปริมาณแป้งในหัวสูง จึงเป็นชนิดที่ปลูกมากในประเทศไทย

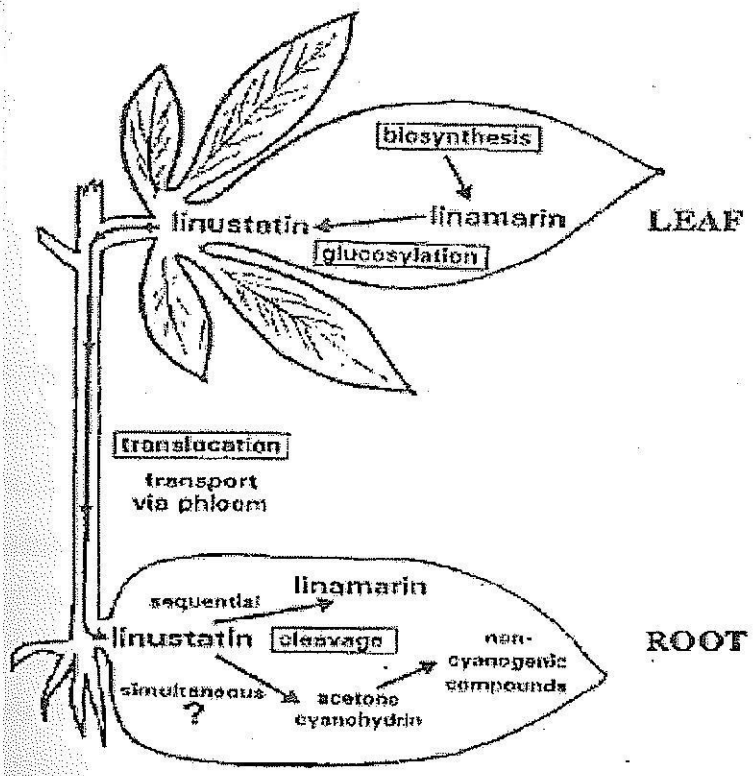
ปริมาณไซยาไนด์ทั้งหมดในส่วนของเนื้อมันสำปะหลังมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ สภาพแวดล้อมในการเพาะปลูก และปัจจัยอื่นๆ จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์ทั้งหมดในส่วนของเนื้อมันสำปะหลังจำนวนมากกว่า 1500 ตัวอย่าง (Bokanga, 1994) พบว่าการกระจายตัวของปริมาณไซยาไนด์ทั้งหมดมีค่าอยู่ที่ 1 ถึงมากกว่า 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมโดยน้ำหนัก โดยปริมาณไซยาไนด์ในเนื้อมันสำปะหลังมีมากที่สุดในช่วงระหว่าง 30-50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีรายงานว่ามีมันสำปะหลังบางชนิดมีปริมาณไซยาไนด์ในส่วนของเนื้อมันประมาณ 1-2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Bradbury *et al.*, 1991; Bourdoux *et al.*, 1982) แต่ก็มีรายงานในประเทศแทนซาเนียว่ามีการตรวจพบปริมาณไซยาไนด์ในเนื้อมันถึง 1090 ถึง 1550 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Mlingi and Bainbridge, 1994) ส่วนในประเทศอินเดียมีรายงานว่าปริมาณไซยาไนด์ในเนื้อมันสำปะหลังมีค่าเฉลี่ยอยู่ประมาณ 1100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Nambisan, 1994) ดังนั้น ปริมาณไซยาไนด์ทั้งหมดในเนื้อมันสำปะหลังที่ตรวจพบมีค่าอยู่ในช่วง 1-1550 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2.2.2 ไซยาไนด์ในมันสำปะหลัง

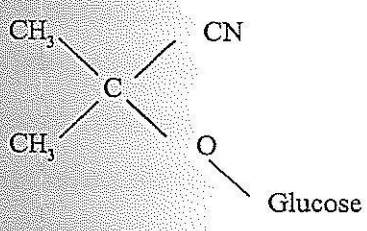
มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศแต่การใช้ประโยชน์ยังมีข้อจำกัด เนื่องจากมีสารพิษซึ่งเกิดจากสารประกอบไซยาโนจินิคกลูโคไซด์ (Cyanogenic glucoside) ซึ่งไซยาไนด์เป็นสารพิษที่สามารถพบได้ในส่วนต่างๆ ของต้นมันสำปะหลัง รวมทั้งหัวมันสำปะหลังที่ใช้ในการสกัดแป้ง ปริมาณไซยาไนด์จะพบบริเวณเปลือกในปริมาณสูงกว่าในเนื้อมันสำปะหลัง (Go'mez *et al.*, 1984) ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันสำปะหลังจะขึ้นอยู่กับพันธุ์อายุในการเก็บเกี่ยว สภาพดิน และสภาวะที่ใช้ในการปลูก เป็นต้น (Aalbersberg and Limalevu, 1991; Santisopasri *et al.*, 2001)

มันสำปะหลังเป็นพืชที่เป็นแหล่งของแป้งสูง มีปริมาณโปรตีน เกลือแร่ และวิตามินต่ำ ส่วนของมันสำปะหลังที่นำมาบริโภค คือ ส่วนของราก ในต้นมันสำปะหลังตั้งแต่ ใบ ต้น และราก จะพบว่ามีสารไซยาโนจินิคกลูโคไซด์ (Cyanogenic glucoside) ปะปนอยู่ ซึ่งสารนี้สามารถเปลี่ยนรูปและปลดปล่อยไซยาไนด์ (Cyanide) ได้ โดยไซยาไนด์เป็นสารพิษที่มีพิษต่อมนุษย์และสัตว์ การสังเคราะห์ไซยาไนด์ในมันสำปะหลังเกิดขึ้นที่ใบอ่อน และมีการขนส่งไปตามท่อลำเลียงอาหารไปเก็บสะสมไว้ที่ราก (Selmar, 1994) ดังแสดงในภาพที่ 2-1 โดยปกติสารไซยาโนจินิคกลูโคไซด์ที่พบในมันสำปะหลังมีอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ ลินามาริน (Linamarin) [2-(ß-D-glucopyranosyloxy)

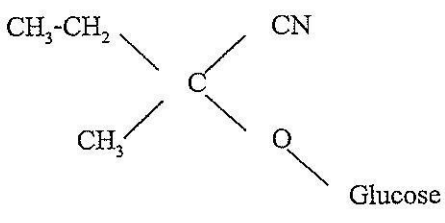
isobutyronitrile] และโลตาสตราลิน (Lotaustralin) [methyl-linamarin, 2-(ß-D-glucopyranosyloxy) methylbutyronitrile] ซึ่งถูกสังเคราะห์ขึ้นจากกรดอะมิโน 2 ตัว คือ วาลีน (Valine) และไอโซลิวซีน (Isoleucine) ตามลำดับ ปกติไซยาโนจินิคกลูโคไซด์ที่พบในมันสำปะหลังจะประกอบด้วยลินามาริน ร้อยละ 93 และโลตาสตราลินร้อยละ 7 ดังนั้นเมื่อกล่าวถึงไซยาโนจินิคกลูโคไซด์ในมันสำปะหลัง จึงมักหมายถึงลินามาริน สูตรโครงสร้างของลินามารินและโลตาสตราลิน แสดงดังภาพที่ 2-2



ภาพที่ 2-1 การเคลื่อนย้ายสารไซยาโนจินิคกลูโคไซด์ในมันสำปะหลัง (Selmar, 1994)



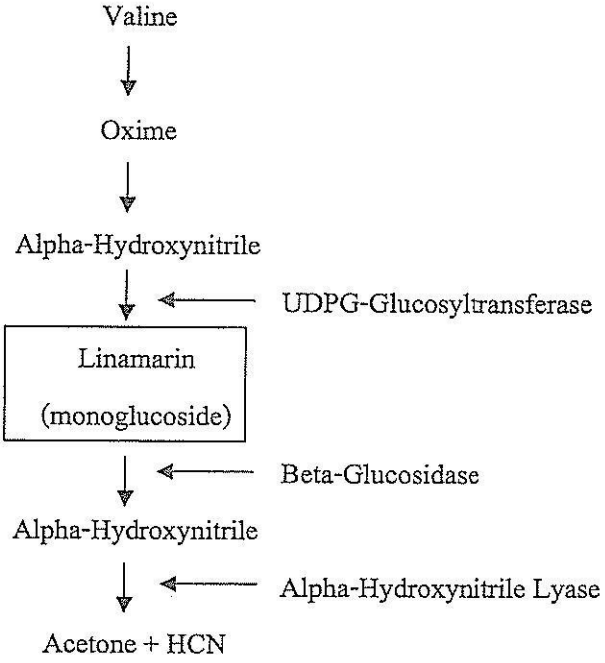
ลินามาริน (Linamarin)



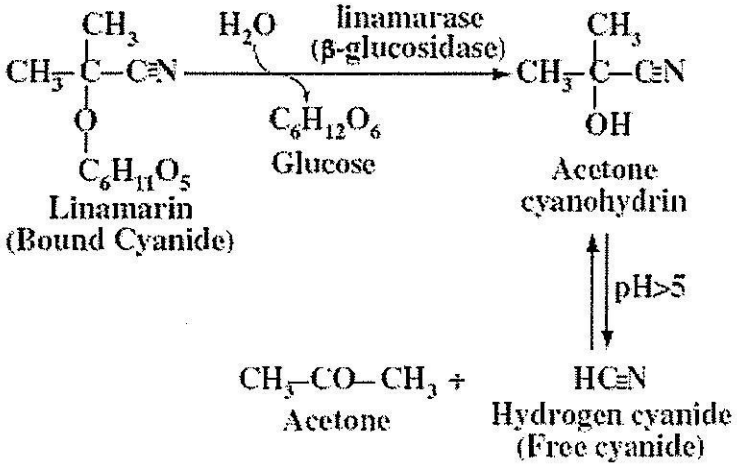
โลตาสตราลิน (Lotaustralin)

ภาพที่ 2-2 สูตรโครงสร้างของลินามาริน และโลตาสตราลิน (Balagopalan *et al.*, 1988)

การสังเคราะห์ลินามารินเกิดจากโปรตีนตั้งต้น คือ วาลีน (Valine) โดยวาลีนสามารถถูกเปลี่ยนไปเป็นสารลินามารินได้ในสภาวะที่มีเอนไซม์ยูดีจีพี-กลูโคซิลทรานสเฟอเรส (UDPG-Glucosyltransferase) สารลินามารินสามารถถูกย่อยสลายได้โดยเอนไซม์ลินามาเรส (Linamarase) (EC 3.2.1.21, linamarin ß-D glucoside glucohydrolase) และเอนไซม์แอลฟา-ไฮดรอกซีไนทริลไลเอส (alpha-hydroxynitrile lyase) การสังเคราะห์และการสลายลินามารินแสดงดังภาพที่ 2-3 และภาพที่ 2-4 โดยรูปของไซยาไนด์ที่พบในมันสำปะหลังสามารถเปลี่ยนรูปได้ 3 รูป คือ บาวด์ไซยาไนด์ (Bound cyanide) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าไซยาโนจินิค กลูโคไซด์ (Cyanogenic glucosides) ไซยาโนไฮดริน (Cyanohydrin) และไซยาไนด์อิสระ (Free cyanide)



ภาพที่ 2-3 การสังเคราะห์และการสลายของสารลินามาริน (Balagopalan *et al.*, 1988)



ภาพที่ 2-4 การย่อยสลายของ Linamarin (Bokanga, 1994)

ทั้งนี้ปริมาณของไซยาไนด์ที่พบในหัวมันสำปะหลังจะขึ้นอยู่กับพันธุ์และการจัดการการเพาะปลูก ถึงแม้ว่าไซยาไนด์จะเป็นสารพิษที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ แต่ก็สามารถถูกกำจัดออกไปได้ในระหว่างการแปรรูป ซึ่งจะเป็นการลดโอกาสการปนเปื้อนของไซยาไนด์ในผลิตภัณฑ์ได้ แต่การลดปริมาณไซยาไนด์จะมีประสิทธิภาพหรือไม่ จำเป็นต้องรู้ถึงชนิด ปริมาณ และสมบัติของสารประกอบไซยาไนด์ที่มี เพื่อที่จะได้จัดการการแปรรูปอย่างถูกต้อง

การวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังเป็นการบ่งบอกถึงความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง การวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์มีหลายวิธีทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและสมบัติของสารประกอบไซยาไนด์ที่ต้องการวิเคราะห์ โดยวิธีการวิเคราะห์ที่ได้ผลแม่นยำและรวดเร็ว คือ การวิเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ (Enzymatic method) (O' Brien *et al.*, 1991) ซึ่งหลักการของวิธีนี้ คือ การสกัดตัวอย่างด้วยกรดฟอสฟอริก/แอลกอฮอล์ เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ลินามาเรสในหัวมัน และเติมเอนไซม์ลินามาเรส ซึ่ง Bound cyanide หรือไซยาโนจินิคกลูโคไซด์ จะถูกย่อยกลายเป็น Cyanohydrin และ Glucose ต่อจากนั้นปรับพีเอชให้อยู่ในสภาพเป็นด่างโดยการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ขณะนี้ Cyanohydrin จะเปลี่ยนรูปเป็น CN^- ซึ่งอยู่ในสภาวะที่พีเอชมากกว่า 4 แล้วเติมสารที่ทำให้เกิดสี (Color reagent) ซึ่งประกอบด้วย สารละลายคลอรามินทีและสารละลายไพริดีน/ไพราโซโลน เพื่อให้เกิดสี และทำการวัดค่าดูดกลืนแสง สารประกอบไซยาไนด์สามารถพบได้ 3 รูปแบบ คือ Cyanogenic glycoside (Bound cyanide), Cyanohydrin และ Free HCN ซึ่งในการวิเคราะห์หาปริมาณไซยาไนด์ที่อยู่ในรูปต่างๆ สามารถทำได้ ดังนี้

1. Total cyanogen ได้แก่ Cyanogenic glucosides รวมกับ Cyanogydrin และ HCN โดยในการวิเคราะห์จะทำการสกัดด้วยสารสกัด มีการใช้เอนไซม์เพื่อการย่อยสารประกอบ Glucoside ให้

เป็น Cyanohydrin และมีการปรับพีเอชของสารละลายเพื่อเปลี่ยน Cyanohydrin ไปเป็น Free cyanide แล้วจึงวิเคราะห์หาปริมาณ Free cyanide ทั้งหมด

2. Non-glucosidic cyanogens หรือ Non cyanogenic glucoside ได้แก่ Cyanohydrin รวมกับ HCN วิเคราะห์โดยการสกัดด้วยสารสกัด และไม่ย่อยด้วยเอนไซม์ ดังนั้นในการวิเคราะห์จะไม่มีการเปลี่ยน Glucoside เป็น Cyanohydrin แต่จะมีการปรับพีเอช เพื่อเปลี่ยน Cyanohydrin ไปเป็น Free cyanide แล้ววิเคราะห์หาปริมาณ Free cyanide ทั้งหมด ซึ่งจะรวมทั้ง Cyanohydrin และ Free cyanide

3. Free cyanide ได้แก่ HCN วิเคราะห์โดยการควบคุมพีเอชของระบบให้น้อยกว่า 4.0 และไม่เติมเอนไซม์ ดังนั้น ทั้ง Glucoside และ Cyanohydrin จะไม่มีการเปลี่ยนรูปเป็น Free cyanide ดังนั้นปริมาณไซยาไนด์ที่วิเคราะห์ได้จึงเป็นปริมาณ Free cyanide ที่มีอยู่ในระบบเท่านั้น

จากการวิเคราะห์ข้างต้น สามารถนำไปคำนวณหารูปต่างๆ ของไซยาไนด์ ได้ดังนี้

Cyanogenic glucosides	=	Total cyanogens – Non cyanogenic glucoside
Cyanohydrin	=	Non cyanogenic glucoside – HCN
Free cyanide	=	HCN

จากหลักการการวัดปริมาณไซยาไนด์โดยการใช้เอนไซม์ โดยทำให้ไซยาไนด์เปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารทำให้เกิดสีที่สามารถทำการวัดค่าได้ การเปลี่ยนแปลงรูปแบบของไซยาไนด์ไปอยู่ในรูปที่วิเคราะห์ได้เป็นชนิดที่ไม่มีความเสถียร สามารถแตกตัวและระเหยได้ง่าย หลักการดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในการลดปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันสำปะหลังได้ โดยไซยาไนด์ที่พบอยู่ในรูปของหัวมันจะอยู่ในรูปของไซยาโนจินิคกลูโคไซด์ ซึ่งสามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ เกิดเป็นสารประกอบไซยาโนไฮดรินที่สามารถแตกตัวได้อย่างรวดเร็วในสภาวะด่างและให้กรดไฮโดรไซยานิคที่ระเหยได้ง่าย

2.2.3 ความแปรปรวนของไซยาไนด์ในมันสำปะหลัง

ปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันสำปะหลังจะแปรปรวนไปตามพันธุ์ และสิ่งแวดล้อม โดยสภาวะการขาดน้ำจะทำให้ปริมาณไซยาไนด์เพิ่มขึ้น การใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ถ้าใส่ในอัตราสูงจะทำให้เพิ่มสารที่จะเปลี่ยนไปเป็นสารไซยาโนจินิคกลูโคไซด์ (เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์, 2519) และแร่ธาตุในดิน โดยเฉพาะปริมาณโพแตสเซียมจะส่งผลต่อปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันด้วยเช่นกัน (Howeler, 1985)

การวิเคราะห์หาปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันสำปะหลังจำนวน 179 สายพันธุ์ โดย Hidayat และคณะ (2000) พบว่า มันสำปะหลังมีความแปรปรวนของไซยาไนด์ตั้งแต่ 9-234 พีพีเอ็ม แบ่งออกได้เป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่มีปริมาณไซยาไนด์สูงมาก 138-234 พีพีเอ็ม มีประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่มีปริมาณไซยาไนด์สูง 84-134 พีพีเอ็ม มีประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่มีปริมาณไซยาไนด์ปานกลาง 55-81 พีพีเอ็ม มีประมาณ 17 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่มีปริมาณไซยาไนด์ต่ำ 30-54 พีพีเอ็ม มีประมาณ 19 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่มีปริมาณไซยาไนด์ต่ำมาก 9-35 พีพีเอ็ม มีประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนั้นปัจจัยอื่นๆ เช่น การบังแสงจะทำให้เพิ่มสารไฮโดรไซยานิคในใบ แต่ในหัวจะลดลงซึ่งปริมาณสารไฮโดรไซยานิคนี้ไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดของหัว และในเปลือกของหัวก็ไม่มีความสัมพันธ์กับเนื้อเช่นกัน

2.2.4 วิธีลดปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลัง

ปริมาณไซยาไนด์ในผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังในระดับปลอดภัยนั้นมีกำหนดไว้ใน Codex Alimentarius โดยมาตรฐานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติและองค์การอนามัยโลกให้อยู่ในระดับไม่เกิน10 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง (FAO/WHO, 1991) ดังนั้นการแปรรูปมันสำปะหลังจะเป็นการลดปริมาณไซยาไนด์ลง ซึ่งมีวิธีดังนี้

1) การปอกเปลือก มันสำปะหลังจะมีกรดไฮโดรไซยานิคประมาณ 20-400 ส่วนต่อล้านส่วน (ppm) ในขณะที่หัวมันไม่ปอกเปลือกมีมากกว่า 600 ส่วนต่อล้านส่วน (Hutagalung, 1972) ซึ่ง Oke (1966) รายงานว่า เมื่อนำมันสำปะหลังมาปอกเปลือกจะทำให้ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิค ลดลงจาก 38 มิลลิกรัมเหลือเพียง 1.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักสด

2) การแปรรูปเป็นมันเส้นและมันอัดเม็ด ในขบวนการผลิตมันเส้น (cassava chip) ต้องหั่นหัวมันสำปะหลังเป็นชิ้นเล็กๆ หรือเป็นแว่นๆ หลังจากนั้นก็นำไปทำให้แห้ง โดยใช้ความร้อนจากแสงแดด 2-3 วัน ส่วนมันอัดเม็ดเป็นการแปรรูปมันเส้น ก่อนอัดมันเส้นจะต้องผ่านไอน้ำร้อนทำให้นิ่มก่อนเมื่อเข้าเครื่องอัดก็จะได้มันอัดเม็ด

Khajarern และคณะ (1978) พบว่า ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคจะลดลงอย่างมากเมื่อมันสำปะหลังถูกแปรรูปจากหัวมันสดเป็นมันอัดเม็ด ซึ่งปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคที่เหลือหลังจากผ่านขบวนการแปรรูปเป็นมันเส้นแล้วมีปริมาณ 24.75 ส่วนต่อล้านส่วน ขณะที่ปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคที่เหลือหลังจากขบวนการอัดเม็ดมันสำปะหลังเหลือเพียง 11.82 ส่วนต่อล้านส่วน สำหรับในมันสำปะหลัง หลังจากตากแดดเป็นเวลา 3 วัน จะมีปริมาณกรดไฮโดรไซยานิคตกค้างน้อยกว่า 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง (สาโรชน์ ค้าเจริญ และเยาวมาลย์ ค้าเจริญ, 2531) ส่วนมันเส้นมีปริมาณไซยาไนด์ 2-88 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง (Yeoh and Sun, 2001)

3) การผ่านความร้อนโดยการต้ม เชื่อม ย่าง เผา และทอด Hahn และคณะ (1988) พบว่า การให้ความร้อนแก่มันสำปะหลังที่อุณหภูมิสูงกว่า 72 องศาเซลเซียส จะทำให้เอนไซม์ลินามาเรสถูกทำลายให้เสียสภาพไปและไม่สามารถทำงานได้ จึงไม่สามารถย่อยลินามารินและโลตาสตราลิน ให้ออกมาอยู่ในรูปของกรดไฮโดรไซยานิค ก็จะทำให้ไม่เกิดสารพิษจากกรดไฮโดรไซยานิค แต่ก็ควรระวังเพราะอาจจะมีเอ็นไซม์จากผักหรืออาหารอื่นที่กินเข้าไป สามารถย่อยลินามารินและ โลตาสตราลิน ให้ออกมาอยู่ในรูปของกรดไฮโดรไซยานิคทำให้เป็นอันตรายถึงแก่ชีวิตได้

Charles และคณะ (2001) รายงานว่า ขบวนการแปรรูปต่างๆ ในมันสำปะหลังจะทำให้ปริมาณไซยาไนด์ลดลงได้แตกต่างกันออกไป เช่นในหัวสดจะมีปริมาณไซยาไนด์ 58.2-140.0

มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่เมื่อนำไปต้มจะมีปริมาณไซยาไนด์ 30.7-77.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เผาจะมีปริมาณไซยาไนด์ 49.6-122.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทอดจะมีปริมาณไซยาไนด์ 49.8-125.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นึ่งจะมีปริมาณไซยาไนด์ 47.5-121.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตากแดดจะมีปริมาณไซยาไนด์ 43.5-99.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

4) การหมัก ทำโดยปอกเปลือกแล้วล้างให้สะอาด บดให้ละเอียด นำไปใส่ในกระสอบแช่ในน้ำทิ้งไว้ประมาณ 4 วัน ระหว่างทิ้งไว้จะเกิดการหมักขึ้น หลังจากนั้นก็นำไปทอดเป็นอาหาร การหมักจะมีเชื้อจุลินทรีย์เข้าทำปฏิกิริยา ซึ่งระหว่างการหมักนั้นจะมีแบคทีเรีย ทำให้พีเอชต่ำลงเป็นกรด จึงทำให้สภาพเหมาะสมที่จะเกิด hydrolyse สารไซยาโนจินิคกลูโคไซด์ ให้เป็น HCN ออกไปกับน้ำที่ไหลออกจากกระสอบ และที่เหลือจะลดลงไปโดยการทอดภายหลัง อย่างไรก็ตามมันสำปะหลังที่ขายอยู่ตามท้องตลาดของไนจีเรียก็ยังตรวจพบ HCN เป็นปริมาณ 19 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Oke, 1966)

Edijala และคณะ (1999) รายงานว่า ในเนื้อมันสำปะหลังชนิดหวานมีปริมาณไซยาไนด์ 29.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ชนิดขม 29.7-54.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่เมื่อนำไปหมักจะลดลงเหลือเพียง 5.4-24.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม Nwokoro และคณะ (2005) พบว่า ที่ไนจีเรียในมันสำปะหลังที่เก็บมาจาก 5 ท้องที่แล้วนำไปหมัก จะมีปริมาณไซยาไนด์ 0.97-1.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

5) การทำเป็นแป้ง มี 2 ชนิด คือ ฟลาว (flour) และแป้ง (starch) ฟลาวได้จากการนำหัวมันสำปะหลังสดมาปอกเปลือก นำไปหั่นเป็นแว่นๆ หลังจากนั้นนำไปตากแดดให้แห้งแล้วบดให้ละเอียด ส่วนขบวนการทำแป้งมันสำปะหลัง คือ นำหัวมันสำปะหลังสดเข้าเครื่องโม่แยกน้ำแป้งออกมา หลังจากนั้นนำน้ำแป้งไปตกตะกอนแยกแป้งออกมา และก็นำไปอบให้แห้ง ขั้นตอนต่างๆ เหล่านี้จะทำให้กรดไฮโดรไซยานิคระเหยออกไปจนอยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตราย (Jones, 1998)

Muhamad และ Bradbury (1999) พบว่า ในแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณไซยาไนด์ 1-16 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง และฟลาวมีปริมาณไซยาไนด์ 17-149 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ส่วน Albert และคณะ (2005) พบว่า สำหรับในฟลาวของมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 5 มีปริมาณไซยาไนด์ 26.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง เกษตรศาสตร์ 50 มีปริมาณไซยาไนด์ 28.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ระยอง 2 มีปริมาณไซยาไนด์ 12.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง และห้านาทีมีปริมาณไซยาไนด์ 8.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง

ทั้งนี้ ระดับมาตรฐานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติและองค์การอนามัยโลกซึ่งได้กำหนดไว้ให้อยู่ในระดับไม่เกิน 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง (FAO/WHO, 1991) ดังนั้นการคัดเลือกพันธุ์มันสำปะหลังให้มีปริมาณไซยาไนด์ในหัวต่ำจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพราะเมื่อนำปรุงอาหารหรือแปรรูปแล้ว จะได้ไม่เป็นอันตรายจากสารไซยาไนด์

2.3 ไซยาไนด์

สารประกอบไซยาไนด์ที่ปล่อยออกมากับน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม จะสามารถคงตัวในสิ่งแวดล้อมในรูปแบบต่างๆ กัน โดยโรงงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวกับการชุบโลหะ การสังเคราะห์เส้นใย การทำเหมือง และการสกัดโลหะ จะทำให้เกิดของเสียที่มีไซยาไนด์จำนวนมาก (Knowles, 1976; Patterson, 1985; Wild, 1987) ซึ่งหากมีไซยาไนด์ตกค้างในน้ำเสีย จะก่อให้เกิดผลกระทบทั้งต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม (Gonclaves et al., 1998) โดยทั่วไปแล้วไซยาไนด์ไอออนในรูปอิสระจะเกิดขึ้นน้อยมากในธรรมชาติเนื่องด้วยโมเลกุลนี้มีคุณสมบัติที่มีอันตรกิริยา (Interaction) สูง ในสิ่งแวดล้อมไซยาไนด์จะอยู่รวมกับสารประกอบอื่นๆ หรือถูกตรึงอยู่กับโลหะในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ความเข้มข้นของไซยาไนด์ปริมาณสูงๆ ที่ตรวจพบในดินและน้ำ มักเป็นผลมาจากการจัดระบบน้ำทิ้งที่ไม่เหมาะสมไซยาไนด์ไอออนมักจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ เช่น ทำปฏิกิริยากับธาตุกำมะถันจากไพไรต์และธาตุอื่นๆ เกิดเป็นไทโอไซยาเนต (SCN^-) หรือเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะ หรือถูกปลดปล่อยออกสู่บรรยากาศ หรือถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์หรือถูกออกซิไดส์กลายเป็นไซยาเนต (CNO^-) และย่อยสลายทางเคมีกลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย และฟอร์เมท เป็นต้น

ได้มีการค้นพบว่าธาตุต่างๆ รวม 28 ชนิดสามารถเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับไซยาไนด์ และเกิดสารประกอบเชิงซ้อนถึง 72 ชนิด สารประกอบของโลหะเชิงซ้อนที่สำคัญ และมักพบในน้ำทิ้งจากเหมืองทอง ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี นิกเกิล โคบอลต์ และแคดเมียม โลหะเหล่านี้มีค่าคงที่เสถียรภาพ (Stability constant) ต่างกัน ตั้งแต่ต่ำสุด เช่น แคดเมียม (1018.9) ไปสูงสุด เช่น โคบอลต์ (1064.0) ซึ่งค่าคงที่เสถียรภาพนั้นเป็นตัวบ่งบอกถึงความสามารถของสารประกอบเชิงซ้อนที่จะแตกตัวให้ไซยาไนด์ไอออนอิสระ (Free cyanide) ดังนั้นโลหะเชิงซ้อนที่มีเสถียรภาพต่ำจึงเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่า ส่วนสารประกอบพวกเหล็กไซยาไนด์ซึ่งมักพบมากในสิ่งแวดล้อม ก็มีค่าคงที่เสถียรภาพสูงถึง 1035.4 สารประกอบเชิงซ้อนไซยาไนด์ของโลหะที่ปะปนออกมา จะสามารถคงทนอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้ขึ้นกับองค์ประกอบหลายอย่าง เช่น เสถียรภาพของสารประกอบไม่ว่าจะอยู่ในสภาพของแข็ง หรือในสารละลายไม่ว่าในดินหรือในแม่น้ำลำคลอง ในกรณีที่เป็นสารละลายองค์ประกอบต่างๆ เช่น ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนในน้ำ และการสลายตัวเนื่องจากแสงอัลตราไวโอเลต (ชัชวลี กะลัมพะเหติ, 2535)

2.3.1 สารประกอบไซยาไนด์

สารประกอบไซยาไนด์สามารถแบ่งออกได้ ดังนี้ (อรอนงค์ ทรงกิตติ, 2539)

2.3.1.1 ไซยาไนด์อิสระ หมายถึง ไซยาไนด์ในรูปของก๊าซไฮโดรเจนไซยาไนด์ (HCN) หรือกรดไฮโดรไซยานิค (Hydrocyanic acid) และไซยาไนด์ไอออน (CN^-) ไฮโดรเจนไซยาไนด์เป็นกรดอ่อนที่ระเหยได้ง่าย สัดส่วนของไซยาไนด์ไอออนต่อไฮโดรเจนไซยาไนด์นั้นจะขึ้นอยู่กับค่าพีเอช

และค่าคงตัวของการแตกตัวเป็นไอออน (K_a) ของไฮโดรเจนไซยาไนด์ ($K_a = 4.6\times10^{-10}$ ที่ 25 องศาเซลเซียส) ตามสมการที่ 2-1 ดังนั้นในแหล่งน้ำผิวดินทั่วไป จะพบไซยาไนด์ในรูปของไฮโดรเจนไซยาไนด์

$$HCN \longrightarrow H^+ + CN^- \quad ; \ pK_a = 9.25 \qquad (2\text{-}1)$$

2.3.1.2 สารประกอบไซยาไนด์เชิงเดี่ยว หมายถึง สารประกอบของไซยาไนด์กับโลหะอัลคาไลน์ เช่น โพแตสเซียมไซยาไนด์ (KCN) โซเดียมไซยาไนด์ (NaCN) และแอมโมเนียมไซยาไนด์ (NH_4CN) เป็นต้น มีสูตรทั่วไป คือ $A(CN)_X$

เมื่อ A = โลหะอัลคาไลน์หรือแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+)

X = จำนวนวาเลนซ์ของ A ซึ่งเป็นจำนวนของไซยาไนด์ไอออน

สารประกอบเหล่านี้ มักเป็นสารประกอบที่ไม่เสถียร ระเหยได้ง่าย มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว ละลายน้ำได้ดี เมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นสารละลาย จะแตกตัวให้ไซยาไนด์ไอออน (CN^-) ซึ่งมีความเป็นพิษสูง มีกลิ่นคล้ายอัลมอนด์

2.3.1.3 สารประกอบไซยาไนด์กับโลหะหนัก เช่น คอปเปอร์ (II) ไซยาไนด์ ($Cu(CN)_2$) ซิลเวอร์ไซยาไนด์ (AgCN) และซิงค์ไซยาไนด์ ($Zn(CN)_2$) เป็นต้น เป็นสารประกอบที่ละลายน้ำได้น้อยมาก แต่จะละลายได้ดีขึ้นเมื่ออยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนของไซยาไนด์กับโลหะ

2.3.1.4 สารประกอบไซยาไนด์เชิงซ้อน หมายถึง สารประกอบของไซยาไนด์กับโลหะอัลคาไลน์และโลหะหนัก เช่น โพแตสเซียมเฟอโรไซยาไนด์ ($K_4Fe(CN)_6$) และโพแตสเซียมโคบอลโตไซยาไนด์ ($K_3Co(CN)_6$) เป็นต้น แทนด้วยสูตรทั่วไป คือ $A_YM(CN)_X$

เมื่อ A = โลหะอัลคาไลน์

Y = จำนวนโลหะอัลคาไลน์ที่มีในสารประกอบ

M = โลหะหนัก (เช่น Fe, Cd, Cu, Ni, Ag และ Zn)

X = จำนวนของไซยาไนด์ไอออน ซึ่งเท่ากับวาเลนซ์ของ A รวมกับวาเลนซ์ของโลหะหนัก M

สารประกอบเชิงซ้อนที่พบในน้ำทิ้งอุตสาหกรรมชุบโลหะที่สำคัญ ได้แก่ ทองแดง สังกะสี นิกเกิล และแคดเมียม โลหะแต่ละชนิดจะมีค่าคงที่เสถียรภาพ (Stability constant) ต่างกัน ค่าคงที่เสถียรภาพจะบ่งบอกถึงความสามารถของสารประกอบเชิงซ้อนที่แตกตัวให้ไซยาไนด์ไอออนอิสระ ดังนั้นโลหะเชิงซ้อนที่มีเสถียรภาพต่ำจึงเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่า

2.3.1.5 ไซยาโนเจนคลอไรด์ (Cyanogen chloride, CNCl) เป็นสารประกอบที่ระเหยได้ง่าย ละลายน้ำได้เล็กน้อย มีความเป็นพิษสูงมาก เกิดจากการบำบัดไซยาไนด์ในน้ำเสียโดยใช้วิธีออกซิเดชันด้วยคลอรีน ตามสมการที่ 2-2

$$NaCN + Cl_2 \longrightarrow CNCl + NaCl \qquad (2\text{-}2)$$

2.3.2 แหล่งกำเนิดไซยาไนด์

ไซยาไนด์ นั้นพบอยู่มากมายในธรรมชาติ เช่น พืช แบคทีเรีย และราที่สามารถสังเคราะห์และหลั่งสารประกอบนั้นออกมาได้ แต่แหล่งที่พบไซยาไนด์มากที่สุดก็คือของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรม ดังแสดงในตารางที่ 2-3 ที่แสดงให้เห็นว่ามีการใช้สารประกอบไซยาไนด์ต่างๆ ในอุตสาหกรรมหลายประเภท

ตารางที่ 2-3 อุตสาหกรรมที่ใช้สารประกอบไซยาไนด์

สารประกอบไซยาไนด์	อุตสาหกรรม
Cadmium cyanide ($Cd(CN)_2$)	การเคลือบโลหะด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า
Calcium cyanide ($Ca(CN)_2$)	อุตสาหกรรมแร่, การรมควัน, การผลิตไฮโดรเจนไซยาไนด์, การผลิตเหล็กไซยาไนด์, อุตสาหกรรมซีเมนท์
Cuprous cyanide (CuCN)	การเคลือบโลหะด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า, สารที่ใช้เป็นยา, สารกำจัดแมลง, การผลิตสี
Cyanogen bromide (CNBr)	การสกัดทอง, สารกำจัดศัตรูพืช
Hydrogen cyanide (HCN)	การเคลือบโลหะด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า, สารป้องกันความกระด้าง, ผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับยา, สารกำจัดสัตว์ฟันแทะ, สารกำจัดแมลง, อุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลัง
Nickel cyanide ($Ni(CN)_2.4H_2O$)	การเคลือบโลหะด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า
Potassium cyanide (KCN)	การเคลือบโลหะด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า, กระบวนที่ทำให้เหล็กแข็งขึ้น, การสกัดโลหะจากแร่, การขัดเงาเครื่องเงิน, การถ่ายภาพ
Potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$)	การถ่ายภาพ, การทำภาพพิมพ์เขียว, สารที่เติมเข้าไปเพื่อเปลี่ยนคุณสมบัติของโลหะ, การเคลือบโลหะโดยใช้สีย้อมด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า
Potassium ferricyanide ($K_4Fe(CN)_6$)	สารที่เติมเพื่อทำเหล็กกล้า, กระบวนการแกะสลัก, สีย้อม
Silver cyanide (AgCN)	การเคลือบโลหะด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า

ตารางที่ 2-3 อุตสาหกรรมที่ใช้สารประกอบไซยาไนด์ (ต่อ)

สารประกอบไซยาไนด์	อุตสาหกรรม
Sodium cyanide (NaCN)	การบำบัดโลหะ, การเคลือบโลหะด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า, การสังเคราะห์, การสกัดแร่, การถ่ายภาพ
Lead cyanide ($Pb(CN)_2$)	สารกำจัดแมลง, การเคลือบโลหะด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า

ที่มา : Cheremisinoff, 1995

2.3.3 ความเป็นพิษของไซยาไนด์

ไอออนไซยาไนด์มีศักยภาพในการระงับการเจริญเติบโตและกระบวนการสร้างและสลาย (Metabolism) ของเซลล์สิ่งมีชีวิต รวมถึงการหายใจ (Respiration) และกระบวนการสลายไนโตรเจนและฟอสเฟต (Nitrogen and Phosphate metabolism) เช่น ไซยาไนด์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสรีระของเซลล์แบคทีเรีย *Bacillus pumillus* กระตุ้นให้ *Escherichia coli* เจริญเติบโตแบ่งตัวเร็วขึ้น มีผลต่อการเคลื่อนที่ของ *Spirillum volutans* เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของ *Neurospora crassa* หยุดยั้งการทำงานของเอนไซม์ไมโตคอนเดรียล ไซโตโครม ออกซิเดส (Mitochondria cytochrome oxidase), คาตาเลส (Catalase), เปอร์ออกซิเดส (Peroxidase), ไทโรไซเนส (Tyrosinase), ฟอสฟาเทส (Phosphatase) เป็นต้น ไซยาไนด์จะเข้าไประงับการทำงานของเอนไซม์โดยเข้าไปจับกับโคแฟคเตอร์ที่เป็นโลหะ (Metallic cofactors) ในเอนไซม์ (Metalloenzymes) CN^- จะทำปฏิกิริยากับ Fe(II) ในเอนไซม์ไมโตคอนเดรียล ไซโตโครมออกซิเดส และระงับปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox reaction) ยับยั้งไม่ให้เนื้อเยื่อในระบบประสาทส่วนกลาง (Central nervous system) ดึงออกซิเจนมาใช้ ส่งผลให้สิ่งมีชีวิตตายไปในที่สุด พบว่าไซยาไนด์ในปริมาณ 33 นาโนโมล สามารถระงับการทำงานของเอนไซม์ไซโตโครมออกซิเดสได้โดยสิ้นเชิง โพแทสเซียมไซยาไนด์ (KCN) ในปริมาณ 0.5-17 มิลลิโมล สามารถยับยั้งการลอกแบบดีเอ็นเอ (DNA replication) ของ *E.coli* และการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (DNA repair) ใน *Chlamydomonas reinhardii* (Oliveira *et al.*, 2001)

เป็นที่น่าสังเกตว่าจุลินทรีย์ที่ชอบไซยาไนด์ (Cyanogenic microorganism) สามารถทำลายพิษ (Detoxify) ของไซยาไนด์โดยการสังเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ไซยาไนด์ขึ้นภายในเซลล์ในกระบวนการสลายไซยาไนด์ (Cyanide-metabolizing pathways) (Oliveira *et al.*, 2001)

ไซยาไนด์มีพิษต่อจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น แบคทีเรีย รา สาหร่าย และโปรโตซัว ตัวอย่างเช่น ไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 0.04 และ 0.16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้งการเจริญเติบโตของโปรโตซัว *Microregma hrterostoma* และสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus guadricauda* ตามลำดับ และที่ความ

เข้มข้นเพียง 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถฆ่าแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. เนื่องจากความเป็นพิษร้ายแรงของไซยาไนด์ จึงได้มีการกำหนดมาตรฐานน้ำทิ้งตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมว่าห้ามมิให้ปล่อยน้ำทิ้งที่มีไซยาไนด์เป็นองค์ประกอบโดยคิดเทียบเป็นไฮโดรเจนไซยาไนด์ (HCN) เกินกว่า 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ออกจากโรงงานอุตสาหกรรม (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2539)

2.3.4 การวิเคราะห์ไซยาไนด์

การวิเคราะห์ไซยาไนด์ในรูปแบบต่างๆ มีอยู่ 4 รูปแบบ คือ (อรอนงค์ ทรงกิตติ, 2539)

2.3.4.1 Total cyanide

Total cyanide คือ ปริมาณไซยาไนด์ที่วัดได้หลังจากการรีฟลักซ์ด้วยกรด สารประเภทนี้รวมถึงสารประกอบเชิงซ้อนไซยาไนด์ของเหล็ก และสารประเภท weakly acid dissociable และพวกสารประกอบเชิงซ้อนอื่นๆ ยกเว้น ทองแดง โคบอลท์ และแพลทตินั่ม ที่มีค่าคงที่ของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสูง ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว การวิเคราะห์หาไซยาไนด์นิยมหาในรูปแบบ Total cyanide มากที่สุด โดยสามารถวิเคราะห์ได้จากวิธีการไทเทรต หรือการเทียบสี

2.3.4.2 Weak acid dissociable cyanide (WAD)

Weak acid dissociable cyanide หมายถึง สารประกอบของไซยาไนด์ที่สามารถแตกตัวได้ง่าย เนื่องจากสมบัติความเป็นกรดอ่อน รวมทั้งพวกไซยาไนด์ไอออนและสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะที่มีเสถียรภาพต่ำ เช่น แคดเมียม ทองแดง นิกเกิล เงิน และสังกะสี เป็นต้น ในการวิเคราะห์ไฮโดรเจนไซยาไนด์จะเกิดขึ้นจากกระบวนการกลั่นภายใต้สภาวะที่เป็นกรดเล็กน้อย (pH 4.5-6.0) ซึ่งวิธีนี้จะไม่สามารถใช้กับสารประกอบเชิงซ้อนไซยาไนด์ที่มีความคงตัวสูง เนื่องจากจะไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับคลอรีน สำหรับการวิเคราะห์หา WAD จะใช้ acetate buffer ที่มีเกลือสังกะสีในการตกตะกอนออกมาในรูปของเหล็กไซยาไนด์ จากนั้นให้นำไปวิเคราะห์หาไซยาไนด์ได้โดยวิธีการไทเทรต หรือการเทียบสี

2.3.4.3 Cyanide amenable to chlorination (CATC)

Cyanide amenable to chlorination หมายถึง ไซยาไนด์ที่มีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับคลอรีน ในการวิเคราะห์หา CATC จะเป็นผลต่างของการวัดปริมาณ Total cyanide ก่อนและหลังปฏิกิริยา Chlorination ค่าเหล่านี้รวมไปถึงไซยาไนด์ทุกตัว รวมทั้งไทโอไซยาเนต (SCN) ยกเว้น สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก ซึ่งข้อควรระวังในการวิเคราะห์หา CATC คือ ควรระมัดระวังตัวอย่างไม่ให้สัมผัสกับรังสีอัลตราไวโอเลต เนื่องจากจะทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบไซยาไนด์ในตัวอย่างได้ จากนั้นให้นำไปวิเคราะห์หาไซยาไนด์โดยวิธีการไทเทรต หรือการเทียบสี

2.3.4.4 Free cyanide

Free cyanide หมายถึง ไซยาไนด์ซึ่งอยู่ในรูปของไซยาไนด์ไอออน (CN^-) และสารประกอบไฮโดรเจนไซยาไนด์ (HCN) โดยที่ pH 9.3-9.5 ไซยาไนด์ไอออน และไฮโดรเจนไซยาไนด์จะอยู่ในภาวะสมดุล ถ้า pH 11 สารละลายจะอยู่ในรูปไซยาไนด์ไอออนมากกว่า 99% แต่ถ้า pH 7 สารละลายจะอยู่ในรูปไฮโดรเจนไซยาไนด์มากกว่า 99% แม้ว่าไฮโดรเจนไซยาไนด์จะละลายน้ำได้ แต่ถ้าอุณหภูมิและความเค็มเพิ่มขึ้นจะทำให้ความสามารถในการละลายน้อยลง สำหรับการวิเคราะห์หาไซยาไนด์สามารถทำได้โดยวิธีการไทเทรต หรือการเทียบสีโดยตรงโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการอื่น

2.4 การบำบัดไซยาไนด์

เทคโนโลยีที่ใช้ในการบำบัดไซยาไนด์ในปัจจุบันส่วนใหญ่จะเป็นวิธีการทางเคมี แต่เป็นวิธีการที่เสียค่าใช้จ่ายสูง และไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จึงมีการนำวิธีทางชีวภาพเข้ามาใช้กันเพราะมีค่าใช้จ่ายน้อยกว่าและยังไม่เป็นมลพิษอีกด้วย ซึ่งการเลือกว่าจะใช้วิธีใดนั้นขึ้นอยู่กับรูปแบบของไซยาไนด์ ความเข้มข้น การเกิดสารเชิงซ้อน และความสามารถของโรงงานในการนำไปปฏิบัติ วิธีการบำบัดที่ใช้กันทั่วไป ได้แก่

2.4.1 การบำบัดไซยาไนด์โดยกระบวนการทางเคมี

เป็นวิธีการที่ใช้กันแพร่หลายในการบำบัดไซยาไนด์ในน้ำเสียโดยการเปลี่ยนให้ไปอยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษน้อยลง เช่นไซยาเนต (CNO^-) หรือเปลี่ยนต่อไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และไนโตรเจน (N_2) ซึ่งกระบวนการที่ใช้หลักการนี้ ได้แก่ การเติมคลอรีน (Alkaline chlorination) การเติมโพแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต (Permanganate oxidation) การเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) การใช้แสงอัลตราไวโอเลต (UV) การเติมโอโซนกับแสงอัลตราไวโอเลต (Ozonation with UV light) ซึ่งปฏิกิริยาการออกซิเดชันที่เกิดขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 2-4 (Cheremisinoff, 1995)

การเติมคลอรีนเป็นการทำลายไซยาไนด์โดยการเติมโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) หรือก๊าซคลอรีนร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งจะสามารถออกซิไดซ์ไซยาไนด์ไปเป็นไซยาเนตได้อย่างรวดเร็ว เมื่อพีเอชมากกว่า 10 โดยใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 5 ถึง 10 นาที จากนั้นไซยาเนตจะถูกออกซิไดซ์ต่อด้วยคลอรีนที่มีมากเกินพอ กลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และก๊าซไนโตรเจน (N_2) ที่พีเอชตั้งแต่ 10 ขึ้นไปจะใช้เวลาในการทำปฏิกิริยานาน แต่หากน้ำเสียมีพีเอชอยู่ในช่วง 7-8 จะใช้เวลาทำปฏิกิริยาเพียง 2-5 นาที

การเติมโพแตสเซียมเปอร์แมงกาเนตเป็นการทำลายไซยาไนด์ในน้ำเสียโดยการออกซิไดซ์ด้วยโพแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต ($KMnO_4$) ที่พีเอช 12-14 เนื่องจากพีเอชต่ำกว่า 6 จะไม่เกิดปฏิกิริยา และที่พีเอช 6-9 จะเกิดก๊าซไซยาโนเจน ($(CN)_2$) ซึ่งมีความเป็นพิษสูง

การเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะเป็นการออกซิไดซ์ไซยาไนด์ไปเป็นไซยาเนต โดยปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นเมื่อพีเอชมีค่าสูงกว่า 9 ซึ่งมีช่วงที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 10 ถึง 11 ดังนั้นจึงไม่เกิดก๊าซไฮโดรเจนไซยาไนด์ที่เป็นพิษ และในการกำจัดไซยาไนด์อิสระ จะต้องใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3-6 โมล ต่อไซยาไนด์ 1 โมล ซึ่งอัตราการทำปฏิกิริยาจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไซยาไนด์ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ส่วนเกิน และอุณหภูมิ โดยการใส่ตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น ทองแดง จะช่วยเร่งปฏิกิริยาให้เกิดเร็วขึ้น

การใช้รังสียูวีจะทำให้สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะละลายน้ำได้บางส่วน เนื่องจากน้ำเสียจะต้องไหลผ่านเพื่อรับรังสียูวีเข้มข้น ทำให้ใช้ได้กับเฉพาะสารละลายที่ค่อนข้างใส วิธีนี้จึงมีข้อจำกัด ส่วนการออกซิไดซ์ด้วยรังสียูวีร่วมกับโอโซนหรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จะช่วยให้สามารถออกซิไดซ์สารประกอบเชิงซ้อนของโลหะได้อย่างสมบูรณ์ การใช้รังสียูวีร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำให้เกิดอนุมูล OH (Hydroxyl radical) ซึ่งเป็นสารออกซิไดซ์ที่รุนแรง U.S. EPA (2000) แนะนำว่าแหล่งกำเนิดแสงที่เหมาะสมจะให้แสงในช่วงความยาวคลื่น 200-280 นาโนเมตร ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และโอโซนจะดูดซับรังสีในช่วงนี้ไว้ ข้อดีของการออกซิไดซ์ด้วยรังสียูวี/โอโซน และรังสียูวี/ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ คือ ไม่เกิดสารที่ไม่ต้องการ (เช่น แอมโมเนีย) นอกจากนี้การออกซิไดซ์ด้วยรังสียูวียังสามารถที่จะใช้ร่วมกับ Fenton's reagent และไททาเนียมไดออกไซด์ได้ด้วย

การเติมโอโซนเป็นการทำลายไซยาไนด์ในน้ำเสีย โดยโอโซนที่เติมลงไปจะทำปฏิกิริยากับไซยาไนด์ให้เปลี่ยนเป็นไซยาเนต ซึ่ง Selm (1959) และ Tyler และคณะ (1951) เชื่อว่าการออกซิไดซ์ไซยาเนตจะเปลี่ยนเป็นไนโตรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์

ข้อเสียของการบำบัดไซยาไนด์โดยกระบวนการทางเคมีนี้ ได้แก่

1. ค่าใช้จ่ายในการบำบัดไซยาไนด์โดยการเติมคลอรีนค่อนข้างสูง โดยเฉพาะถ้าอยู่ในรูปไทโอไซยาเนต (SCN$^-$) จะต้องเสียค่าใช้จ่ายในการบำบัดเพิ่มมากขึ้น และยังมีประสิทธิภาพในการบำบัดเหล็กไซยาไนด์ (Ferrocyanide) ได้ต่ำ

2. การบำบัดไซยาไนด์โดยการเติมโอโซนนั้นจะต้องใช้พลังงานมาก ค่าใช้จ่ายในการเดินระบบและควบคุมดูแลสูง และยังมีข้อจำกัดในการเปลี่ยนก๊าซโอโซนไปอยู่ในรูปของเหลว (Liquid phase)

3. หากใช้ซัลเฟอร์ในการบำบัดไซยาไนด์ก็จะเกิดตะกอนของไซยาไนด์เชิงซ้อนในระดับที่ก่อให้เกิดพิษได้ ซึ่งตะกอนจะเกิดการละลายออกมาที่สภาวะพีเอช (pH) ต่ำและมีแสงอาทิตย์ แล้วปล่อยไซยาไนด์อิสระที่มีความเป็นพิษมากออกมาสู่สิ่งแวดล้อม

ตารางที่ 2-4 ปฏิกิริยาการออกซิเดชันสารประกอบไซยาไนด์

Cyanide destruction using chlorine gas :

$$2NaCN + 5Cl_2 + 12NaOH \longrightarrow N_2 + 2Na_2CO_3 + 10NaCl + 6H_2O$$

Cyanide destruction using hypochlorites :

$$2NaCN + 5NaOCl + H_2O \longrightarrow N_2 + 2NaHCO_3 + 5NaCl$$

$$4NaCN + 5Ca(OCl)_2 + 2H_2O \longrightarrow 2N_2 + 2Ca(HCO_3)_2 + 3CaCl_2 + 4NaCl$$

Conversion of cyanide to cyanate using permanganate :

$$2NaCN + 2KMnO_4 + KOH \longrightarrow 2K_2MnO_4 + NaCNO + H_2O$$

Conversion of cyanide to cyanate using hydrogen peroxide :

$$NaCN + H_2O_2 \longrightarrow NaCNO + H_2O$$

ที่มา : Cheremisinoff, 1995

2.4.2 การบำบัดไซยาไนด์โดยการตกตะกอน

เป็นการตกตะกอนไซยาไนด์ออกมาอยู่ในรูปตะกอนที่ไม่เป็นพิษ วิธีนี้จะได้ไซยาไนด์ออกมาอยู่ในรูปตะกอนซึ่งต้องนำไปบำบัดต่อไป อาจโดยการเผาหรือนำมาใช้ซ้ำ (Cheremisinoff, 1995)

2.4.3 การบำบัดไซยาไนด์โดยการสลายด้วยไฟฟ้า

ใช้กับไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้นสูงๆ (ช่วง 45,000-100,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งต้องใช้เวลาในการบำบัดนาน 7-18 วัน แต่วิธีการนี้ไม่สามารถบำบัดไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้นต่ำได้ (Dart *et el.*, 1963; El-Ghaoui *et al.*, 1982; Ho *et al.*, 1990)

2.4.4 การบำบัดไซยาไนด์โดยกระบวนการทางชีวภาพ

ไซยาไนด์เป็นสารที่มีความเป็นพิษสูงในสิ่งมีชีวิต (Chena and Liu, 1999; Yanase *et al.*, 2000) โดยเฉพาะในระบบทางเดินหายใจ (Porter *et al.*, 1983) แต่ก็ยังมีการใช้ไซยาไนด์ในปริมาณมากตามโรงงานอุตสาหกรรม รวมทั้งในกระบวนการชุบโลหะ ผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวกับยา ใยสังเคราะห์ พลาสติก การทำเหมือง การเคลือบโลหะด้วยกระบวนการทางไฟฟ้า และอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลัง (Knowles and Bunch, 1986; White *et al.*, 1988; Yanase *et al.*, 2000) เพื่อเป็นการรักษาสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรน้ำ จึงต้องมีการบำบัดน้ำเสียที่มีส่วนผสมของไซยาไนด์ก่อนการปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อม และในปัจจุบันได้มีการบำบัดไซยาไนด์ด้วยวิธีการทางเคมี เช่น alkaline chlorination, ozonization และ wet-air oxidation (Palmer *et al.*, 1988; Watanabe *et al.*, 1998) แต่วิธีการเหล่านี้มีค่าใช้จ่ายสูง และใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย เช่น คลอรีน และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Watanabe *et al.*,

1998) นอกจากนี้ยังไม่สามารถลดสารประกอบไซยาไนด์ได้อย่างสมบูรณ์ (Figueira *et al.*, 1996) ดังนั้นจึงได้มีการนำวิธีการทางชีวภาพเข้ามาใช้ในการบำบัดไซยาไนด์ เพื่อเปรียบเทียบกับวิธีทางเคมีที่กำลังใช้กันมากในปัจจุบัน เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายไม่สูง และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย (Raybuck, 1992; Dubey and Holmes, 1995) ซึ่งในหลายงานวิจัยได้ทำการศึกษาแล้วพบว่าวิธีการทางชีวภาพสามารถบำบัดไซยาไนด์ได้ (Gantzer and Maier, 1990; Aronstein *et al.*, 1994; Petrozzi and Dunn, 1994; Dumestre *et al.*, 1997; Chapatwala *et al.*, 1998; Dhillon and Shivaraman,1999; Kao *et al.*, 2003; Ezzi and Lynch, 2005; Baxter and Cummings, 2006; Yong-Shik Jeong and Jong Shik Chung, 2006; Sirianuntapiboon *et al.*, 2007; Sirianuntapiboon and Chuamkaew, 2007) นอกจากจะบำบัดไซยาไนด์ได้แล้วยังสามารถช่วยลดค่าซีโอดี (Petrozzi and Dunn, 1994; Chakraborty and Veeramani, 2006; Yong-Shik Jeong and Jong Shik Chung, 2006; Sirianuntapiboon and Chuamkaew, 2007) บีโอดี และไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็นได้อีกด้วย (Sirianuntapiboon *et al.*, 2007; Sirianuntapiboon and Chuamkaew, 2007)

กระบวนการทางชีวภาพที่ใช้จุลินทรีย์จะสามารถลดไซยาไนด์ในน้ำเสียได้ (Watanabe *et al.*, 1998) ซึ่งในหลายงานวิจัยได้อธิบายการบำบัดไซยาไนด์โดยใช้ *Psuedomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp., *Alcaligenes* sp., *Fusarium solani, Klebsiella oxytoca* และ *Trichoderma* spp. (Harris and Knowles, 1983a; Finnegan *et al.*, 1991; Ingvorsen *et al.*, 1991; Meyers *et al.*, 1991; Dumestre *et al.*, 1997; Kao *et al.*, 2003; Ezzi and Lynch, 2005) โดย *Psuedomonas fluorescens* NCIMB สามารถเปลี่ยนไซยาไนด์ให้เป็นแอมโมเนียและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้เอนไซม์ Oxygenase และ *Psuedomonas putida* สามารถใช้ไซยาไนด์ทำให้เกิดไนโตรเจนและสามารถเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนีย (Dorr and Knowles, 1989) ดังในรายงานวิจัยของ Kunz และคณะ (1994) ที่พบว่า *Psuedomonas fluorescens* NCIMB สามารถลดไซยาไนด์ได้ด้วยเอนไซม์หลายชนิด เช่น Oxygenase, Cyanide nitrilase และ Cyanide hydratase ซึ่งจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Psuedomonas* sp. จะสามารถลดไซยาไนด์ด้วยการทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนไซยาไนด์ให้เป็นแอมโมเนีย และเปลี่ยนรูปแบบภายใต้สภาวะที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน (Watanabe *et al.*, 1998) และในรายงานวิจัยของ Dhillon และ Shivaraman (1999) ยังพบว่าจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Pseudomonas* sp. สามารถลดสารประกอบไซยาไนด์ได้เช่นกัน นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Chapatwala และคณะ (1998) ได้ทำการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ ให้เป็นแอมโมเนียและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้จุลินทรีย์ *Pseudomonas putida* ที่ถูกตรึงเซลล์ ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพในการบำบัดดีกว่าจุลินทรีย์ *Pseudomonas putida* ที่ไม่ได้ถูกตรึงเซลล์ และยังพบอีกว่าในการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์นี้จะเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอากาศมากขึ้น นอกจากจุลินทรีย์กลุ่ม *Psuedomonas* sp. ที่สามารถลด

ไซยาไนด์ได้แล้ว ยังพบอีกว่า *Klebsiella oxytoca* สามารถลดไซยาไนด์ได้โดยการทำปฏิกิริยาเปลี่ยนไซยาไนด์ให้เป็นแอมโมเนียและมีเทน (Kao *et al.*, 2003)

จุลินทรีย์มีระบบเอนไซม์และกระบวนการสลายไซยาไนด์เฉพาะตัว ดังตารางที่ 2-5 แบคทีเรีย และราหลายชนิดสามารถใช้ไซยาไนด์เป็นแหล่งของคาร์บอนและ/หรือไนโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโต และเข้าทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนไซยาไนด์ให้เป็นแอมโมเนียกับคาร์บอนไดออกไซด์ (Chapatwala *et al.*, 1998) แอมโมเนียกับมีเทน (Gantzer and Maier, 1990) และแอมโมเนียกับไนเตรตและไนไตรท์ (Sirianuntapiboon and Chuamkaew, 2007) ซึ่งได้มีการศึกษาวิจัยการบำบัดไซยาไนด์โดยวิธีทางชีวภาพ ใช้ระบบ RBC แบบ Conventional biofilm ในการบำบัดไซยาไนด์จากน้ำชะ (White and Schnabel, 1998; White *et al.*, 2000) จนประสบผลสำเร็จในระดับห้องปฏิบัติการ (Bench-scale) นอกจากนี้ยังสามารถใช้ระบบบำบัดแบบ SBR ในการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในน้ำเสียจากกระบวนการเคลือบโลหะได้ (Sirianuntapiboon *et al.*, 2007) ต่อมาในระดับการค้าในอเมริกาเหนือ ที่เหมืองโฮมสเตค มลรัฐเซาธ์ดาโกต้า โดย Mudder และ Whitlock ในปี ค.ศ. 1984 และในปี ค.ศ. 1992 Rouse และ Gochnour ได้ค้นคว้าวิจัยเพื่อบำบัดไซยาไนด์ที่ปนเปื้อนในดินและน้ำโดยการบำบัดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และแบคทีเรียในทะเลสาบวูดในมลรัฐโคโรลาโด เป็นผลสำเร็จ โดยสามารถบำบัดไซยาไนด์ทั้งหมด (Total cyanide) และไซยาไนด์ที่สามารถแตกตัวได้ง่าย (weak-acid-dissociable cyanide) จากปริมาณอย่างละ 80 ไมโครกรัม ให้เหลือ 1.0 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในเวลา 1 สัปดาห์ (วัลลภา อรุณไพโรจน์, 2540)

โดยสรุปแล้วการย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์จะมีปฏิกิริยา ดังนี้

$$CN^- + 1/2O_2 + 2H_2O \xrightarrow[\text{Microorganisms}]{\text{Aerobic}} HCO_3^- + NH_3 \qquad (1)$$

$$NH_3 + 3/2O_2 \longrightarrow NO_2^- + H^+ + H_2O \qquad (2)$$

$$NO_2^- + 1/2O_2 \longrightarrow NO_3^- \qquad (3)$$

เมื่อเปรียบเทียบเทคนิคในการบำบัดไซยาไนด์โดยวิธีทางชีวภาพกับวิธีทางเคมีฟิสิกส์จะสามารถสรุปได้ว่า

1. การกำจัดไซยาไนด์แบบวิธีทางชีวภาพลงทุนต่ำกว่า
2. ประสิทธิภาพในการกำจัดเทียบเท่าหรือสูงกว่าวิธีทางเคมี
3. ค่าใช้จ่ายในการก่อสร้างถังบำบัดและการดำเนินงานต่ำกว่า
4. ค่าใช้จ่ายคงที่แม้ว่าจะเป็นการกำจัดของเหลือทิ้งที่มีปริมาณที่สูงกว่ากำหนด

5. ตะกอนของเหลือจากการกำจัดมีปริมาณน้อย

จากการบำบัดทางเคมีและทางชีวภาพ จะเห็นได้ว่า สามารถบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ได้ทั้งสองวิธี ซึ่งในรายงานวิจัยของ Aronstein และคณะ (1994) ได้ทำการศึกษาการบำบัดไซยาไนด์ในรูปของไซยาไนด์ไอออนที่มีความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยกระบวนการทางเคมีและชีวภาพทั้งในน้ำกับในดิน พบว่า วิธีการทางเคมีสามารถลดปริมาณไซยาไนด์ได้ 59% ส่วนกระบวนการทางชีวภาพสามารถลดปริมาณไซยาไนด์ได้ 66% ภายในเวลา 357 ชั่วโมง

ตารางที่ 2-5 ระบบเอนไซม์และการย่อยสลายไซยาไนด์โดยจุลินทรีย์

Cyanide monoxygenase (พบในแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp.)

$HCN + O_2 + H^+ + NADPH \longrightarrow HOCN + NADP^+ + H_2O$

1. Cyanide dioxygenase (พบในแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens, Bacillus pumillus, B. cereus*)

$HCN + O_2 + 2H^+ + NADPH \longrightarrow CO_2 + NH_3 + NADP^+$

2. Cyanase (พบในแบคทีเรีย *Escherichia coli*)

$HOCN + H_2O \longrightarrow CO_2 + NH_3$

3. Cyanide hydratase (พบในราหิมะ (snow moulds) และราที่ก่อให้เกิดโรค)

$HCN + H_2O \longrightarrow HCONH_3$

4. Cyanidase (พบในแบคทีเรีย *Alcaligenes xylosooxidans denitrificans*)

$HCN + 2H_2O \longrightarrow HCOON + NH_3$

5. Nitrilase (พบในแบคทีเรีย *Klebsiella ozaenae, Nocardia* sp., *Arthrobactor* sp., *Pseudomonas aeruginosa*)

Bromoxynil (nitrile) $\longrightarrow$ 3,5-Dibromo, 4-Hydroxy benzoic acid

6. Rhodanese (พบในแบคทีเรีย *Bacillus subtilis, Thiobacillus denitrificans, Bacillus stearothermophilus*)

Cyanide $\longrightarrow$ Thiocyanate + sulphite

7. Cyanolanine synthase (พบในแบคทีเรีย *Bacillus megaterium*)

Cyanide $\longrightarrow$ ß- Cyanolanine

ที่มา : Oliveira *et al.*, 2001

2.4.5 วิธีอื่นๆ ที่ใช้ในการบำบัดไซยาไนด์ แต่มีการใช้อยู่น้อย มีดังต่อไปนี้

- กระบวนการคาสโตน (Kastone process) (Patterson, 1985)
- การดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ (Patterson, 1985)
- การทำลายด้วยอัลดีไฮด์ (Elibeck and Mattock, 1987)
- การทำลายด้วย Fenton's Reagent (Elibeck and Mattock, 1987)
- การทำลายด้วย SO_2/Air (INCO, 1993)
- การออกซิไดซ์ด้วยความร้อน (Hartinger, 1994)
- การตกตะกอนไซยาไนด์ด้วยเกลือของ Fe(II) (Hartinger, 1994)
- การทำลายด้วยออกซิเจน (Hartinger, 1994)

2.5 เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์

2.5.1 ประเทศไทย

ไซยาไนด์เป็นสารที่มีความเป็นพิษทั้งต่อสุขภาพมนุษย์ สิ่งมีชีวิตในน้ำ และสิ่งแวดล้อม จึงจำเป็นที่จะต้องมีการตรวจวิเคราะห์ค่าไซยาไนด์ในแหล่งน้ำต่างๆ โดยเกณฑ์มาตรฐานในแต่ละแหล่งน้ำภายในประเทศไทยก็จะมีค่าแตกต่างกันออกไป ดังแสดงในตารางที่ 2-6

ตารางที่ 2-6 เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ในประเทศไทย

ประเภทแหล่งน้ำ	ค่ามาตรฐาน (mg/L)
แหล่งน้ำผิวดินประเภทที่ 2-4 *	0.005 [ก]
น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม	0.2 [ข]
น้ำทิ้งลงบ่อน้ำบาดาล	0.2 [ก]
การระบายน้ำลงทางน้ำชลประทาน	0.2 [ง]
น้ำประปาของการประปานครหลวง	0.07 [จ]

หมายเหตุ : * ประเภทของแหล่งน้ำผิวดิน

ประเภทที่ 1 ได้แก่ แหล่งน้ำที่คุณภาพน้ำมีสภาพตามธรรมชาติโดยปราศจากน้ำทิ้งจากกิจกรรมทุกประเภทและสามารถเป็นประโยชน์เพื่อ

(1) การอุปโภคและบริโภค โดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติก่อน

(2) การขยายพันธุ์ตามธรรมชาติของสิ่งมีชีวิตระดับพื้นฐาน

(3) การอนุรักษ์ระบบนิเวศน์ของแหล่งน้ำ

ประเภทที่ 2 ได้แก่ แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภท และสามารถเป็นประโยชน์เพื่อ

(1) การอุปโภคและบริโภคโดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติและผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำทั่วไปก่อน

(2) การอนุรักษ์สัตว์น้ำ

(3) การประมง

(4) การว่ายน้ำและกีฬาทางน้ำ

ประเภทที่ 3 ได้แก่ แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภท และสามารถเป็นประโยชน์เพื่อ

(1) การอุปโภคและบริโภค โดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติและผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำทั่วไปก่อน

(2) การเกษตร

ประเภทที่ 4 ได้แก่ แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภท และสามารถเป็นประโยชน์เพื่อ

(1) การอุปโภคและบริโภคโดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติและผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำเป็นพิเศษก่อน

(2) การอุตสาหกรรม

ประเภทที่ 5 ได้แก่ แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภท และสามารถเป็นประโยชน์เพื่อการคมนาคม

ที่มา : [ก] ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ. 2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 111 ตอนที่ 16 ง ลงวันที่ 24 กุมภาพันธ์ 2537

[ข] ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ. 2539) เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม ลงวันที่ 3 มกราคม 2539 ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 113 ตอนที่ 13ง ลงวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2539

[ค] ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 5 (พ.ศ. 2521) ออกตามความในพระราชบัญญัติน้ำบาดาล พ.ศ. 2520 ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 95 ตอนที่ 66 ลงวันที่ 27 มิถุนายน 2521

[๙] คำสั่งกรมชลประทานที่ 883/2532 เรื่อง การป้องกันและการแก้ไขการระบายน้ำทิ้งที่มีคุณภาพต่ำลงทางน้ำชลประทาน และทางน้ำที่ต่อเชื่อมกับทางน้ำชลประทานในเขตพื้นที่โครงการชลประทานลงวันที่ 19 ธันวาคม 2532

[๑๐] การประปานครหลวง, 2549

2.5.2 ประเทศสหรัฐอเมริกา

มาตรฐานคุณภาพน้ำของไซยาไนด์ในประเทศสหรัฐอเมริกามีอยู่มากมาย ซึ่งในแต่ละรัฐก็จะมีเกณฑ์ที่แตกต่างกันตามประเภทของแหล่งน้ำ โดยจะแบ่งเป็นเกณฑ์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ ดังแสดงในตารางที่ 2-7 และเกณฑ์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตใต้น้ำ ดังแสดงในตารางที่ 2-8

ตารางที่ 2-7 เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ

รัฐ	ประเภทแหล่งน้ำ	ค่าสูงสุด (µg/L)	หมายเหตุ
Arizona	- เกณฑ์น้ำดื่ม	220	
	- แหล่งน้ำชุมชน	140	Total cyanide
	- การบริโภคปลา	210,000	Total cyanide
	- สัมผัสร่างกายทุกส่วน	3,100	Total cyanide
	- สัมผัสร่างกายบางส่วน	3,100	Total cyanide
Connecticut	- ระดับของการบำบัด		
	• การฆ่าเชื้อโรค	10	
	• สมบูรณ์	200	
	• ระดับสูงสุดที่ยอมรับได้	200	
District of Columbia	- Class C	3	
Florida	- น้ำใช้ชุมชม/น้ำดื่ม	200	
	- ระดับสารปนเปื้อนสูงสุด	200	
	- น้ำผิวดิน Class I-V	5	
Iowa	- ระดับสารปนเปื้อนสูงสุด		
	• Class B	5	
	• Class C	20	
Illinois	- ระดับสารปนเปื้อนสูงสุด	200	

ตารางที่ 2-7 เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ (ต่อ)

รัฐ	ประเภทแหล่งน้ำ	ค่าสูงสุด (µg/L)	หมายเหตุ
Idaho	- ระดับสารปนเปื้อนสูงสุด	200	
Indiana	- จุดที่น้ำเข้าต่อเนื่อง (เฉลี่ย 4 วัน)	200	
Kansas	- เกณฑ์น้ำดื่ม	154	
Kentucky	- ระดับสารปนเปื้อนสูงสุด : น้ำประปาชุมชน	200	Free cyanide
Massachusetts	- เกณฑ์น้ำดื่ม	140	
Maine	- เกณฑ์น้ำดื่ม	154	
Michigan	- น้ำใช้ชุมชน/น้ำดื่ม	150	Free cyanide
Minnesota	- เกณฑ์น้ำดื่ม - Class A และ Class B	154 10	 (CN)
New Hampshire	- เกณฑ์น้ำดื่ม - ระดับสารปนเปื้อนสูงสุด - เทศบาล/ชุมชน	154 10 200	 (CN)
New Jersey	- น้ำใช้ชุมชน/น้ำดื่ม - น้ำใต้ดิน	200 200	
New Mexico	- น้ำใต้ดิน	200	(CN)
New York	- น้ำใช้ชุมชน/น้ำดื่ม - มาตรฐานน้ำทิ้งน้ำใต้ดิน (ความเข้มข้นสูงสุดที่ยอมรับได้) - น้ำผิวดินและน้ำใต้ดิน	100 400 100	
North Carolina	- น้ำใต้ดิน : ใช้ทั่วไป	154	
Ohio	- ค่าเฉลี่ย 30 วัน	200	
Oklahoma	- ระดับสูงสุดที่ยอมรับได้	200	
Oregon	- น้ำใช้ชุมชน/น้ำดื่ม	200	
Rhode Island	- เกณฑ์น้ำดื่ม	150	
Tennessee	- น้ำใช้ชุมชน/น้ำดื่ม	200	
Utah	- ระดับสูงสุดที่ยอมรับได้	200	Free cyanide
Virginia	- น้ำใต้ดิน	5	

ตารางที่ 2-7 เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ (ต่อ)

รัฐ	ประเภทแหล่งน้ำ	ค่าสูงสุด (µg/L)	หมายเหตุ
Vermont	- มาตรฐานน้ำดื่ม - Class A หรือ Class B	154 200	
Wyoming	- ระดับสูงสุดที่ยอมรับได้ : น้ำใต้ดิน	200	

หมายเหตุ :

น้ำผิวดิน Class I-V

Class I : สามารถทำน้ำประปาได้

Class II : ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำที่มีเปลือก

Class III : แหล่งน้ำที่สิ่งมีชีวิตดำรงอยู่ได้

Class IV : น้ำเพื่อการเกษตร

Class V : น้ำเพื่อการอุตสาหกรรม

Class A, AA, AA-S : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำจืด (สำหรับดื่ม)

Class B : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำจืด (ใช้ทางตรงและทางอ้อม)

Class C : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำจืด (การประมง)

Class SA : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำเค็ม (การเพาะเลี้ยงปลาและการดำรงชีวิตอยู่ได้)

Class SB : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำเค็ม (ใช้ทางตรงและทางอ้อม)

Class SC : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำเค็ม (การประมง)

Class SD : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำเค็ม (สำหรับปลาดำรงชีวิตอยู่ได้)

ที่มา : David และคณะ, 2006

ตารางที่ 2-8 เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตใต้น้ำ

รัฐ	ประเภทแหล่งน้ำ	ค่าสูงสุด (µg/L)	หมายเหตุ
Alabama	- น้ำจืด : เฉียบพลัน	22.0	
	- น้ำจืด : เรื้อรัง	5.2	
	- น้ำเค็ม : เฉียบพลัน	1.0	
	- น้ำเค็ม : เรื้อรัง	-	
Arizona	- ผลแบบเฉียบพลันสำหรับสิ่งมีชีวิตใต้น้ำและสัตว์ป่า		
	• การประมงน้ำเย็น	22.0	Total recoverable
	• การประมงน้ำอุ่น	41.0	Total recoverable
	• น้ำทิ้งจากระบบบำบัด	41.0	Total recoverable
	• สำหรับสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีช่วงอายุสั้น	84.0	Total recoverable
	- ผลแบบเรื้อรังสำหรับสิ่งมีชีวิตใต้น้ำและสัตว์ป่า		
	• การประมงน้ำเย็น	5.2	Total recoverable
	• การประมงน้ำอุ่น	9.7	Total recoverable
	• น้ำทิ้งจากระบบบำบัด	9.7	Total recoverable
	• สำหรับสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีช่วงอายุสั้น	19.0	Total recoverable
Florida	- เกณฑ์สำหรับน้ำผิวดิน : Class I-V	5.0	
Hawaii	- น้ำจืด : เฉียบพลัน (มาตรฐานระบบนิเวศ)	22	
	- น้ำจืด : เรื้อรัง (มาตรฐานระบบนิเวศ)	5.2	
	- น้ำเค็ม : เฉียบพลัน (มาตรฐานระบบนิเวศ)	1.0	
	- น้ำเค็ม : เรื้อรัง (มาตรฐานระบบนิเวศ)	1.0	

ตารางที่ 2-8 เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตใต้น้ำ (ต่อ)

รัฐ	ประเภทแหล่งน้ำ	ค่าสูงสุด (µg/L)	หมายเหตุ
Indiana	- ผลแบบเฉียบพลันต่อสิ่งมีชีวิตใต้น้ำ	22.0	
	- ผลแบบเรื้อรังต่อสิ่งมีชีวิตใต้น้ำ	5.2	
Kentucky	- ความเข้มข้นสูงสุดที่ในแหล่งน้ำ		
	• เฉียบพลัน (มาตรฐานระบบนิเวศ)	5	Free cyanide
	• เรื้อรัง (มาตรฐานระบบนิเวศ)	22	Free cyanide
Maryland	- น้ำผิวดิน		
	• น้ำจืด : เฉียบพลัน	22.0	
	• น้ำจืด : เรื้อรัง	5.2	
	• น้ำเค็ม : เฉียบพลัน	1.0	
	• น้ำเค็ม : เรื้อรัง	-	
Minnesota	- Class A, B และ C	20.0	(CN)
Mississippi	- น้ำจืด : เฉียบพลัน	22.0	
	- น้ำจืด : เรื้อรัง	5.2	
	- น้ำเค็ม : เฉียบพลัน	1.0	
	- น้ำเค็ม : เรื้อรัง	1.0	
Missouri	- ความเป็นพิษเรื้อรัง	5.0	
	- ความเป็นพิษเฉียบพลัน	22.0	
Nevada	- ค่าที่เก็บวิเคราะห์ครั้งเดียว	52.0	
	- ค่าเฉลี่ย 24 ชั่วโมง	3.5	
	- การแพร่พันธุ์ของสัตว์ป่า	5.0	
New York	- น้ำผิวดินและน้ำใต้ดิน		
	• A, AA, AA-S, B, C	5.2	
	• SA, SB, SC	1.0	
	• SD	1.0	
North Dakota	- แหล่งน้ำที่นำมาทำน้ำประปาได้	5.0	Total cyanide
North Carolina	- น้ำจืด	5.0	
Puerto Rico	- ปากแม่น้ำชายฝั่ง	20.0	
	- น้ำผิวดิน	20.0	

ตารางที่ 2-8 เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตใต้น้ำ (ต่อ)

รัฐ	ประเภทแหล่งน้ำ	ค่าสูงสุด (µg/L)	หมายเหตุ
Oklahoma	- เฉียบพลัน	45.93	
	- เรื้อรัง	10.72	
Ohio	- น้ำเย็น	45.0	
	- น้ำอุ่น	92.0	
Virginia	- น้ำจืด	5.2	Total cyanide
	- น้ำเค็ม	1.0	Total cyanide
Vermont	- เฉียบพลัน	22.0	
	- เรื้อรัง	5.2	
Wyoming	- น้ำที่เหมาะสำหรับปลาและสิ่งมีชีวิตใต้น้ำ	5.0	

หมายเหตุ :

น้ำผิวดิน Class I-V

Class I : สามารถทำน้ำประปาได้

Class II : ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำที่มีเปลือก

Class III : แหล่งน้ำที่สิ่งมีชีวิตดำรงอยู่ได้

Class IV : น้ำเพื่อการเกษตร

Class V : น้ำเพื่อการอุตสาหกรรม

Class A, AA, AA-S : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำจืด (สำหรับดื่ม)

Class B : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำจืด (ใช้ทางตรงและทางอ้อม)

Class C : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำจืด (การประมง)

Class SA : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำเค็ม (การเพาะเลี้ยงปลาและการดำรงชีวิตอยู่ได้)

Class SB : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำเค็ม (ใช้ทางตรงและทางอ้อม)

Class SC : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำเค็ม (การประมง)

Class SD : น้ำผิวดินที่เป็นน้ำเค็ม (สำหรับปลาดำรงชีวิตอยู่ได้)

ที่มา : David และคณะ, 2006

2.5.3 เกณฑ์อื่นๆ

ค่ามาตรฐานของไซยาไนด์จะแตกต่างกันออกไปตามเกณฑ์ของแต่ละประเทศ ซึ่งก็ขึ้นอยู่กับประเภทของแหล่งน้ำชนิดต่างๆ ด้วย โดยอาจจำแนกได้ดังแสดงในตารางที่ 2-9

ตารางที่ 2-9 เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ในแหล่งน้ำประเภทต่างๆ

ประเภทของแหล่งน้ำ	ค่ามาตรฐาน (mg/L)	ที่มา
น้ำทิ้งจากระบบบำบัด	0.2	อินเดีย (Dash et al., 2008)
น้ำทิ้งปล่อยลงสู่แม่น้ำ	0.01 (CN)	จอแดน (Ministry of water and irrigation, 1995)
น้ำผิวดิน	0.01	เยอรมันและสวิตซ์ (Parga et al., 2003)
ท่อระบายน้ำเสีย	0.5	เยอรมันและสวิตซ์ (Parga et al., 2003)
น้ำทิ้งที่นำกลับมาใช้ในการเกษตร	0.5 (Total cyanide) 0.05 0.01 (CN)	จีน (Vigneswaran and Sundaravadivel, 2004) ซาอุดิอาราเบีย (USEPA, 2004) จอแดน (Ministry of water and irrigation, 1995)
น้ำที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและระบบนิเวศน์ใต้น้ำ	0.005 (Free cyanide) 0.03 (Free cyanide)	ออสเตรเลีย (David et al., 2006) แคนาดา (David et al., 2006)
แหล่งน้ำใต้ดินที่สร้างขึ้นเอง	0.01 (CN)	จอแดน (Ministry of water and irrigation, 1995)
น้ำที่ใช้เพื่อการเพิ่มระดับของน้ำใต้ดิน	0.2	Rowe and Abdel-Magid, 1995
แหล่งน้ำดิบเพื่อการนำมาทำน้ำประปา	0.2	Rowe and Abdel-Magid, 1995

ตารางที่ 2-9 เกณฑ์มาตรฐานของไซยาไนด์ในแหล่งน้ำประเภทต่างๆ (ต่อ)

ประเภทของแหล่งน้ำ	ค่ามาตรฐาน (mg/L)	ที่มา
น้ำเสียที่มีการนำกลับมาใช้ใหม่ - ผักที่บริโภคได้โดยไม่ต้องปรุงให้สุก, ผลไม้ที่เจริญเติบโตภายใน 2 สัปดาห์ และแหล่งน้ำสาธารณะ - ผักที่บริโภคได้โดยต้องผ่านการปรุงให้สุกก่อน, ผลไม้ที่ไม่ได้เจริญเติบโตภายใน 2 สัปดาห์ และสำหรับอาหารสัตว์ ข้าว และเมล็ดพันธุ์พืช	0.05 (Total as CN) 0.1(Total as CN)	โอมาน (Ministry of Regional Municipalities and Environment, 1993)
น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม - ปล่อยทิ้งลงในแหล่งน้ำที่ใช้เพื่อการผลิตน้ำประปาชุมชน - ปล่อยทิ้งลงในแหล่งน้ำที่ใช้เพื่อการเกษตร การเพาะปลูก หรือสำหรับการแพร่พันธุ์ของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ - ต้องได้รับอนุญาตจากหน่วยงานของรัฐก่อนปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม	0.05 0.1 0.2	Asia-Pacific Centre for Environmental Law, 1998

บทที่ 3
ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 จุลินทรีย์ในการทดลอง

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองนี้นำมาจากระบบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีไซยาไนด์ปนเปื้อน และถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารอาหารสูง (Enrichment medium) เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ ประกอบด้วย $NaHPO_4$ 4 กรัม, Na_2SO_4 2.13 กรัม, K_2HPO_4 3.10 กรัม, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 200 มิลลิกรัม, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 2 มิลลิกรัม และ $CaCl_2$ 1 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับพีเอช (pH) เท่ากับ 7.2 โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในขวดทดลอง (Flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาณจุลินทรีย์ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 10:100 เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ 180 รอบต่อนาที

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

การทดลองจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ (Buffer medium) ซึ่งในน้ำกลั่น 1 ลิตร ประกอบด้วย KH_2PO_4 2.7 กรัม, K_2HPO_4 3.5 กรัม และ 10 มิลลิลิตรของสารละลายเกลือ (ประกอบด้วย $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 300 มิลลิกรัม, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 180 มิลลิกรัม, $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 130 มิลลิกรัม, $CaCl_2$ 40 มิลลิกรัม, $ZnSO_4$ 40 มิลลิกรัม และ MoO_3 20 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร) โดยปรับพีเอชเท่ากับ 7.2 เมื่อจุลินทรีย์ถูกกระตุ้นการเจริญเติบโตแล้วจะนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Buffer medium) ด้วยอัตราส่วนจุลินทรีย์ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 10:100 ปริมาตรต่อปริมาตร โดยใส่ไซยาไนด์ในรูปของโพแตสเซียมไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อนำไปศึกษาการย่อยสลายไซยาไนด์ของจุลินทรีย์ต่อไป

3.3 การคัดแยกและบ่งชี้ชนิดของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะถูกแยกด้วยวิธี Spreading plate technique บนอาหารแข็ง (ประกอบด้วย Buffer medium +โพแตสเซียมไซยาไนด์ (BMK) เข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยสังเกตลักษณะโคโลนีของจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้บนอาหารแข็ง และทำการย้อมติดสีแกรม (Bergey and John, 1994) หลังจากนั้นทำการบ่งชี้ชนิดของจุลินทรีย์ด้วยการหาลำดับเบสของดีเอนเอ (DNA sequencing)

3.4 การทดลอง

จุลินทรีย์ที่แยกได้แต่ละชนิดและแบบรวมกลุ่มจะถูกทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์ในรูปของโพแตสเซียมไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้น 25, 50 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอัตราส่วนจุลินทรีย์ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ Buffer medium (BM) 10:100 เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 และ 15 วัน เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์แต่ละชนิดและแบบรวมกลุ่ม

3.5 การวิเคราะห์

แอมโมเนีย (NH_3) ไนเตรท (NO_3^-) ไนไตรท์ (NO_2^-) และไซยาไนด์ที่เหลืออยู่ (Residual cyanide) จะถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานการวิเคราะห์น้ำเสีย (APHA, AWWA, WPCF, 1995) ตามลำดับดังนี้ การหาไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียหรือเรียกย่อว่าการหาแอมโมเนียถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีการกลั่นและการไตเตรท (Preliminary distillation step and Titrimetric method) ไนเตรทถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีบรูซีน (Brucine method) ไนไตรท์ถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีการสร้างสี (Colorimetric method) ไซยาไนด์ถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีการไตเตรท (Titrimetric method) (ภาคผนวก ก)

3.6 การศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

การศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยวิธีเทคนิคการนับโคโลนี (Colony count technique) ทำการเจือจางตัวอย่างจากการศึกษาลง 10 เท่า (Ten-fold dilution) ด้วย 0.85% สารละลายโซเดียมคลอไรด์ หลังจากนั้นตัวอย่างที่ถูกเจือจางแล้ว (Dilution) จะนำไปเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ BMK ตามความเข้มข้นเดิมของแต่ละการศึกษา ด้วยการทำเทคนิค Spread plate (Spreading plate technique) แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 7 วัน แล้วสังเกตจานเพาะเชื้อจากแต่ละตัวอย่างที่ถูกเจือจาง (Dilution) ที่มีจำนวนโคโลนีในช่วง 30-300 โคโลนี นำมาคำนวณเป็นจำนวนเซลล์ (Colony Forming Units/ml หรือ CFU/ml) โดยจำนวนโคโลนีที่เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ศึกษาคือจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์นั่นเอง (APHA, AWWA, WPCF, 1995)

3.7 การคำนวณประสิทธิภาพของการย่อยสลายไซยาไนด์

การศึกษาวิเคราะห์และทดลองได้ทำ 2 ซ้ำ โดยทำการคำนวณประสิทธิภาพของการย่อยสลายไซยาไนด์ดังนี้

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

ความเข้มข้นเริ่มต้น = ความเข้มข้นของไซยาไนด์เริ่มต้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)

ความเข้มข้นที่เหลือ = ความเข้มข้นของไซยาไนด์ที่เหลือ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การคัดแยกและบ่งชี้ชนิดของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาวิจัยนี้คัดแยกจากระบบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีไซยาไนด์ปนเปื้อน การคัดแยกจุลินทรีย์ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ BM และมีไซยาไนด์ในรูปของโพแตสเซียมไซยาไนด์ (BMK) ทำโดยดูลักษณะภายนอกของโคโลนีที่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ และทำการย้อมติดสีแกรม (Bergey and John, 1994) หลังจากนั้นทำการบ่งชี้ชนิดของจุลินทรีย์ด้วยการหาลำดับเบสของดีเอนเอ (DNA sequencing) ซึ่งได้จุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 ดังแสดงในตารางที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 ลักษณะทั่วไปของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาวิจัย

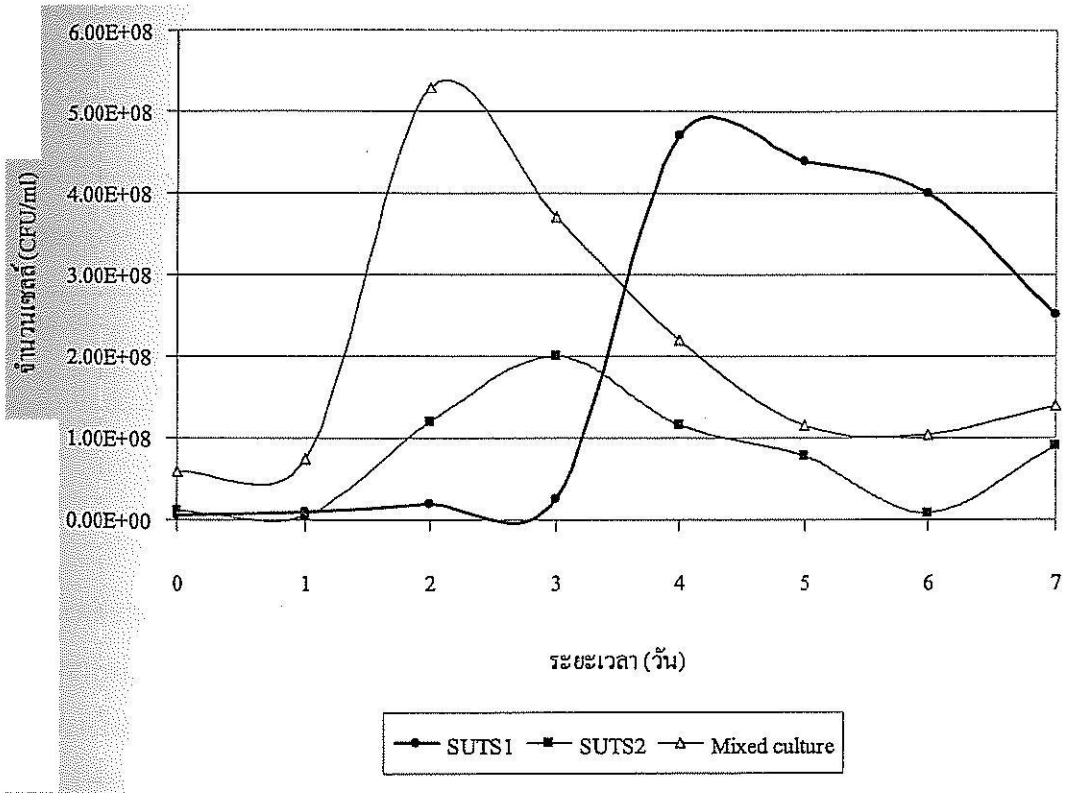
ชนิดของจุลินทรีย์	ขนาดของโคโลนี (มิลลิเมตร)	ลักษณะภายนอกของโคโลนี	ชนิดของแกรม	รูปร่าง
Agrobacterium tumefaciens SUTS 1	5-7.5	ใหญ่ กลมนูน ผิวหน้าเรียบ ใส สีน้ำตาลอ่อน	ลบ	รูปแท่ง
Pseudomonas monteilii SUTS 2	1-2	เล็ก กลมนูน ผิวหน้าเรียบ สีขาวขุ่น	ลบ	รูปแท่ง

4.2 ผลการศึกษาการเจริญเติบโต (Growth curve) ของจุลินทรีย์แต่ละชนิด

การศึกษาวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาหาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดดังกล่าว และชนิดแบบรวมกลุ่มหรือเรียกว่า Mixed culture ซึ่งเป็นการรวมกลุ่มของ SUTS 1 และ SUTS 2 ดังนั้นจึงศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดและชนิดรวมกลุ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ BMK เป็นระยะเวลา 7 วัน พบจำนวนเซลล์ ดังตารางที่ 4-2 และภาพที่ 4-1

ตารางที่ 4-2 จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิด

ระยะเวลา (วัน)	จำนวนเซลล์ (colony forming unit/ml)		
	SUTS 1	SUTS 2	Mixed culture
0	6.10E+06	1.19E+07	5.90E+07
1	1.04E+07	6.00E+06	7.50E+07
2	1.88E+07	1.20E+08	5.30E+08
3	2.50E+07	2.00E+08	3.70E+08
4	4.70E+08	1.16E+08	2.20E+08
5	4.40E+08	7.80E+07	1.16E+08
6	4.00E+08	7.00E+06	1.04E+08
7	2.51E+08	9.00E+07	1.40E+08



ภาพที่ 4-1 การเจริญเติบโต (Growth curve) ของเชื้อ SUTS 1, SUTS 2 และ Mixed culture

จากการศึกษาพบว่า จุลินทรีย์ชนิดรวมกลุ่มมีการเจริญเติบโตโดยนับจากจำนวนเซลล์มากที่สุดประมาณ 5.3×10^8 เซลล์ และเร็วที่สุดในช่วงวันที่ 2 ของการศึกษา ขณะที่เชื้อ SUTS 1 มีการเจริญเติบโตในช่วงวันที่ 4 ของการศึกษาโดยมีจำนวนเซลล์ประมาณ 4.7×10^8 เซลล์ ส่วน SUTS 2 มีจำนวนเซลล์น้อยที่สุดนั่นคือประมาณ 2.0×10^8 เซลล์ ในวันที่ 3 ของการศึกษา

4.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1, SUTS 2 และแบบรวมกลุ่ม (Mixed culture) ในระยะเวลา 7 วันและ 15 วัน โดยทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์ที่เหลืออยู่ (Residual cyanide) ความเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ไนเตรท ไนไตรท์ และค่าความเป็นกรดด่าง รวมทั้งจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิด

นอกจากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแต่ละชนิดแล้ว ยังมีการศึกษาทดลองด้วยชุดควบคุม (Control experiment) ซึ่งไม่มีการเติมจุลินทรีย์ในการศึกษาดังกล่าว พบว่า ไซยาไนด์มีปริมาณลดลงจาก 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือ 43.75 มิลลิกรัมต่อลิตร การย่อยสลายคิดเป็น 12.5% ดังตารางที่ 4-3

ตารางที่ 4-3 การศึกษาทดลองชุดควบคุม (Control experiment)

ระยะเวลา (วัน)	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ (%)	ไซยาไนด์ (mg/L)	NH_3 (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	pH
0	0.00	50.00	0.00	1.53	0.00	7.21
15	12.50	43.75	0.14	1.48	0.00	7.21

4.3.1. การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อ SUTS 1

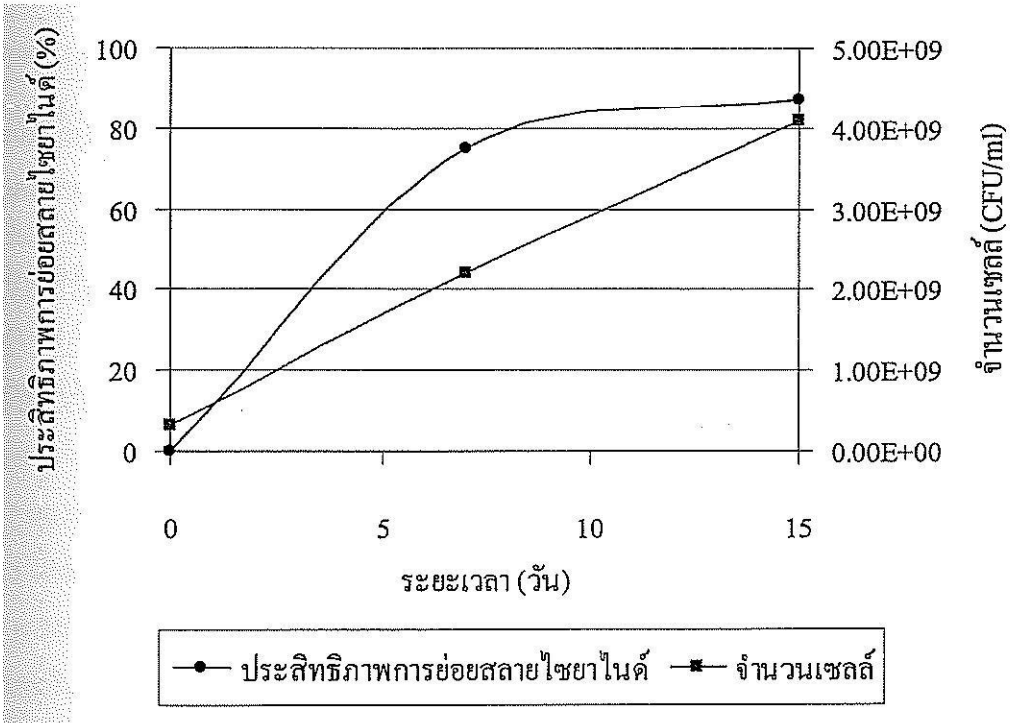
4.3.1.1 การย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ของเชื้อ SUTS 1 ในระยะเวลา 7 และ 15 วัน และทำการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ไนเตรท ไนไตรท์ ปริมาณไซยาไนด์ที่เหลืออยู่ และค่าความเป็นกรดด่าง ผลการศึกษาประสิทธิภาพของการย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อ SUTS 1 พบว่าเชื้อสามารถย่อยสลายไซยาไนด์ได้โดยมีประสิทธิภาพสูงถึง 75% ในวันที่ 7 และยังมีจำนวนเซลล์เพิ่มมากขึ้นจากวันแรกของการศึกษานั่นคือจาก 3.1×10^8 เซลล์เพิ่มเป็น 2.2×10^9 เซลล์ ขณะที่ประสิทธิภาพมากกว่า 87%ในวันที่ 15 ของการศึกษา ซึ่งมีจำนวนเซลล์ของเชื้อ SUTS 1 เพิ่มขึ้นเป็น 4.1×10^9 เซลล์ ขณะที่ปริมาณแอมโมเนียเพิ่มขึ้นเป็น 0.14

0.14 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 7 และ 15 ปริมาณไนเตรทเพิ่มขึ้นจาก 1.49 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 1.58 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7.10-7.20 (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-2)

ตารางที่ 4-4 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ของเชื้อ SUTS 1

ระยะเวลา (วัน)	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ (%)	ไซยาไนด์ (mg/L)	NH_3 (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	pH	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)
0	0.00	25.00	0.00	0.00	0.00	7.10	3.10E+08
7	75.00	6.25	0.14	1.49	0.00	7.20	2.20E+09
15	87.50	3.13	0.14	1.58	0.00	7.20	4.10E+09



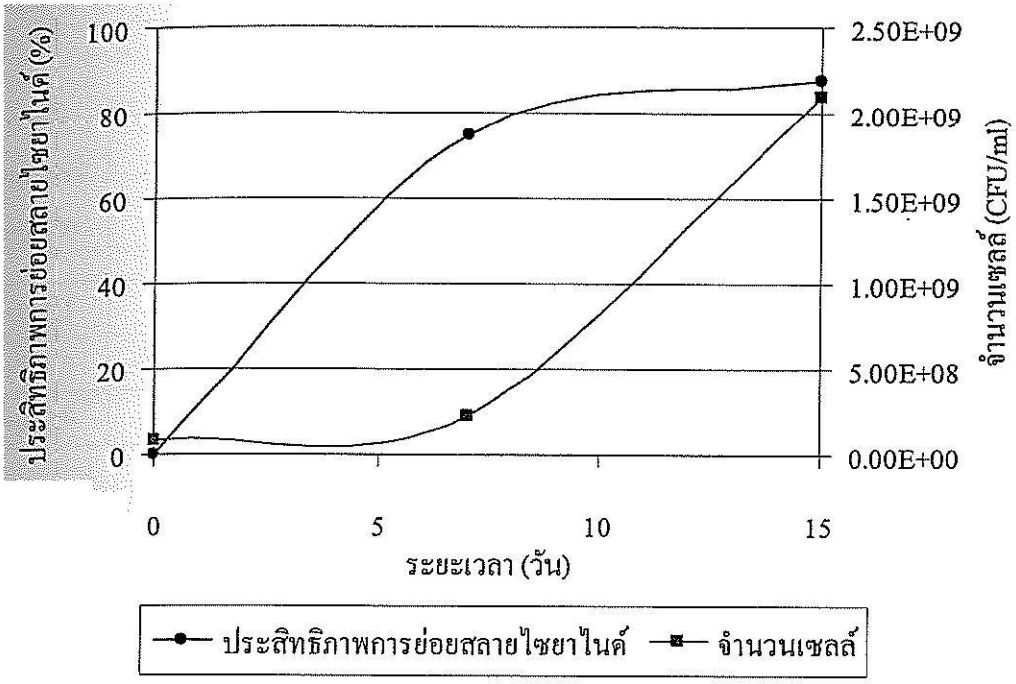
ภาพที่ 4-2 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 1

4.3.1.2 การย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ของจุลินทรีย์ SUTS 1 ในระยะเวลา 7 และ 15 วัน และทำการตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ไนเตรท ไซยาไนด์ และค่าความเป็นกรดด่าง ให้ผลดังนี้ เชื้อ SUTS 1 สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือ 12.50 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 7 ของการศึกษา มีประสิทธิภาพคิดเป็น 75% และมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น 87.5% ในวันที่ 15 ของการศึกษา ซึ่งปริมาณไซยาไนด์ลดลงเหลือเพียง 6.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 8×10^7 CFU/ml เป็น 2.3×10^8 CFU/ml ในวันที่ 7 และ 2.1×10^9 CFU/ml ในวันที่ 15 ขณะที่ปริมาณแอมโมเนียเพิ่มขึ้นจาก 0.14 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 7 เป็น 0.28 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนเตรทมีค่าลดลงจาก 2.42 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 2.15 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 15 ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7.10-7.20 ดังแสดงในตารางที่ 4-5 และภาพที่ 4-3

ตารางที่ 4-5 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ของเชื้อ SUTS 1

ระยะเวลา (วัน)	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ (%)	ไซยาไนด์ (mg/L)	NH_3 (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	pH	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)
0	0.00	50.00	0.00	2.42	0.00	7.19	8.00E+07
7	75.00	12.50	0.14	2.38	0.00	7.19	2.30E+08
15	87.50	6.25	0.28	2.15	0.00	7.21	2.10E+09



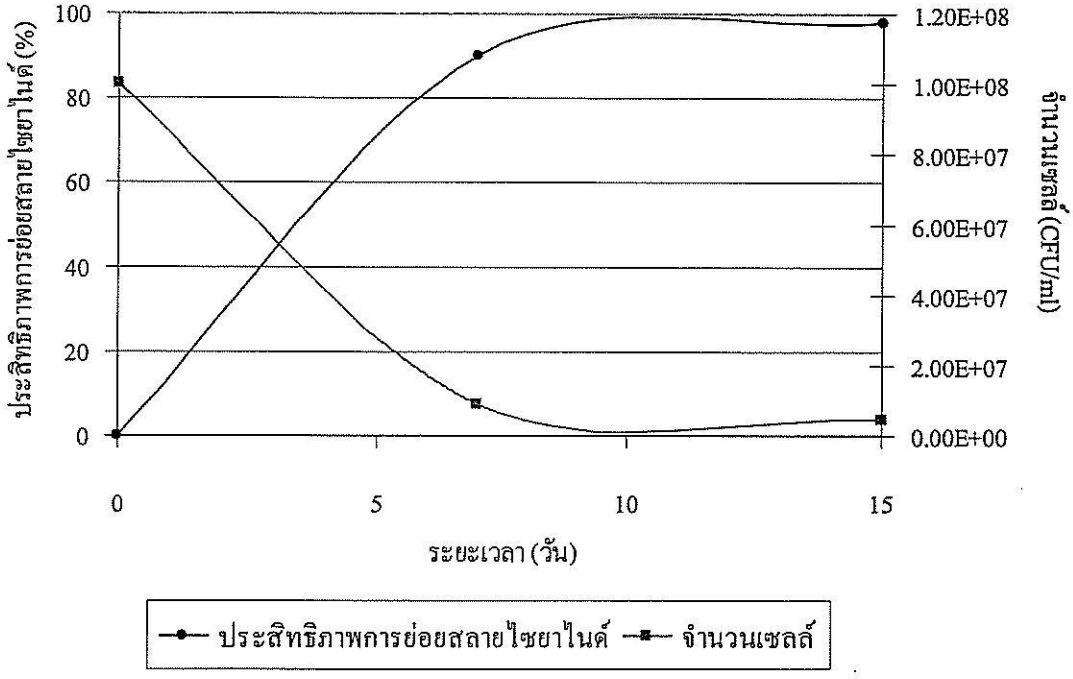
ภาพที่ 4-3 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 1

4.3.1.3 การย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

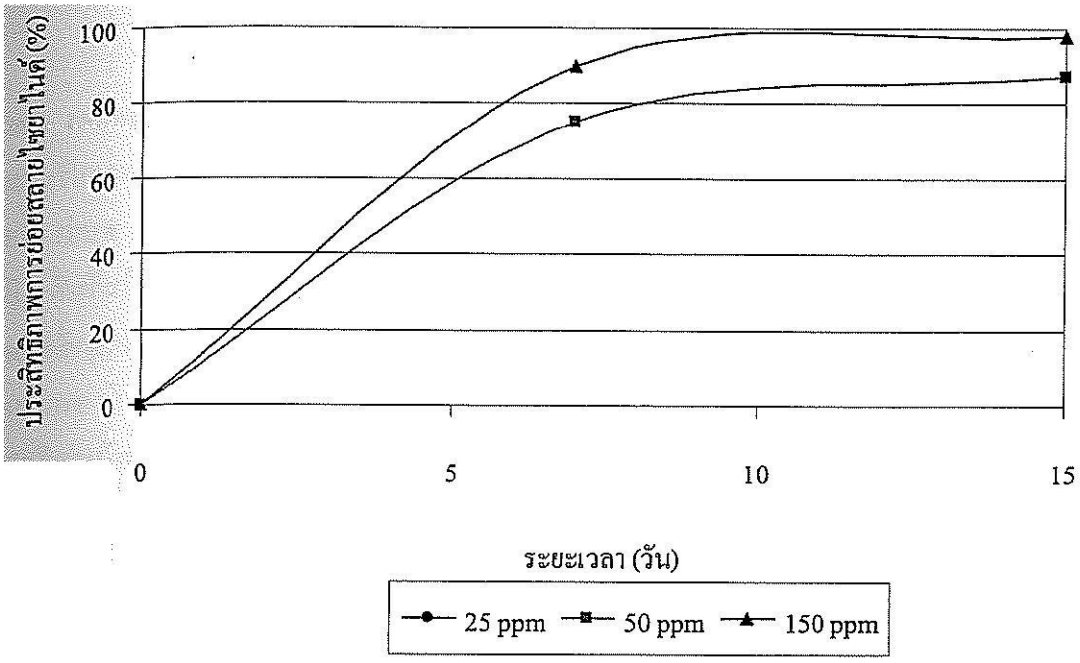
จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1 ในระยะเวลา 7 และ 15 วัน และทำการตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ไนเตรท ไซยาไนด์ และค่าความเป็นกรดด่าง พบว่า เชื้อ SUTS 1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้นสูงถึง 150 มิลลิกรัมต่อลิตร มากถึง 89.97% ในวันที่ 7 และมีประสิทธิภาพมากขึ้นอีกเป็น 97.90% ในวันที่ 15 ซึ่งพบปริมาณของไซยาไนด์เหลือเพียง 3.15 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่จำนวนเซลล์ของเชื้อ SUTS 1 มีจำนวนลดลงจาก 1.0×10^8 เซลล์ เป็น 9.0×10^6 เซลล์ในวันที่ 7 และลดลงเหลือ 4.5×10^6 เซลล์ ในวันที่ 15 ของการศึกษา ขณะที่ปริมาณแอมโมเนียเพิ่มขึ้นจาก 0.56 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 0.70 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 7 และตรวจไม่พบปริมาณแอมโมเนียในวันที่ 15 ซึ่งปริมาณไนเตรทลดลงจาก 3.31 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันแรกของการศึกษา เหลือ 1.45 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 7 และเพิ่มขึ้นอีกเป็น 7.21 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 7.39 เป็น 7.44 (ตารางที่ 4-6 และภาพที่ 4-4)

ตารางที่ 4-6 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ของเชื้อ SUTS 1

ระยะเวลา (วัน)	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ (%)	ไซยาไนด์ (mg/L)	NH_3 (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	pH	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)
0	0.00	150.00	0.56	3.31	0.00	7.39	1.00E+08
7	89.97	15.05	0.70	1.45	0.00	7.38	9.00E+06
15	97.90	3.15	0.00	7.21	0.00	7.44	4.55E+06



ภาพที่ 4-4 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 1



ภาพที่ 4-5 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1

การย่อยสลายไซยาไนด์ในรูปของโพแตสเซียมไซยาไนด์ด้วยเชื้อ SUTS 1 พบว่า เชื้อ SUTS 1 สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เหลือ 6.25 มิลลิกรัมต่อลิตรภายในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์คิดเป็น 75.00% และเมื่อระยะเวลาการศึกษานานขึ้นถึง 15 วัน ประสิทธิภาพการย่อยสลายเพิ่มขึ้นอีกคิดเป็น 87.50% โดยมีไซยาไนด์เหลือเพียง 3.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่เมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้นเป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อ SUTS 1 ยังคงมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์เช่นเดียวกัน และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเป็น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อชนิดนี้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นในการย่อยสลายไซยาไนด์คิดเป็น 89.97% ในวันที่ 7 ของการศึกษา และคิดเป็น 97.90% ในวันที่ 15 ของการศึกษา แสดงว่าเชื้อ SUTS 1 นี้มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์ (ภาพที่ 4-5) นอกจากนั้นปริมาณของแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณมากขึ้นตามการย่อยสลายไซยาไนด์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากไซยาไนด์ถูกเปลี่ยนรูปกลายเป็นแอมโมเนีย ซึ่งมีความเป็นพิษน้อยลง แต่การศึกษาที่ความเข้มข้นของไซยาไนด์ 150 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น แอมโมเนียถูกเปลี่ยนไปเป็นไนเตรทตามปฏิกิริยาการย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์ (Petrozzi and Dunn, 1994) ซึ่งพบว่าปริมาณของไนเตรทมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณแอมโมเนียมีค่าลดลงดังตารางที่ 4-5 ถึง 4-6

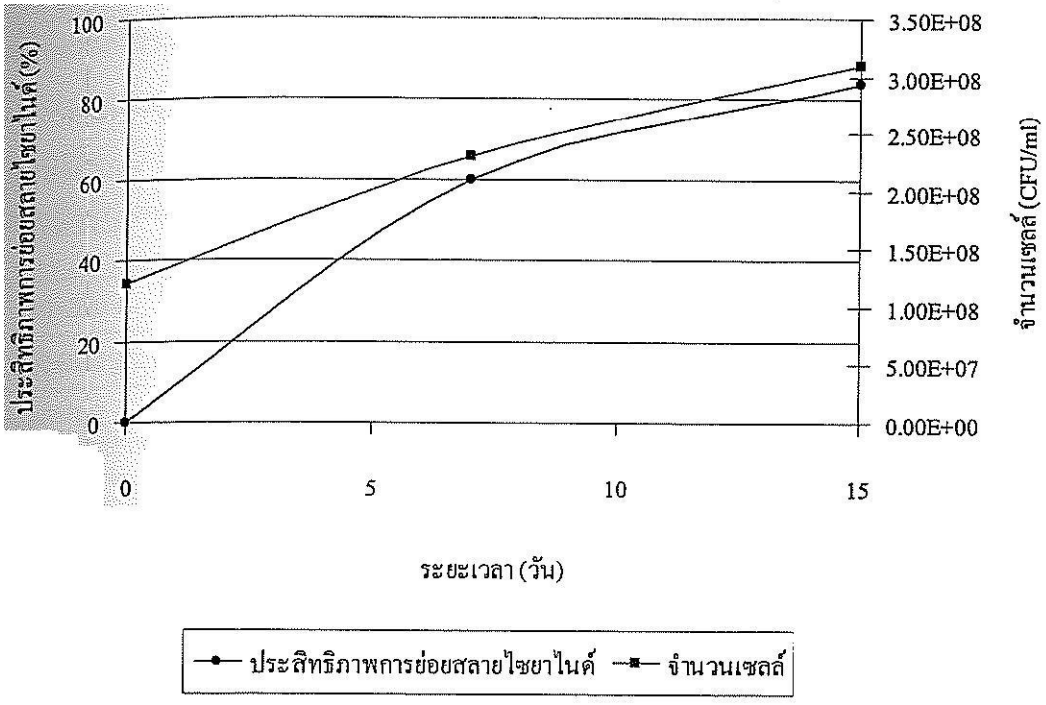
4.3.2 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อ SUTS 2

4.3.2.1 การย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 2 ในระยะเวลา 7 และ 15 วัน และทำการตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ไนเตรท ไนไตรท์ ปริมาณไซยาไนด์ และค่าความเป็นกรดด่าง พบว่า เชื้อ SUTS 2 สามารถย่อยสลายไซยาไนด์จาก 25 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายคิดเป็น 60% และเพิ่มขึ้นเป็น 84% ในวันที่ 15 ของการศึกษาซึ่งพบปริมาณไซยาไนด์ลดลงเหลือ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 2.3×10^8 เซลล์ในวันที่ 7 เป็น 3.10×10^8 เซลล์ในวันที่ 15 ขณะที่ปริมาณแอมโมเนียเพิ่มขึ้นจาก 0.07 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 0.14 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนเตรทเพิ่มขึ้นเช่นกันจาก 1.47 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 1.57 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7.19-7.21 (ตารางที่ 4-7 และภาพที่ 4-6)

ตารางที่ 4-7 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ของเชื้อ SUTS 2

ระยะเวลา (วัน)	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ (%)	ไซยาไนด์ (mg/L)	NH_3 (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	pH	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)
0	0.00	25.00	0.00	0.00	0.00	7.20	1.20E+08
7	60.00	10.00	0.07	1.47	0.00	7.19	2.30E+08
15	84.00	4.00	0.14	1.57	0.00	7.21	3.10E+08



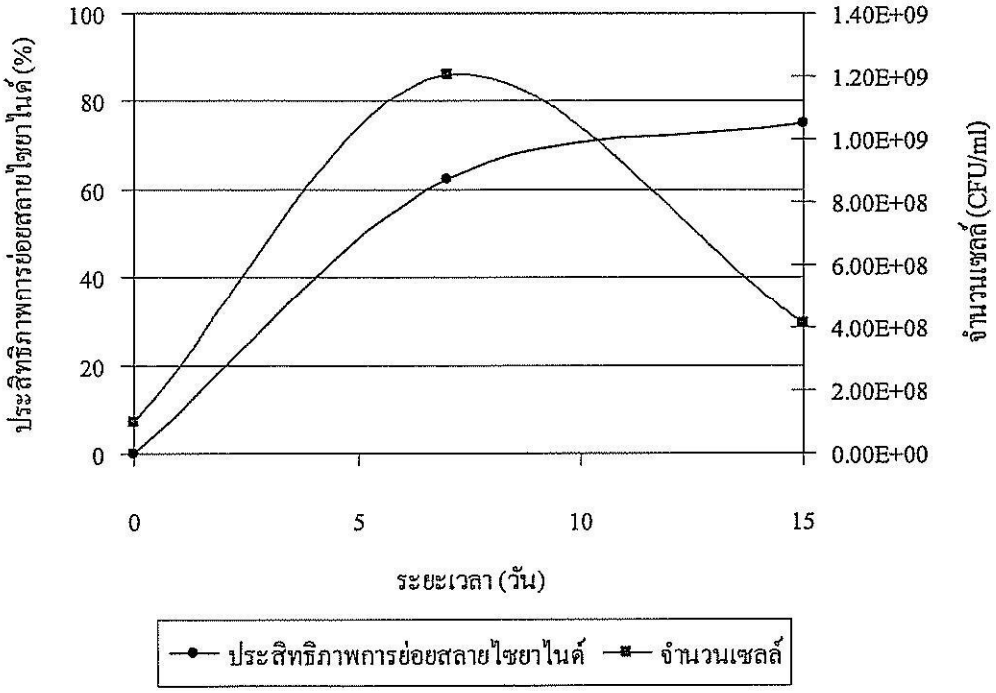
ภาพที่ 4-6 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 2 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 2

4.3.2.2 การย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 2 ในระยะเวลา 7 และ 15 วัน และทำการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ไนเตรทไซยาไนด์ และค่าความเป็นกรดด่าง พบว่า เชื้อ SUTS 2 สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ให้ลดลงเหลือ 18.75 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 7 และเหลือ 12.50 มิ ลลิกรัมต่อลิตร เมื่อระยะเวลาการศึกษาเพิ่มขึ้นเป็น 15 วัน โดยที่จำนวนเซลล์ของ SUTS 2 มีจำนวนเพิ่มขึ้นจาก 1.0×10^8 เซลล์ เป็น 1.21×10^9 และ 4.1×10^8 เซลล์ ในวันที่ 7 และ 15 ขณะที่ปริมาณแอมโมเนียมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 0.42 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งพบปริมาณของไนเตรทเพิ่มขึ้นจาก 2.55 เป็น 2.69 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 15 ของการศึกษาเช่นกัน ค่าความเป็นกรดด่างมีค่าลดลงจาก 7.20 เหลือ 7.17 ดังแสดงในตารางที่ 4-8 และภาพที่ 4-7

ตารางที่ 4-8 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ของเชื้อ SUTS 2

ระยะเวลา (วัน)	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ (%)	ไซยาไนด์ (mg/L)	NH_3 (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	pH	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)
0	0.00	50.00	0.00	2.55	0.00	7.20	1.00E+08
7	62.50	18.75	0.00	2.95	0.00	7.17	1.21E+09
15	75.00	12.50	0.42	2.69	0.00	7.17	4.10E+08



ภาพที่ 4-7 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 2 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 2

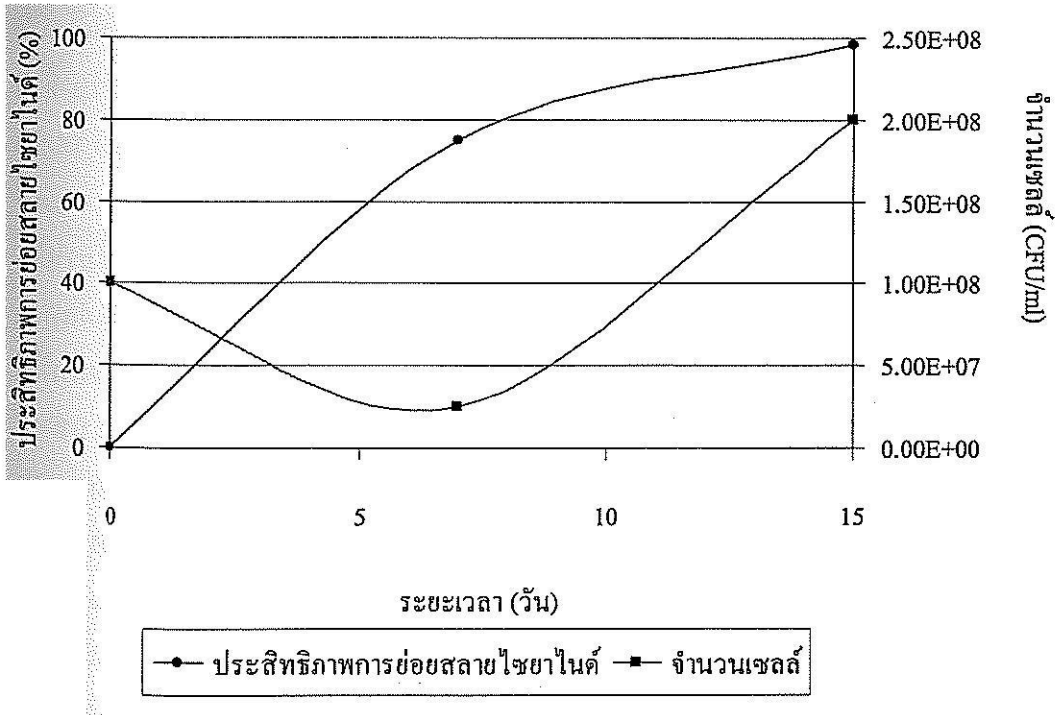
4.3.2.3 การย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS2 ในระยะเวลา 7 และ 15 วัน และทำการวิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ไนเตรท ไซยาไนด์ และค่าความเป็นกรดด่าง พบว่า เชื้อ SUTS 2 สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้นสูงได้ และมีประสิทธิภาพประมาณ 75% ในวันที่ 7 และเพิ่มขึ้น

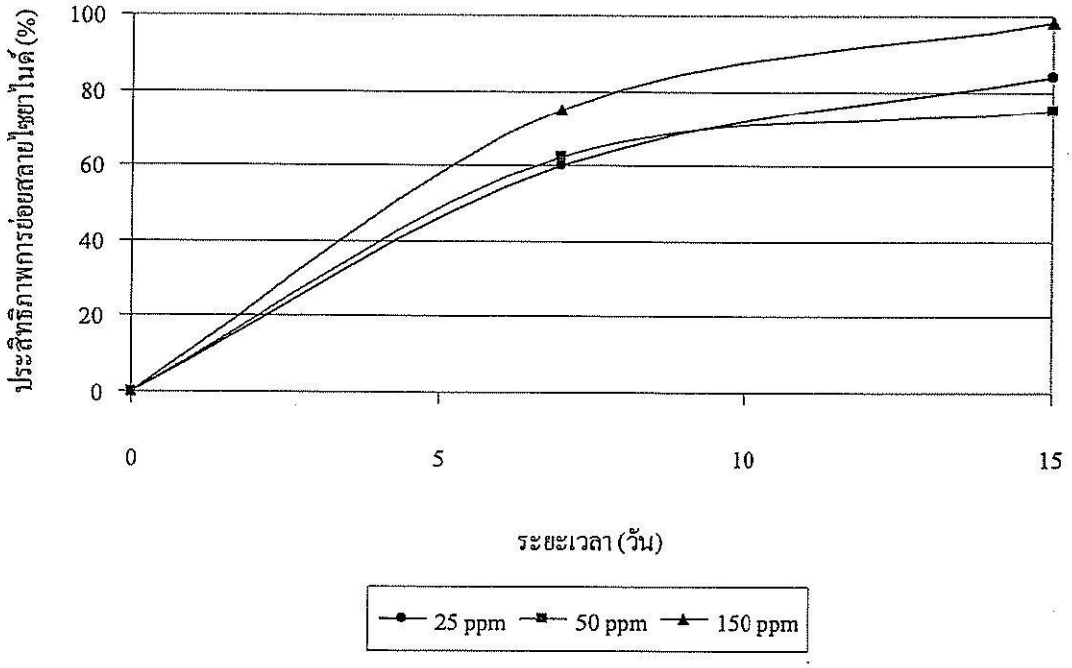
มากถึง 98% ซึ่งพบปริมาณไซยาไนด์เหลือเพียง 2.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ในวันที่ 15 ขณะที่จำนวนเซลล์มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 1.0×10^8 เซลล์ เป็น 2.0×10^8 เซลล์ ปริมาณแอมโมเนียมีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 0.56 เป็น 0.84 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ปริมาณไนเตรทลดลงจาก 3.53 เหลือ 1.45 มิลลิกรัมต่อลิตรในระยะเวลาเดียวกัน ในวันสุดท้ายของการศึกษาตรวจไม่พบปริมาณแอมโมเนียแต่ตรวจพบปริมาณของไนเตรทซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนค่าความเป็นกรดด่างมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 7.38 เป็น 7.42 ดังแสดงในตารางที่ 4-9 และภาพที่ 4-8

ตารางที่ 4-9 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ของเชื้อ SUTS 2

ระยะเวลา (วัน)	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ (%)	ไซยาไนด์ (mg/L)	NH_3 (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	pH	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)
0	0.00	150.00	0.56	3.53	0.00	7.38	1.00E+08
7	75.10	37.35	0.84	1.45	0.00	7.38	2.50E+07
15	98.17	2.75	0.00	5.43	0.00	7.42	2.00E+08



ภาพที่ 4-8 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 2 และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ SUTS 2



ภาพที่ 4-9 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 2

การศึกษาย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อ SUTS 2 พบว่า เชื้อ SUTS 2 สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เหลือ 10 มิลลิกรัมต่อลิตรภายในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์คิดเป็น 60% และเมื่อระยะเวลาการศึกษานานขึ้นถึง 15 วัน ประสิทธิภาพการย่อยสลายเพิ่มขึ้นอีกคิดเป็น 84% โดยมีไซยาไนด์เหลือ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่เมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้นเป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อ SUTS 2 ยังคงมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์คิดเป็น 75% ในระยะเวลา 15 วันของการศึกษาซึ่งพบปริมาณไซยาไนด์ลดลงเหลือ 12.50 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์มากถึง 75% เพียงในระยะเวลา 7 วันแรก และมีประสิทธิภาพมากขึ้นอีกเป็น 98% ในวันที่ 15 ของการศึกษา แสดงว่าเชื้อ SUTS 2 นี้มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์ (ภาพที่ 4-9) นอกจากนั้นปริมาณของแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณมากขึ้นตามการย่อยสลายไซยาไนด์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากไซยาไนด์ถูกเปลี่ยนรูปกลายเป็นแอมโมเนียเช่นเดียวกับการย่อยสลายด้วยเชื้อ SUTS 1 แต่การศึกษาที่ความเข้มข้นของไซยาไนด์ 150 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น แอมโมเนียถูกเปลี่ยนไปเป็นไนเตรทตามปฏิกิริยาการย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์ (Petrozzi and Dunn, 1994) ซึ่งพบว่าปริมาณของไนเตรทมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณแอมโมเนียมีค่าลดลงดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ในขณะที่ ค่าไนไตรท์ตรวจไม่พบในการศึกษา ดังตารางที่ 4-7 ถึง 4-9

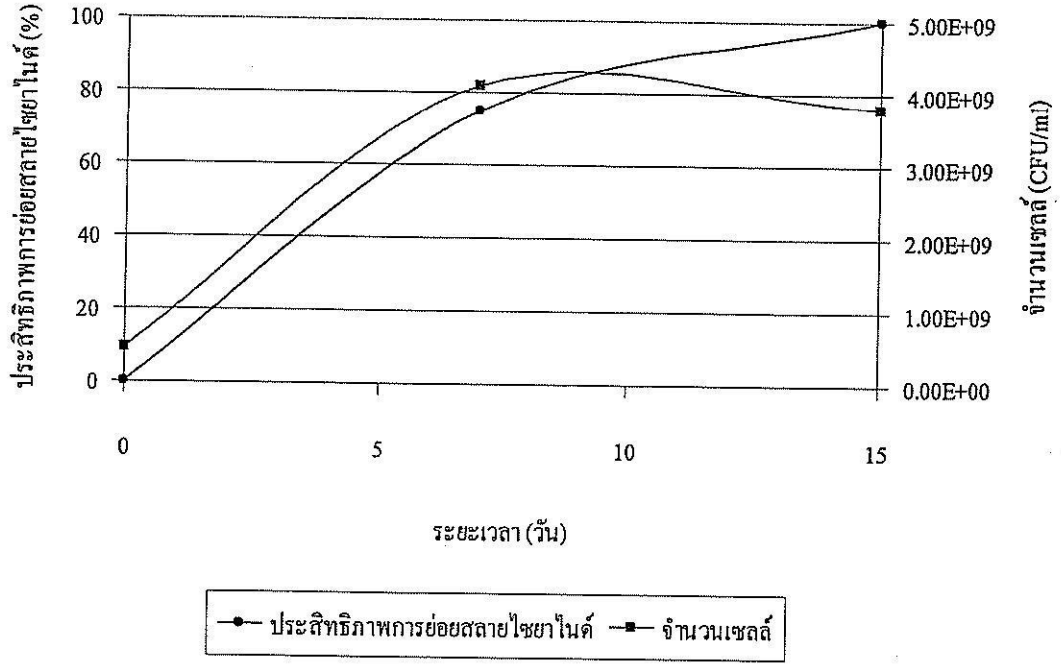
4.3.3 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อ Mixed culture

4.3.3.1 การย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ Mixed culture ในระยะเวลา 7 และ 15 วัน และทำการตรวจวิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ไนเตรท ไนไตรท์ ปริมาณไซยาไนด์ และค่าความเป็นกรดด่าง พบว่าเชื้อชนิดนี้มีความสามารถสูงในการย่อยสลายไซยาไนด์ซึ่งมีประสิทธิภาพมากถึง 100% ในการย่อยสลาย ในระยะเวลา 15 วันของการศึกษา ขณะที่จำนวนเซลล์มีปริมาณมากขึ้นเช่นกันจาก 4.7×10^8 เซลล์ เป็น 3.8×10^9 เซลล์ในระยะเวลาเดียวกัน ส่วนปริมาณแอมโมเนียมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 0.14 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 7 และ 0.16 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 15 ค่าไนเตรทมีปริมาณมากขึ้นเช่นกันจาก 1.71 เป็น 1.98 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันที่ 15 ค่าความเป็นกรดด่างมีค่าลดลงเล็กน้อยจาก 7.22 เป็น 7.21 (ตารางที่ 4-10 และภาพที่ 4-10)

ตารางที่ 4-10 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ของเชื้อ Mixed culture

ระยะเวลา (วัน)	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ (%)	ไซยาไนด์ (mg/L)	NH_3 (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	pH	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)
0	0.00	25.00	0.00	0.00	0.00	7.22	4.70E+08
7	75.00	6.25	0.14	1.71	0.00	7.22	4.10E+09
15	100.00	0.00	0.16	1.98	0.00	7.21	3.80E+09



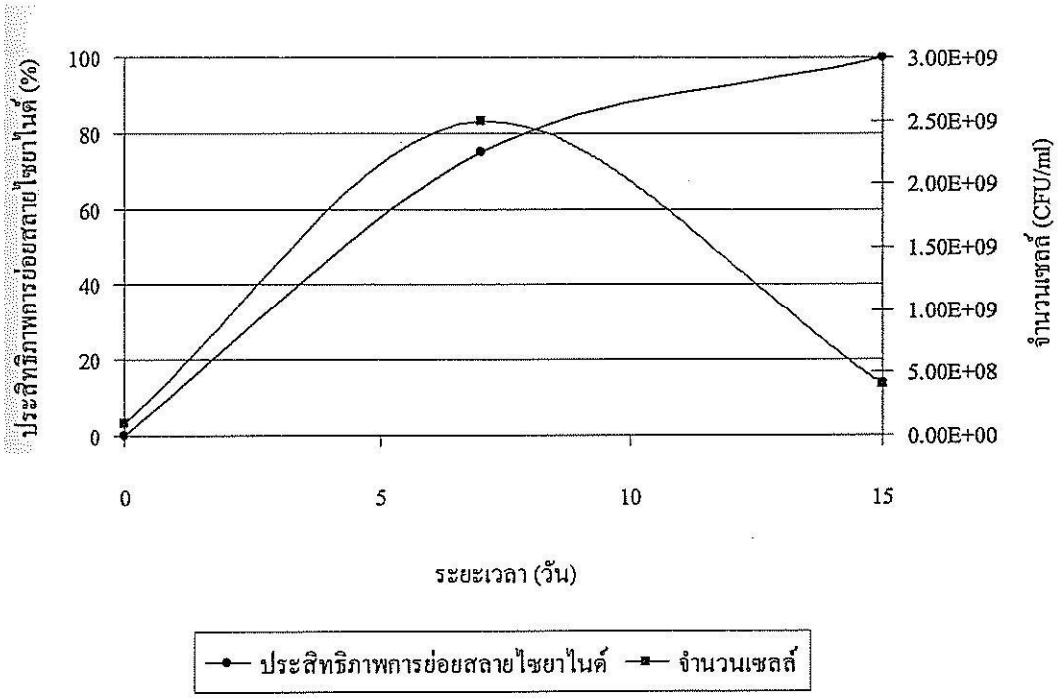
ภาพที่ 4-10 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ Mixed culture และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ Mixed culture

4.3.3.2 การย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ Mixed culture ในระยะเวลา 7 และ 15 วัน และทำการตรวจวิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ไนเตรท ไนไตรท์ ปริมาณไซยาไนด์ และค่าความเป็นกรดด่าง พบว่าเชื้อรวมกลุ่มนี้มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้นมากขึ้น โดยมีประสิทธิภาพมากถึง 100% ในระยะเวลา 15 วันของการศึกษา ซึ่งมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 1.0×10^8 เซลล์ เป็น 4.1×10^8 เซลล์ ปริมาณแอมโมเนียมีค่า 0.28 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันแรกของการศึกษา แต่ตรวจไม่พบในวันที่ 7 ของการศึกษาในขณะที่ตรวจพบปริมาณไนเตรทเพิ่มขึ้นจาก 1.98 เป็น 2.69 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ในวันที่ 15 พบปริมาณแอมโมเนียเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณไนเตรทลดลงเหลือ 2.36 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนค่าความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้นในวันที่ 7 แต่ลดลงในวันที่ 15 ของการศึกษา (ตารางที่ 4-11 และภาพที่ 4-11)

ตารางที่ 4-11 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ของเชื้อ Mixed culture

ระยะเวลา (วัน)	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ (%)	ไซยาไนด์ (mg/L)	NH_3 (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	pH	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)
0	0.00	50.00	0.28	1.98	0.00	7.16	1.00E+08
7	75.00	12.50	0.00	2.69	0.00	7.24	2.50E+09
15	100.00	0.00	0.28	2.36	0.00	7.18	4.10E+08



ภาพที่ 4-11 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ Mixed culture และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ Mixed culture

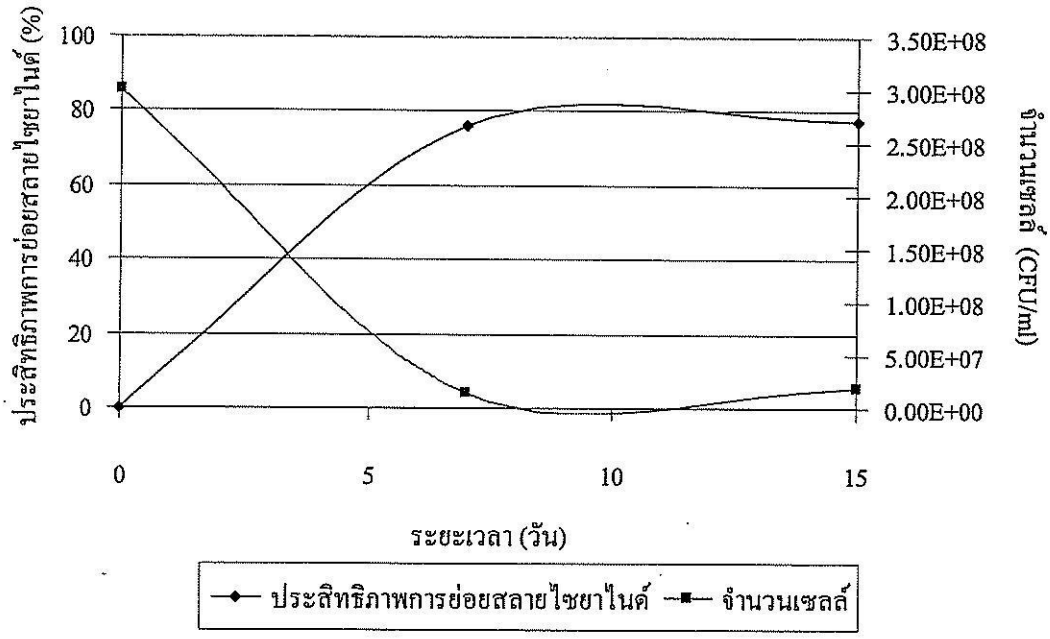
4.3.3.3 การย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ Mixed culture ในระยะเวลา 7 และ 15 วัน และทำการตรวจวิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน ไนเตรท ปริมาณไซยาไนด์ และค่าความเป็นกรดด่าง พบว่า เชื้อรวมกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเพียง 77% ในระยะเวลา 15 วัน ซึ่งมีปริมาณไซยาไนด์

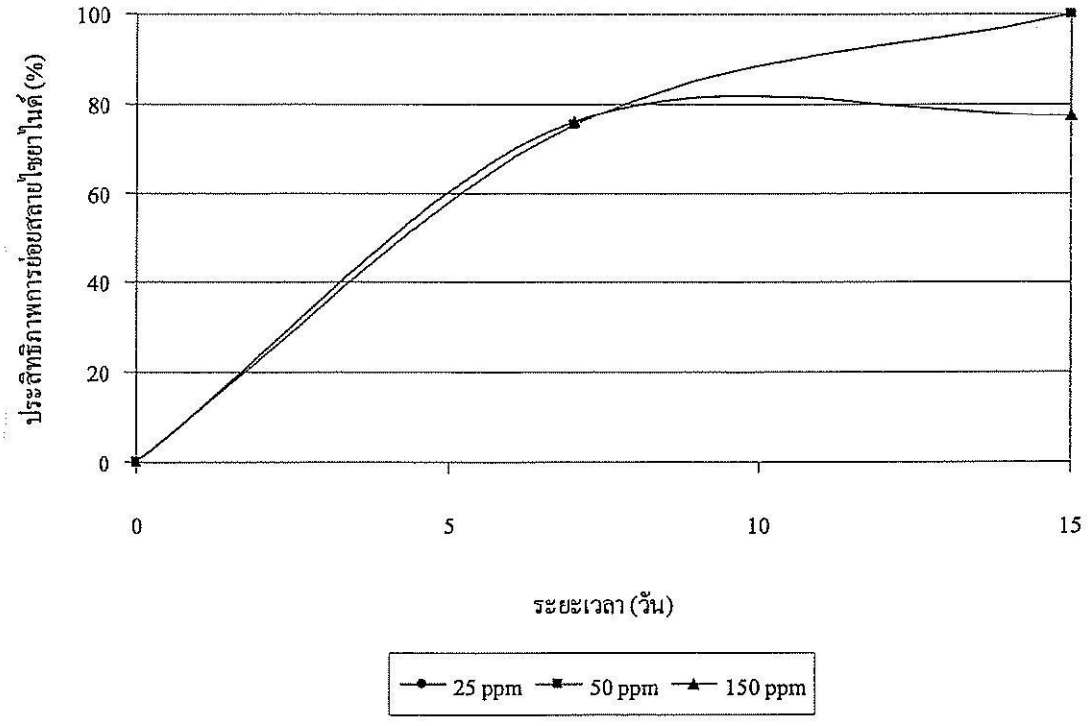
ลดลงเหลือ 34 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพบเชื้อมีจำนวนลดลงจาก 3.0×10^8 เซลล์ เหลือ 2.0×10^7 เซลล์ ส่วนปริมาณแอมโมเนียมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.70 เป็น 1.40 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับค่าไนเตรทมีปริมาณเพิ่มขึ้นเช่นกันจาก 3.0 เป็น 5.21 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้นจาก 7.38 เป็น 7.43 ในระยะเวลา 15 วัน (ตารางที่ 4-12 และภาพที่ 4-12)

ตารางที่ 4-12 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ของเชื้อ Mixed culture

ระยะเวลา (วัน)	ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ (%)	ไซยาไนด์ (mg/L)	NH_3 (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	NO_2^- (mg/L)	pH	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)
0	0.00	150.00	0.70	3.00	0.00	7.38	3.00E+08
7	75.97	36.05	1.12	3.31	0.00	7.38	1.40E+07
15	77.33	34.00	1.40	5.21	0.00	7.43	2.00E+07



ภาพที่ 4- 12 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ Mixed culture และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ Mixed culture



ภาพที่ 4-13 ประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ Mixed culture

การศึกษาย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อ Mixed culture พบว่า เชื้อรวมกลุ่มนี้สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เหลือ 6.25 มิลลิกรัมต่อลิตรภายในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์สูงถึง 75% และเมื่อระยะเวลา 15 วัน ประสิทธิภาพการย่อยสลายเพิ่มขึ้นถึง 100% โดยตรวจไม่พบไซยาไนด์ เช่นเดียวกับการศึกษาที่ความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้นเป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อ Mixed culture ยังคงมีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายไซยาไนด์ซึ่งตรวจไม่พบปริมาณไซยาไนด์ในวันที่ 15 ของการศึกษา เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์มากถึง 75% เพียงในระยะเวลา 7 วันแรก ขณะที่เมื่อระยะเวลา 15 วัน มีประสิทธิภาพมากขึ้นอีกเป็น 77% ซึ่งยังคงพบปริมาณไซยาไนด์ 34 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 4-13) นอกจากนั้นปริมาณแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณมากขึ้นตามการย่อยสลายไซยาไนด์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเชื้อ Mixed culture นี้เป็นการรวมกลุ่มกันของเชื้อ SUTS 1 และ SUTS 2 ดังนั้นไซยาไนด์จึงถูกเปลี่ยนรูปกลายเป็นแอมโมเนีย และแอมโมเนียจะเปลี่ยนเป็นไนเตรทในที่สุด (Petrozzi and Dunn, 1994)

บทที่ 5
อภิปรายผลการวิจัย

5.1 จุลินทรีย์ในการศึกษาวิจัย

โดยทั่วไปสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่มักจะไม่สามารถเจริญเติบโตในไซยาไนด์หรือในน้ำเสียที่มีไซยาไนด์ปนเปื้อน เนื่องจากไซยาไนด์จะไประงับการเจริญเติบโต กระบวนการสร้าง กระบวนการย่อย และการหายใจของเซลล์สิ่งมีชีวิต รวมทั้งมีผลต่อการเคลื่อนที่ของจุลินทรีย์บางชนิด และยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม (Ebbs, 2004) แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซยาไนด์เป็นองค์ประกอบและพบว่าเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้และชนิดรวมกลุ่ม (Mixed culture) สามารถเจริญเติบโตได้ โดยเฉพาะเชื้อ Mixed culture เจริญเติบโตได้มากที่สุดและเร็วที่สุดในระยะเวลาเพียง 2 วันของการศึกษาโดยมีจำนวนเซลล์ประมาณ 5.3×10^8 CFU/ml อาจเนื่องจากเป็นการรวมกลุ่มกันของ SUTS 1 และ SUTS 2 ซึ่งอาจใช้ไซยาไนด์เป็นแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจน โดยมีหลายงานวิจัยที่ได้ค้นพบว่า จุลินทรีย์เช่น *Trichoderma* spp., *Fusarium* spp., *Pseudomonas* sp., *Bacillus pumilus*, *Nocardia* sp. และ *Burkholferia cepacia* เป็นต้น สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือสภาวะที่มีไซยาไนด์อยู่ (Adjei and Ohta, 2000; Ezzi and Lynch, 2005; Knowles, 1976; Rollinson *et al.*, 1987; Skowronski and Strobel, 1969) ด้วยการใช้ไซยาไนด์เป็นแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโตของเซลล์ ซึ่งจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้หรือจุลินทรีย์ที่ชอบไซยาไนด์ สามารถทำลายพิษของไซยาไนด์โดยการสังเคราะห์เป็นสารประกอบอินทรีย์ไซยาไนด์ขึ้นภายในเซลล์ (Oliveira *et al.*, 2001)

5.2 การย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์

การย่อยสลายไซยาไนด์หรือการบำบัดไซยาไนด์ที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมมีหลายวิธี เช่น การเติมคลอรีน การเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ การเติมโอโซน การใช้แสงอัลตราไวโอเลต การเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เป็นต้น ซึ่งเป็นกระบวนการทางเคมีที่ทำให้ไซยาไนด์เปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษน้อยลง แต่ข้อเสียของวิธีการดังกล่าวคือ การใช้สารเคมี การใช้พลังงานมาก ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการบำบัดเพิ่มมากขึ้น และอาจเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้ (Palmer *et al.*, 1988; Watanabe *et al.*, 1998; Cheremisinoff, 1995) รวมทั้งยังไม่สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ได้อย่างสมบูรณ์ (Figueira *et al.*, 1996) จากสาเหตุดังกล่าวกระบวนการทางชีวภาพจึงเป็นอีกวิธีที่เข้ามาใช้ในการบำบัดไซยาไนด์ เช่น การใช้ระบบ Bioreactor การใช้ระบบ UASB การใช้ระบบ RBC การใช้ระบบ Biofilter เป็นต้น (Whitlock, 1990; Hu *et al.*, 1998; Gijzen *et al.*, 2000; Cheng *et al.*, 2004; Baxter

and Cummings, 2006; Sirianuntapiboon and Chuamkaew, 2007) ซึ่งเป็นกระบวนการที่มีการนำจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์มาใช้ในกระบวนการบำบัดดังกล่าว จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์ ได้แก่ *Psuedomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp., *Alcaligenes* sp., *Fusarium* sp., *Klebsiella* sp. และ *Trichoderma* sp. (Harris and Knowles, 1983a; Finnegan *et al.*, 1991; Ingvorsen *et al.*, 1991; Meyers *et al.*, 1991; Dumestre *et al.*, 1997; Kao *et al.*, 2003; Ezzi and Lynch, 2005) เช่นเดียวกับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้พบจุลินทรีย์ 2 ชนิดที่มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์ ได้แก่ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 โดยศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร 50 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1 เชื้อ SUTS 2 และเชื้อ Mixed culture พบว่า เชื้อ SUTS 1 และเชื้อ Mixed culture สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เหลือ 6.25 มิลลิกรัมต่อลิตรภายในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์คิดเป็น 75% ขณะที่เชื้อ SUTS 2 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเพียง 60% และเมื่อระยะเวลาการศึกษานานขึ้นถึง 15 วัน พบว่า เชื้อ Mixed culture มีประสิทธิภาพการย่อยสลายเกือบ 100% ซึ่งตรวจไม่พบปริมาณไซยาไนด์ ส่วนเชื้อ SUTS 1 และเชื้อ SUTS 2 มีประสิทธิภาพการย่อยสลายเพิ่มขึ้นอีกคิดเป็น 87.50% และ84% โดยมีไซยาไนด์เหลือเพียง 3.125 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้นเป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อ Mixed culture ยังคงมีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายไซยาไนด์ซึ่งตรวจไม่พบปริมาณไซยาไนด์ในวันที่ 15 ของการศึกษา เชื้อ SUTS 1 คงมีประสิทธิภาพคิดเป็น 87.50% เช่นเดียวกับการศึกษาที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพบปริมาณไซยาไนด์ลดลงเหลือ 6.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วน เชื้อ SUTS 2 ยังคงมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์คิดเป็น 75% ในระยะเวลา 15 วันของการศึกษาซึ่งพบปริมาณไซยาไนด์ลดลงเหลือ 12.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าเชื้อ Mixed culture มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรสูงกว่าเชื้อ SUTS 1 และเชื้อ SUTS 2 ขณะเดียวกันหากจะพิจารณาถึงเกณฑ์มาตรฐานเกี่ยวกับน้ำที่มีการปนเปื้อนไซยาไนด์ในประเทศไทยมาเปรียบเทียบจะพบว่าค่ามาตรฐานส่วนใหญ่กำหนดไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อ Mixed culture มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์ได้ตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด (ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม, 2521; มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งในทางน้ำชลประทาน, 2532; ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2537; ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2539; การประปานครหลวง, 2549) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไซยาไนด์สูงถึง 150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อ SUTS 1 มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นในการย่อยสลายไซยาไนด์สูงกว่าเชื้อ SUTS 2 และเชื้อ Mixed culture คิดเป็น 89.97%ในระยะเวลา 7 วันแรกของการศึกษา ขณะที่ เชื้อ SUTS 2 และเชื้อ Mixed culture มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเพียง

75% แต่เมื่อระยะเวลา 15 วัน เชื้อ SUTS 1 และ เชื้อ SUTS 2 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายใกล้เคียงกัน คือ ประมาณ 98% และมีปริมาณของไซยาไนด์คงเหลือประมาณ 2-3 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนเชื้อ Mixed culture มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเพียง 77% ซึ่งยังคงพบปริมาณไซยาไนด์ 34 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาอาจกล่าวได้ว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้นี้สามารถย่อยสลายไซยาไนด์และสามารถเจริญเติบโตได้แม้มีปริมาณความเข้มข้นของไซยาไนด์สูงถึง 150 มิลลิกรัมต่อลิตร สังเกตได้จากการศึกษาจำนวนเซลล์ซึ่งมีการเจริญเติบโตได้ในไซยาไนด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน โดยเฉพาะเชื้อ SUTS 1 และเชื้อ Mixed culture มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 10^8 CFU/ml เป็น 10^9 CFU/ml ที่ความเข้มข้นของไซยาไนด์ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ เชื้อ SUTS 2 ที่มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นในการศึกษาที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่ต้องอาศัยการเพิ่มกลูโคส การตรึงเซลล์ หรือวิธีการอื่น ซึ่งการศึกษาของ Adjei และ Ohta (2000) พบว่า *Burkholderia cepacia* สามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีไซยาไนด์โดยต้องมีการเติมกลูโคสด้วย จึงจะสามารถย่อยสลายไซยาไนด์ได้เมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้น และการศึกษาของ Chapatwala และคณะ (1998) ค้นพบว่า *Pseudomonas putida* ที่ถูกตรึงเซลล์เท่านั้นจะมีความสามารถในการย่อยสลายเมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้น

การศึกษาครั้งนี้ยังพบอีกว่าไซยาไนด์ที่ถูกย่อยสลายจะถูกเปลี่ยนรูปกลายเป็นสารที่มีความเป็นพิษน้อยลง ได้แก่ ไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนีย และไนเตรท โดยปริมาณแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณมากขึ้นตามการย่อยสลายไซยาไนด์ที่เพิ่มขึ้น หรือหากไนเตรทมีปริมาณมากขึ้นแอมโมเนียจะมีปริมาณลดลงหรือไม่พบเลย อาจกล่าวได้ว่าไซยาไนด์ถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย หลังจากนั้นแอมโมเนียถูกเปลี่ยนไปเป็นไนเตรท ตามปฏิกิริยาการย่อยสลายไซยาไนด์ที่มีการศึกษาโดยนักวิจัยหลายคณะ (Dorr and Knowles, 1989; Ingvorsen *et al.*, 1991; Meyers *et al.*, 1991; Petrozzi and Dunn, 1994; Chapatwala *et al.*, 1998; Watanabe *et al.*, 1998; Kao *et al.*, 2003) ซึ่งได้สรุปว่าไซยาไนด์จะถูกเปลี่ยนรูปกลายเป็นแอมโมเนีย และแอมโมเนียจะเปลี่ยนไปเป็นไนเตรท นอกจากนั้นยังสามารถเปลี่ยนไปเป็นมีเทน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามมีการศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณของไนไตรท์ด้วย พบว่า ตรวจไม่พบปริมาณไนไตรท์ อาจเนื่องจากมีปริมาณของออกซิเจนเพียงพอสำหรับการเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วในการเปลี่ยนรูปของแอมโมเนียไปเป็นไนเตรท (Metcalf and Eddy, 1991) ซึ่งการศึกษาของ Sirianuntapiboon และ Chuamkaew (2007) ได้รายงานไว้เช่นกัน รวมทั้งเชื้อ SUTS 2 จะไม่สามารถลดรูปของไนเตรทให้เปลี่ยนเป็นไนไตรท์ได้ ตามคุณลักษณะของเชื้อสกุลนี้ (Elomari *et al.*, 1997)

บทที่ 6
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 การคัดแยกและบ่งชี้ชนิดจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไซยาไนด์

การศึกษาวิจัยนี้คัดแยกจุลินทรีย์จากระบบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีไซยาไนด์ปนเปื้อน โดยดูลักษณะภายนอกของโคโลนีที่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ BM และมีไซยาไนด์ในรูปของโพแตสเซียมไซยาไนด์ (BMK) และทำการย้อมติดสีแกรม หลังจากนั้นทำการบ่งชี้ชนิดของจุลินทรีย์ด้วยการหาลำดับเบสของดีเอนเอ (DNA sequencing) ซึ่งได้จุลินทรีย์ 2 ชนิดคือ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 และ*Pseudomonas monteilii* SUTS 2 หลังจากนั้นศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ SUTS 1 เชื้อ SUTS 2 และเชื้อ Mixed culture ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BMK เป็นระยะเวลา 7 วัน พบจำนวนเซลล์ของเชื้อ Mixed culture มีจำนวนมากที่สุดประมาณ 5.3×10^8 CFU/ml และเจริญเติบโตภายในระยะเวลาเพียง 2 วันแรกของการศึกษา ขณะที่เชื้อ SUTS 1 มีการเจริญเติบโตในช่วงวันที่ 4 ของการศึกษาโดยมีจำนวนเซลล์ประมาณ 4.7×10^8 CFU/ml ส่วน SUTS 2 มีจำนวนเซลล์น้อยที่สุดนั่นคือประมาณ 2.0×10^8 CFU/ml และเจริญเติบโตในระยะเวลา 3 วันของการศึกษา

6.2 การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายไซยาไนด์

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25, 50 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเชื้อ SUTS 1, SUTS 2 และแบบรวมกลุ่ม (Mixed culture) ในระยะเวลา 7 วันและ 15 วัน โดยทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณไซยาไนด์ที่เหลืออยู่ (Residual cyanide) เพื่อหาประสิทธิภาพในการย่อยสลาย ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย ไนเตรท ไนไตรท์ และค่าความเป็นกรดด่าง รวมทั้งจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิด นอกจากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแต่ละชนิดแล้ว ยังมีการศึกษาทดลองด้วยชุดควบคุม (Control experiment) ซึ่งไม่มีการเติมจุลินทรีย์ในการศึกษาดังกล่าว พบว่า ไซยาไนด์มีปริมาณลดลงจาก 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือ 43.75 มิลลิกรัมต่อลิตร การย่อยสลายคิดเป็น 12.5% จากการย่อยสลายไซยาไนด์ในรูปของโพแตสเซียมไซยาไนด์ด้วยเชื้อ SUTS 1 พบว่าเชื้อ SUTS 1 สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เหลือ 6.25 มิลลิกรัมต่อลิตรภายในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์คิดเป็น 75.00% และเมื่อระยะเวลาการศึกษานานขึ้นถึง 15 วัน ประสิทธิภาพการย่อยสลายเพิ่มขึ้นอีกคิดเป็น 87.50% โดยมีไซยาไนด์เหลือเพียง 3.13 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่เมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้นเป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อ SUTS 1 ยังคงมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์เช่นเดียวกัน และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเป็น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อชนิดนี้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นในการย่อย

สลายไซยาไนด์คิดเป็น 89.97%ในวันที่ 7 ของการศึกษา และคิดเป็น 97.90%ในวันที่ 15 ของการศึกษา แสดงว่าเชื้อ SUTS 1 นี้มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์ และสามารถเจริญเติบโตได้ สังเกตได้จากจำนวนเซลล์ที่เพิ่มจำนวนขึ้น แม้ว่าการย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตรจะมีจำนวนเซลล์ลดลงแต่เชื้อ SUTS 1 ยังคงสามารถย่อยสลายไซยาไนด์ได้เป็นอย่างดี นอกจากนั้นปริมาณของแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณมากขึ้นตามการย่อยสลายไซยาไนด์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากไซยาไนด์ถูกเปลี่ยนรูปกลายเป็นแอมโมเนีย ซึ่งมีความเป็นพิษน้อยลง แต่การศึกษาที่ความเข้มข้นของไซยาไนด์ 150 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น แอมโมเนียถูกเปลี่ยนไปเป็นไนเตรทตามปฏิกิริยาการย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์ (Petrozzi and Dunn, 1994) ซึ่งพบว่าปริมาณของไนเตรทมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณแอมโมเนียมีค่าลดลง

การศึกษาย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อ SUTS 2 พบว่า เชื้อ SUTS 2 สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เหลือ 10 มิลลิกรัมต่อลิตรภายในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์คิดเป็น 60.00% และเมื่อระยะเวลาการศึกษานานขึ้นถึง 15 วัน ประสิทธิภาพการย่อยสลายเพิ่มขึ้นอีกคิดเป็น 84.00% โดยมีไซยาไนด์เหลือ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่เมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้นเป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อ SUTS 2 ยังคงมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์คิดเป็น 75.00% ในระยะเวลา 15 วันของการศึกษาซึ่งพบปริมาณไซยาไนด์ลดลงเหลือ 12.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์มากถึง 75.10% เพียงในระยะเวลา 7 วันแรก และมีประสิทธิภาพมากขึ้นอีกเป็น 98.17%ในวันที่ 15 ของการศึกษา แสดงว่าเชื้อ SUTS 2 นี้มีความสามารถในการย่อยสลายไซยาไนด์ แ ละยังสามารถเจริญเติบโตได้ใน ไซยาไนด์อีกด้วย สังเกตได้จากจำนวนเซลล์ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแม้ความเข้มข้นของไซยาไนด์มากขึ้น นอกจากนั้นปริมาณของแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณมากขึ้นตามการย่อยสลายไซยาไนด์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากไซยาไนด์ถูกเปลี่ยนรูปกลายเป็นแอมโมเนีย เช่นเดียวกับการย่อยสลายด้วยเชื้อ SUTS 1 แต่การศึกษาที่ความเข้มข้นของไซยาไนด์ 150 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น แอมโมเนียถูกเปลี่ยนไปเป็นไนเตรทตามปฏิกิริยาการย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์ ซึ่งพบว่าปริมาณของไนเตรทมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณแอมโมเนียมีค่าลดลง ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

การศึกษาย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อ Mixed culture พบว่า เชื้อรวมกลุ่มนี้สามารถย่อยสลายไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เหลือ 6.25 มิลลิกรัมต่อลิตรภายในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยสลายไซยาไนด์สูงถึง 75.00% และเมื่อระยะเวลา 15 วัน ประสิทธิภาพการย่อยสลายเพิ่มขึ้นถึง 100% โดยตรวจไม่พบไซยาไนด์ เช่นเดียวกับการศึกษาที่ความเข้มข้นของไซยาไนด์เพิ่มขึ้นเป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เชื้อ Mixed culture ยังคงมีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายไซยาไนด์ซึ่งตรวจไม่พบปริมาณไซยาไนด์ในวันที่ 15 ของการศึกษา เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น

150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาไนด์มากถึง 75.97% เพียงในระยะเวลา 7 วันแรก ขณะที่เมื่อระยะเวลา 15 วัน มีประสิทธิภาพมากขึ้นอีกเป็น 77.33% ซึ่งยังคงพบปริมาณไซยาไนด์ 34 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนปริมาณแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณมากขึ้นตามการย่อยสลายไซยาไนด์ที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเชื้อ Mixed culture นี้เป็นการรวมกลุ่มกันของเชื้อ SUTS 1 และ SUTS 2 ดังนั้นไซยาไนด์จึงถูกเปลี่ยนรูปกลายเป็นแอมโมเนีย และแอมโมเนียจะเปลี่ยนเป็นไนเตรทในที่สุด

ขณะที่ค่าไนไตรท์ตรวจไม่พบในการศึกษาทุกการศึกษาไม่ว่าจะทำการย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยเชื้อชนิดใด ส่วนค่าความเป็นกรดด่าง (pH) พบว่ามีแนวโน้มสูงขึ้นตามระยะเวลาของการศึกษา และมีค่าสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไซยาไนด์สูงขึ้น โดยมีค่าอยู่ในช่วง 7.1-7.2 หากความเข้มข้นของไซยาไนด์อยู่ที่ 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อสิตร และมีค่าอยู่ในช่วง 7.3-7.4 หากความเข้มข้นของไซยาไนด์อยู่ที่ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ในทุกการศึกษาวิจัย

6.3 ข้อเสนอแนะ

การศึกษาวิจัยการย่อยสลายไซยาไนด์ด้วยจุลินทรีย์ที่พบจากการวิจัยนี้จะเป็นการศึกษาที่สำคัญที่นำไปสู่การบำบัดน้ำเสีย การบำบัดกลิ่น หรือดินที่มีการปนเปื้อนของไซยาไนด์ที่เกิดจากอุตสาหกรรมโดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมการผลิตมันสำปะหลังต่อไป และเพื่อให้เกิดการนำไปใช้ประโยชน์ดังกล่าว จึงมีข้อเสนอแนะดังนี้

1) ควรมีการนำจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงจากการศึกษาวิจัยนี้ทดสอบกับน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีไซยาไนด์ปนเปื้อน
2) ควรมีการพัฒนานำจุลินทรีย์นี้ไปใช้ในการบำบัดสารประกอบไซยาไนด์ในรูปอื่น เช่น ไธโอไซยาเนต อะลิฟาติกและอะโรมาติกไนไตร เป็นต้น เนื่องจากไซยาไนด์สามารถอยู่ในรูปของสารประกอบได้เช่นเดียวกัน
3) ควรมีการประยุกต์นำจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงนี้ไปใช้ระบบบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพเพื่อทดสอบบำบัดน้ำเสียที่มีไซยาไนด์ปนเปื้อนทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ (Lab scale) และเพื่อเป็นต้นแบบ (Pilot scale) นำไปใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมต่อไป
4) ควรมีการพัฒนานำจุลินทรีย์นี้ไปทดสอบกับการบำบัดไซยาไนด์ที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมรูปแบบอื่นๆ ต่อไป เช่น การบำบัดกลิ่นที่มีไซยาไนด์ปนเปื้อน การบำบัดดินที่มีไซยาไนด์ปนเปื้อน เป็นต้น

บรรณานุกรม

กระทรวงอุตสาหกรรม (2539) กำหนดคุณลักษณะของน้ำทิ้งที่ระบายออกจากโรงงาน กระทรวงอุตสาหกรรม กรุงเทพมหานคร.

กล้าณรงค์ ศรีรอต, เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, วัชรี เลิศมงคล, จำลอง เจียมจำนรรจา, ปิยะ ดวงพัตรา, เอ็จ สโรบล, ปิยะวุฒิ พูลสงวน, เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ และวิจารณ์ วิชชุกิจ (2542) การแปรรูปและการใช้ประโยชน์มันสำปะหลัง เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการโครงการเพื่อบรรเทาผลกระทบทางสังคมเนื่องจากวิกฤตการณ์ทางเศรษฐกิจ ฉบับที่ 5 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

กล้าณรงค์ ศรีรอต และเจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ (2548) ข้าว-มัน-กุ้ง ผลผลิตคู่ชีวิตคนไทย, มันสำปะหลัง : อนาคตและความก้าวหน้า สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ปทุมธานี หน้า 89-96.

การประปานครหลวง (2549) มาตรฐานคุณภาพน้ำประปาของการประปานครหลวง [online] Available: http://www.afrims.go.th/analysis/toxico/GoodW/TapStd.pdf [14 September 2552]

คำสั่งกรมชลประทานที่ 883/2532 (2532) เรื่อง การป้องกันและการแก้ไขการระบายน้ำทิ้งที่มีคุณภาพต่ำลงทางน้ำชลประทาน และทางน้ำที่ต่อเชื่อมกับทางน้ำชลประทานในเขตพื้นที่โครงการชลประทานลงวันที่ 19 ธันวาคม 2532.

จรุงสิทธิ์ ลิ่มศิลา และอัจฉราลิ่มศิลา (2537) มันสำปะหลัง : ประวัติการแพร่กระจาย ความสำคัญ และดินฟ้าอากาศที่เหมาะสม ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง สถาบันพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร 210 หน้า.

เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ (2519) มันสำปะหลัง ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 239 หน้า.

เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ (2532) มันสำปะหลัง การปลูก อุตสาหกรรมแปรรูปและการใช้ประโยชน์ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 439 หน้า.

จำลอง เจียมจำนรรจา (2542) พฤกษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ : มันสำปะหลัง ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

ชัชวลี กะลัมพะเหติ (2535) การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ไซยาไนด์จากเหมืองทอง วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ ปีที่ 40 ฉบับที่ 123 หน้า 24-28.

ดนัย ศุภาหาร (2537) มันสำปะหลัง : พฤกษศาสตร์และพันธุศาสตร์มันสำปะหลัง ศูนย์วิจัยพืชไร่ระยอง สถาบันพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพมหานคร หน้า 14-30.

ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (2539) เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม ลงวันที่ 3 มกราคม 2539 ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 113 ตอนที่ 13ง ลงวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2539.

ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 5 (2521) ออกตามความในพระราชบัญญัติน้ำบาดาล พ.ศ. 2520 ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 95 ตอนที่ 66 ลงวันที่ 27 มิถุนายน 2521.

ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 (2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 111 ตอนที่ 16 ง ลงวันที่ 24 กุมภาพันธ์ 2537.

ปิยะวุฒิ พูลสงวน, วิจารณ์ วิชชุกิจ, จำลอง เจียมจำนรรจา, เอ็จ สโรบล, ปิยะ ดวงพัตรา และวัชรี เลิศมงคล (2542) มันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ โครงการเพื่อบรรเทาผลกระทบทางสังคมเนื่องจากวิกฤตการณ์ทางเศรษฐกิจ ฉบับที่ 1 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

พร้อมพรรณ เสรีวิชยสวัสดิ์ (2546) อิทธิพลของระยะเวลาเก็บเกี่ยวหลังการตัดต้นที่มีต่อผลผลิตและคุณภาพของหัวมันสำปะหลัง วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วัลลภา อรุณไพโรจน์ (2540) จุลินทรีย์เพื่อสิ่งแวดล้อม: การกำจัดพิษจากไซยาไนด์ วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 12 ฉบับที่ 3 หน้า 55-59.

วิจารณ์ วิชชุกิจ (2531) มันสำปะหลัง ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 202 หน้า.

วิสิทธิ์ สุขป้อม (2540) การบำบัดไซยาไนด์ในน้ำเสียจากกระบวนการชุบโลหะด้วยสังกะสีโดยวิธีการออกซิเดชันด้วยโปตัสเซียมเปอร์มังกาเนต วิทยานิพนธ์สาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยามหิดล.

สาโรช ค้าเจริญ และ เยาวมาลย์ ค้าเจริญ (2531) การใช้มันสำปะหลังในอาหารสัตว์ สุกร เป็ด และไก่ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 34 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2547) รายงานผลการสำรวจมันสำปะหลัง ปี 2547 สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เอกสารสถิติการเกษตร เลขที่ 414 กันยายน 2547. 62 หน้า.

อรอนงค์ ทรงกิตติ (2539) ไซยาไนด์ วารสารโรงงาน ปีที่ 14 ฉบับที่ 3 หน้า 45-51.

Aalbersberg W.G.L and Limalevu L. (1991) Cyanide content in fresh and processed Fijian cassava (*Manihot esculenta*) cultivars. Trop Sci. 31(3): 249-256.

Adjei M.D. and Ohta Y. (2000) Factors affecting the biodegradation of cyanide by Burkholderia cepacia strain C-3. J Biosci Bioengineer. 89: 274-277.

Albert L.C., Sriroth K. and Huang T.C. (2005) Proximate composition, mineral content, hydrogen cyanide and phytic acid of 5 cassava genotypes. Food Chem. 92: 615-620.

APHA, AWWA, WPCF (1995) Standard method for the examination of water and wastewater, 19th ed. American Public Health Association, Washington DC, pp. 535-561.

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.

Asia-Pacific Centre for Environmental Law (1998) Wastewater, Industrial Discharge Standard. [online] Available: http://sunsite.nus.edu.sg/apcel/dbase/vietnam/regs/virwin.html [8 September 2005]

Balagopalan C., Padmaja G., Nanda S.K. and Moorthy S.N. (1988) Cassava in food, feed and industry. CRC Press, Boca Raton, Florida.

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.

Bergey D.H. and John G.H. (1994) Bergey's manual of determinative. Bacteriology William & Wilkins. Baltimore Md.

Bokanga M. (1994) Distribution of cyanogenic potential in cassava germplasm. Acta Horticulturae. No. 375. International workshop on cassava safety, held in Ibagan, Nigeria, Netherlands. March 1-4. pp. 117-123.

Botz M. and Mudder T. (2002) Treatment of solutions and slurries for cyanide removal. In: Miular A, Halbe D, Barratt D, eds. Mineral processing Plant Design, Practice, and Control. Chapter D-L Littleton, CO: the Society for Mining, Metallurgy, and Exploration, 2, 474 pp.

Bourdoux P., Seghers P., Mafuta M., Vanderpas J., Vanderpas-Rivera M., Delange F. and Esmans A.M. (1982) Cassava product: HCN content and detoxification process. Nutritional Factors Involed in the Goitrogenic Action of Cassava, IDRC-184e. Ottawa Canada. pp. 51-58.

Bradbury J.H., Egan S.V. and Lynch M.J. (1991) Analysis of cyanide in cassava using acid hydrolysis of cyanogenic glucosides. J Sci Food Agr. 50: 277-290.

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.

Charles N.F., Tomkins P.T., Tembe E.A., Salwa B., Nukenineand E.N. and Horan I. (2001) Cyanogenic potential in food crops and its implication in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) production. Pakistan. J Biol Sci. 4(7): 926-930.

Chena S.C. and Liu J.K. (1999) The responses to cyanide of a cyanide-resistant *Klebsiella oxytoca* bacterial strain. FEMS Microbiol Lett. 175: 37–43.

Cheng S.S., Chen Y.N., Chuang H.P. and Chen S.D. (2004) Study of a three-stage fluidized bed process treating acrylic synthetic-fiber manufacturing wastewater containing high-strength nitrogenous compounds. Wat Sci Technol. 49: 113-120.

Cheremisinoff P.N. (1995) Handbook of water and wastewater treatment technology, New Jersey, New Jersey Institute of Technology, pp. 429-441.

Cock J.H. (1985) Cassava New Potential for a Neglected Crop. Westview press, Boulder, London.

Coursey D.G. (1973) Cassava as food: toxicity and technology. Chronic Cassava Toxicity. International Development Research Centre, Ottawa, Canada. pp. 27-36.

Dart M.C., Gentles J.D. and Renton D.G. (1963) Electrolytic oxidation of strong cyanide wastes. J Appl Chem. 17: 55-64.

Dash R.R., Majumder C.B. and Kumar A. (2008) Treatment of metal cyanide bearing wastewater by simultaneous adsorption biodegradation (SAB), J Hazard Mater. 152: 387–396.

David A. Dzombak, Rajat S. Ghosh and George M. Wong-Chong (2006) Cyanide in water and soil: chemistry, risk and management. Taylor and Francis group.

Dhillon J.K. and Shivaraman N. (1999) Biodegradation of cyanide compounds by a Pseudomonas species (S1). Can J Microbiol, 45, 3, ProQuest Medical Library, pp. 201.

Dorr P.K. and Knowles C.J. (1989) Cyanide oxygenase and cyanase activities of *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764. FEMS Microbiol Lett. 60: 289–294.

Dubey S.K. and Holmes D.S. (1995) Biological cyanide destruction mediated by microorganisms. World J Microbiol Biotechnol. 11: 257–265.

Dumestre A., Chone T., Portal J.M., Gerard M. and Berthelin J. (1997) Cyanide Degradation under Alkaline Conditions by a Strain of *Fusarium solani* Isolated from Contamination Soils. Appl Environ Microb, Vol. 63, No. 7, pp. 2729-2734.

Ebbs S. (2004) Biological degradation of cyanide compounds. Curr Opin Biotech. 15: 231-236.

Edijala J.K., Okoh P.N. and Anigoro R. (1999) Chemical assay of cyanide levels of shorttime-fermented cassava products in the Abraka area of Delta State, Nigeria. Food Chem. 64: 107-110.

El-Ghaoui E.A., Jansson R.E.W. and Moreland C. (1982) Application of the trickle tower to problems of pollution control. II. The direct and indirect oxidation of cyanide. J Appl Electrochem. 12: 669-673.

Elibeck W.J. and Mattock G. (1987) Chemical processes in wastewater treatment. West Sussex: Ellis Horwood.

Elomari M., Coroler L., Verhilie S., Izard D. and Leclerc H. (1997) *Pseudomonas monteilii* sp. Nov., Isolated from Clinical Specimens. Int J Syst Bacteriol, Vol. 47, No. 3, pp. 846-852.

Ezzi M.I. and Lynch J.M. (2005) Biodegradation of cyanide by *Trichoderma* spp. and *Fusarium* spp. Enzyme Microb Tech. 36: 849-854.

FAO/WHO (1991) Joint FAO/WHO Food Standards Program.Rome: Codex Alimentarius XII, Supplement 4.

Figueira M.M., Ciminelli V.S.T., De Andrade M.C. and Linardi V.R. (1996) Cyanide degradation by an *Escherichia coli* strain. Can J Microbiol. 42: 519–523.

Finnegan I., Toerien S., Abbot L., Smit F. and Raubenheimer H.G. (1991) Identification and characterization of a *Acinetobacter* sp. capable of assimilation of a range of cyano-metal complexes, free cyanide ions and simple organic nitriles. Appl Microbiol Biotechnol. 36: 142–144.

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.

Gijzen H.J., Bernal Ferrer E. and Bernal Ferrer E.H. (2000) Cyanide toxicity and cyanide degradation in anaerobic wastewater treatment. Wat Res 34: 2447-2454.

Go'mez G., Valdivieso M., Zapata L.E. and Pardo C. (1984) Cyanide elimination, chemical composition and evaluation in breadmaking of oven dried cassava peeled root chips or slices. J Food Technol. 19: 493-498.

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.

Hahn S.K., Raynolds G.N. and Egbunike L. (1988) Cassava as livestock feed in Africa. In Basilisa, P.R. 1997. A comparative study on the digestibility of cassava, mize, sorghum and barley in various segments of the digestive tract of growing pigs. Livest Res Rural Dev. 9(5): 165-172.

Harris R.E. and Knowles C.J. (1983a) Isolation and growth of a *Pseudomonas* species that utilized cyanide as a source of nitrogen. J Gen Microbiol. 129: 1005–1011.

Hartinger L. (1994) Handbook of effluent treatment and recycling for the metal finishing industry. 2nd ed. Herts: Finishing Publications.

Hidayat A., Zuaraida N., Hanaririda I. and Damardjati D.S. (2000) Cyanogenic content of cassava root of 179 cultivars grown in indonesia. J Food Compos Anal. 13: 71-82.

Ho S.P., Wang Y.Y. and Wan C.C. (1990) Electrolytic decomposition of cyanide effluent with an electrochemical reactor packed with stainless steel fiber. Water Res. 24: 1317-1321.

Howeler R.H. (1985) Potassium nutrition of cassava. Potassium in Agriculture. International Symposium in Atlanta. July 7-10, Madison, Wisconsin. 819-841.

Hu H.Y., Fujie K., Nozawa M., Makabe T. and Urano K. (1998) Effects of biodegradable substrates and microbial concentration on the acclimation of microbes to acrylonitrile in aerobic submerged biofilter. Wat Sci Technol 38: 81-89.

Hutagalung R.I. (1972) Nutritive Value of tapioca of tapioca root leaf and root for pig and poultry. Faculty of Agriculture University of Mal, Malasai.

INCO (1993) Cyanide destruction: The Inco SO_2/Air process. Inco Exploration and Technical Service.

Ingvorsen K., Hojer-Pedersen B. and Godtfredsen S.E. (1991) Novel cyanide-hydrolyzing enzyme from *Alcaligenes xylosoxidans* subsp. *denitrificans*. Appl Environ Microbiol. 57: 1783–1789.

Jones D.A. (1998) Why are so many food plants cyanogenic. Phytochemistry. 47(2): 155-162.

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.

Khajarern J., Khajarern S., Bunsiddhi K. and Sakiya P. (1978) Determination of basic chemical parameters of cassava root products of different origin, processing technology and quality, pp.13-32. In KKU-IDRC. Cassava/Nutrition Project 1978 Annual Report. Khon Kean University, Khon Kean.

Knowles C.J. (1976) Microorganisms and cyanide. Bacteriol Rev. 40: 652-680.

Knowles C.J. and Bunch A.W. (1986) Microbial cyanide metabolism. Adv Microb Physiol. 27: 73–111.

Kunz D.A., Wang C.S. and Chen J.L. (1994) Alternate routes of enzymic cyanide metabolism in *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764. Microbiology. 140: 1705–1712.

Logsdon M., Mudder T. and Hagelstein K. (1999) The management of cyanide in gold extraction. A booklet published by the International Council on Metals and Environment, Ottawa, Ontario, Canada, 40 pp.

Metcalf and Eddy (1991) Waste water engineering treatment disposal and reuse, third ed. McGraw-Hill Inc., Singapore, pp. 197-567.

Meyers P.R., Gokool P., Rawlings D.E. and Woods D.R. (1991) An efficient cyanide-degrading *Bacillus pumilus* strain. J Gen Microbiol. 137: 1397–1400.

Ministry of Regional Municipalities and Environment (1993) Regulation for wastewater re-use and discharge, Ministerial Decision 145/93, Muscat.

Ministry of water and irrigation (1995) Reclaimed Domestic Wastewater. [online] Available: http://www.mwi.gov.jo/mwi/JS-893.aspx. [8 September 2005]

Mlingi N.L.V. and Bainbridge Z. (1994) Reduction of cyanogens levels during sun-drying of cassava in Tanzania. Acta Horticulturae. No. 375. International workshop on cassava safety, held in Ibagan, Nigeria, Netherlands. March 1-4. pp. 233-239.

Moore L.M. and Lawrence J.H. (2006) Plant Guide: Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) USDA NRCS National Plant Data Center, Louisiana.

Mudder T.I. and Whitlock J.L. (1984) Biological treatment of cyanidation waste waters. AIME Transactions. Volume 276.

Muhamad D. and Bradbury J.H. (1999) Cyanogen content of cassava roots and flour in Indonesia. Food Chem. 65: 523-525.

Nambisan B. (1994) Evaluation of the effect of various processing techniques on cyanogens content reduction in cassava. Acta Horticulturae. No. 375. International workshop on cassava safety, held in Ibagan, Nigeria, Netherlands. March 1-4. pp. 193-201.

Nwokoro O.S. (2005) Nutrient composition of cassava of fals and cassava sievates collected from locations in Edo State, Nigeria. Pakistan J Biol Sci. 4(4): 262-264.

O' Brien G.M., Taylor A.J. and Poulter N.H. (1991) Improved enzymic assay for cyanogenic in fresh and processed cassava. J Sci Food Agr. 56: 277-289.

Oke O.L. (1966) Chemical studies on some Nigerian foodstuff. Nature. 212: 1055-1056.

Oliveira M.A., Reis E.M. and Nozaki J. (2001) Biological Treatment of Wastewater from Cassava Meal Industry, Environ Res, Section A 85, pp. 177-183.

Palmer S.A.K., Breton M.A., Nunno T.J., Sullivan D.M. and Suprenant N.F. (1988) Metal/Cyanide Containing Wastes: Treatment Technologies. Noyes Data, Park Ridge, NJ.

Parga J.R., Shukla S.S. and Carrillo-Pedroza F.R. (2003) Destruction of cyanidewaste solutions using chlorine dioxide, ozone and titania sol, Waste Manage. 23: 183–191.

Patterson J.W. (1985) Industrial Wastewater Treatment Technology. 2nd ed, Butterworths, London, UK, pp. 115-134.

Petrozzi S. and Dunn I.J. (1994) Biological cyanide degradation in aerobic fluidized bed reactors: treatment of almond seed wastewater. Bioprocess Eng. 11: 29-38.

Porter N.J., Drozd W. and Linton J.D. (1983) The effects of cyanide on the growth and respiration of *Enterobacter aerogens* in continuous culture. J Gen Microbiol. 129: 7–16.

Raybuck S.A. (1992) Microbes and microbial enzymes for cyanide degradation. Biodegradation. 3: 3–18.

Rollinson G., Jones R., Meadows M.P., Harris R.E. and Knowles C.J. (1987) The growth of cyanide-utilizing strain of *Pseudomonas fluorescens* in liquid culture on nickel cyanide as a source of nitrogen. FEMS Microbiol Lett. 40: 199-205.

Rouse J.V. and Gochnour P. (1992) Remediation of soil and water contaminated by cyanide using peroxide and biodegradation. Proceedings Randol Gold Forum 92. Vancouver, British Columbia, Canada.

Rowe D.R. and Abdel-Magid I.M. (1995) Handbook of wastewater reclamation and reuse. Lewis Publishers is an imprint of CRC Press.

Santisopasri V., Kurotjanawong K., Chotineeranat S., Piyachomkwan K., Sriroth K. and Oates C.G. (2001) Impact of water stress on yield and quality of cassava starch. Ind Crop Prod. 13: 115-129.

Selm R.P. (1959) Ozone oxidation of aqueous cyanide waste solution in stirred batch reactors and packed tower. In Ozone Chemistry and Technology. Washington: American Chemistry Society.

Selmar D. (1994) Translocation of cyanogenic glucoside in cassava. Acta Horticulturae. No. 375. International workshop on cassava safety, held in Ibagan, Nigeria, Netherlands. March 1-4. pp. 61-68.

Skowronski B. and Strobel G.A. (1969) Cyanide resistance and cyanide utilization by a strain of *Bacillus pumilus*. Can J Microbiol 15: 93-8.

Sirianuntapiboon S., Chairattanawan K. and Rarunroeng M. (2007) Biological removal of cyanide compounds from electroplating wastewater (EPWW) by sequencing batch reactor (SBR) system. J Hazard Mater, Model HAZMAT-7444, pp. 9.

Sirianuntapiboon S. and Chuamkaew C. (2007) Packed cage rotating biological contactor system for treatment of cyanide wastewater. Bioresource Technol. 98: 266-272.

Tyler R.G., Maske W., Westin M.J. and Matthews W. (1951) Ozonation of cyanide wastes. Sewage Ind. Wastes 23 : 1150-1153.

USEPA (2000) Capsule Report-Managing Cyanide in Metal. EPA-625/R-99/009. National Risk Management Research Laboratory, Office of Research and Development. USEPA. Cincinnati. Ohio.

USEPA (2004) Guidelines for Water Reuse, U.S. Environmental Protection Agency, Municipal Support Division, Office of Wastewater Management, Office of Water, Washington, DC.

Vigneswaran S. and Sundaravadivel M. (2004) RECYCLE AND REUSE OF DOMESTIC WASTEWATER, in Wastewater Recycle, Reuse and Reclamation, [Ed. Saravanamuthu (Vigi) Vigneswaran], in *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS),* Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford ,UK.

Watanabe A., Yano K., Ikebukuro K. and Karube I. (1998) Cyanide hydrolysis in a cyanide-degrading bacterium, *Pseudomonas stutzeri* AK61, by cyanidase. Microbiology. 144: 1677–1682.

White D.M. and Schnabel W. (1998) Treatment of Cyanide Waste in a Sequencing Batch Biofilm Reactor, Water Res, Vol. 32, No. 1, pp. 254-257.

White D.M., Pilon T.A. and Woolard C. (2000) Biological Treatment of Cyanide Containing Wastewater, Water Res, Vol. 34, No. 7, pp. 2105-2109.

White J.M., Jones D.D., Huang D. and Gauthier J.J. (1988) Conversion of cyanide to formate and ammonia by *pseudomonas* from industrial wastewater. J Ind Microbiol. 3: 263–272.

Whitlock J.L. (1990) Biological detoxification of precious metal processing wastewaters. Geomicrobiol J. 8: 241-249.

Wikipedia (27 July 2009) Cassava [online] Available: http://en.wikipedia.org/wiki/Cassava [30 August 2009]

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.

Yanase H., Sakamoto A., Okamoto K., Kita K. and Sato Y. (2000) Degradation of the metal–cyano complex tetracyanonickelate (II) by *Fusarium oxysporium* N-10. Appl Microbiol Biotechnol 53: 328–334.

Yeoh H.H. and Sun F. (2001) Assessing Cyanogen Content in Cassava-based Food Using the Enzyme-dipstick Method. Food Chem Toxicol. 39: 649-653.

Yong-Shik Jeong and Jong Shik Chung (2006) Simultaneous removal of COD, thiocyanate, cyanide and nitrogen from coal process wastewater using fluidized biofilm process. Process Biochem. 41: 1141-1147.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ

1. การวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนด้วยวิธีการกลั่นและการไตเตรท (APHA, AWWA, WPCF, 1995)

สารเคมี

1. สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ (Borate buffer solution) : นำโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ จำนวน 88 มิลลิลิตร เติมลงในสารละลายโซเดียมเตตราบอเรต ($Na_2B_4O_7$) 500 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนียจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร (สารละลายโซเดียมเตตราบอเรตเตรียมได้โดยนำ $Na_2B_4O_7$ 5.0 กรัม หรือ $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ 9.5 กรัม เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร)

2. สารละลายที่ใช้ปรับพีเอช

2.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมล/ลิตร

2.2 กรดซัลฟิวริก 0.5 โมล/ลิตร

3. สายละลายกรดบอริก (Boric acid solution, H_3BO_3) : ละลายกรดบอริก 20 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

4. มิกซ์อินดิเคเตอร์ : ละลายเมทิลเรดอินดิเคเตอร์ (Methy red indicator) 200 มิลลิกรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 95) 100 มิลลิลิตร ละลายเมทิลีนบูล 100 มิลลิกรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 95) 50 มิลลิลิตร แล้วผสมสารละลายทั้ง 2 ชนิดเข้าด้วยกัน สารละลายนี้ควรเตรียมทุกๆเดือน

ข้อสังเกต : สารละลายอินดิเคติงบอริกแอซิดจะมีสีม่วงถ้าไม่มีแอมโมเนียละลายอยู่ ถ้ามีแอมโมเนียละลายอยู่จะได้สีเขียว แสดงว่าสารละลายนี้ใช้ไม่ได้ ให้เตรียมใหม่ และควรเตรียมทุกๆ เดือน

5. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.01 โมล/ลิตร

6. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 6 โมล/ลิตร : ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 240 กรัมในน้ำกลั่นเพียงเล็กน้อย แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. สำหรับตัวอย่างน้ำที่เป็นกรดหรือด่าง ต้องปรับพีเอชให้เป็นกลางก่อนด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมล/ลิตร หรือกรดซัลฟิวริก 0.5 โมล/ลิตร

2. ตวงตัวอย่างน้ำที่ได้ปรับพีเอชเป็นกลางแล้ว 100 มิลลิลิตร ลงในขวดเจลดาห์ล และใส่เม็ดแก้วลงไป 3-4 เม็ด

3. เติมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ 25 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ แล้วปรับพีเอชให้ได้ 9.5 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 6 โมลาร์

4. นำไปกลั่น โดยต่อกับคอนเนคติงบัลบ์ ซึ่งจะต่อกับเครื่องควบแน่นอีกทีหนึ่ง โดยให้ปลายของเซฟตีบัลบ์จุ่มอยู่ใต้สารละลายจับแอมโมเนีย

5. เก็บส่วนที่กลั่นออกมาให้ได้ประมาณ 200 มิลลิลิตร ไว้ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายกรดบอริกอยู่ 50 มิลลิลิตร นำส่วนที่กลั่นได้นี้ไปหาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนด้วยวิธีการไทเทรต

6. ทำแบลงค์โดยใส่สารเคมีทุกอย่างเหมือนกับตัวอย่างน้ำ แล้วนำไปกลั่น

7. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.01 โมล/ลิตร เมื่อถึงจุดยุติจะได้สีม่วงอ่อน

การคำนวณ

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

A = มิลลิลิตรของกรดซัลฟิวริกมาตรฐานที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่างน้ำ

B = มิลลิลิตรของกรดซัลฟิวริกมาตรฐานที่ใช้ไทเทรตกับแบลงค์

M = โมล/ลิตร ของกรดซัลฟิวริกมาตรฐานที่ใช้

2. การวิเคราะห์ไนเตรท-ไนโตรเจนด้วยวิธีบรูซีน (APHA, AWWA, WPCF, 1995)

สารเคมี

1. สารละลายสต๊อกไนเตรท : ละลายแอนไฮดรัสโพแตสเซียมไนเตรท (KNO_3) 721.8 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร สารละลายนี้ 1 มิลลิลิตร จะมีไนเตรท-ไนโตรเจน 0.1 มิลลิกรัม

2. สารละลายมาตรฐานไนเตรท-ไนโตรเจน : นำสต๊อกไนเตรท 10 มิลลิลิตร มาเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร สารละลายนี้ 1 มิลลิลิตร จะมีไนเตรท-ไนโตรเจนอยู่ 1 ไมโครกรัม

3. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ : ละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ ($NaAsO_2$) 5 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

ข้อควรระวัง อย่าดูดกลืนสารนี้เข้าปาก เพราะเป็นพิษ

4. สารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิก : ละลายบรูซีนซัลเฟต 1 กรัม และกรดซัลฟานิลิก 0.1 กรัม ในน้ำร้อนประมาณ 70 มิลลิลิตร แล้วใส่กรดเกลือเข้มข้น 3 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็น เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะคงตัวอยู่ได้นานหลายเดือน ถ้ามีสีชมพูเกิดขึ้นก็จะไม่กระทบกระเทือนต่อปฏิกิริยา

ข้อควรระวัง อย่าดูดกลืนสารนี้เข้าปาก เพราะเป็นพิษ

5. สารละลายกรดซัลฟิวริก : ค่อยๆ เทกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 500 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 125 มิลลิลิตร ทีละน้อยแล้วทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปิดจุกให้แน่นเพื่อกันความชื้นจากอากาศภายนอก

6. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ : ละลายโซเดียมคลอไรด์ 300 กรัมในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่างก่อนทำการทดลอง

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

2. การทำให้เกิดสี

2.1 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างน้ำ 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้ว และนำสารละลายมาตรฐานไนเทรตที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ใส่ลงในหลอดหลายๆ หลอด เพื่อนำไปเตรียมกราฟมาตรฐาน แล้วทำให้เย็นโดยแช่ในอ่างน้ำแข็ง

2.2 เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน (ห้ามใช้เครื่องกวนเพราะจะทำให้ค่าที่ได้ผิดไป)

2.3 เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในอ่างน้ำแข็ง ถ้ามีความขุ่นหรือสีเกิดขึ้นในตอนนี้ให้นำไปอ่านค่าทรานสมิตแตนท์ จะเป็นค่าแบลงค์ของตัวอย่าง (Sample blank) และค่าแบลงค์ของสารละลาย (Reagent blank) แล้วนำไปวางในอ่างน้ำแข็งอีกครั้ง

2.4 เติมสารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิก 0.25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2.5 นำไปวางในเครื่องอังไอน้ำที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาทีแล้วให้นำมาแช่ในอ่างน้ำแข็งที่เย็นจนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง

2.6 นำมาวัดค่าทรานสมิตแตนท์ ของสารละลายมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้นต่างๆ และตัวอย่างน้ำ โดยนำค่าที่อ่านได้มาหักค่าที่ได้จากแบลงค์ของสารละลายกับแบลงค์ของตัวอย่างเสียก่อน แล้วจึงอ่านความเข้มข้นของไนเตรท-ไนโตรเจนจากกราฟมาตรฐานของสารละลายไนเตรท

3. การเตรียมกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรทในช่วง 0-10.0 มิลลิกรัม/ลิตร แล้วเติมสารเคมีดังข้อ 2 เพื่อให้เกิดสี แล้วนำไปวัดค่าทรานสมิตแตนท์ของสีจากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

การคำนวณ

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

มิลลิกรัม/ลิตร ไนเตรท = มิลลิกรัม/ลิตร ไนเตรท-ไนโตรเจน × 4.43

3. การวิเคราะห์ไนไตรท์-ไนโตรเจนด้วยวิธีการสร้างสี (APHA, AWWA, WPCF, 1995)

สารเคมี

1. สารละลายซัลฟานิลาไมด์ : ละลายซัลฟานิลาไมด์ 2.5 กรัม ในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ค่อยๆ ใส่กรดเกลือ 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร

2. สารละลายเอ็นอีดี : ละลายแนพทิลเอทธิลีนไดอามีนไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-Naphthyl)-Ethylenediamine Dihydrochloride) 0.25 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่เย็น และควรเตรียมใหม่ทุกเดือนหรือเมื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

3. สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ลิตร : ละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง 0.496 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร

4. สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ลิตร : เตรียมจากสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร 2.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร

5. สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-0.2 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ลิตร : เตรียมจากสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ลิตร ให้มีความเข้มข้น 0.002, 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ลิตร ให้มีปริมาตรแต่ละความเข้มข้น 50 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมตัวอย่างน้ำ ถ้าตัวอย่างน้ำมีสารแขวนลอย ให้กรองด้วยกระดาษกรอง Membrane filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

2. การทำให้เกิดสี ปิเปตตัวอย่างที่ใสหรือสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01-1 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ลิตร มาตัวอย่างละ 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลายเอ็นอีดี 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาทีถึง 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 543 นาโนเมตร

3. การทำกราฟมาตรฐาน นำค่าที่อ่านได้ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-0.2 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ลิตร มาทำกราฟมาตรฐาน

การคำนวณ

คำนวณตามสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน (Standard curve)

4. การวิเคราะห์ไซยาไนด์ด้วยวิธีไตเตรท (APHA, AWWA, WPCF, 1995)

สารเคมี

1. สารละลายอินดิเคเตอร์ : ละลาย p-dimethylaminobenzalrhodanine 20 มิลลิกรัม ในอะซีโตน 100 มิลลิลิตร

2. สารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรท : ละลายซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) 3.27 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร สารละลายนี้ต้องเทียบมาตรฐานกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์โดยวิธี argentometric โดยใช้โพแตสเซียมโครเมต (K_2CrO_4) เป็นอินดิเคเตอร์ สารละลายนี้ 1.00 มิลลิลิตร = 1.00 มิลลิกรัม CN^-

3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ : ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.6 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมตัวอย่างน้ำมา 5 มิลลิลิตร เจือจางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้เป็น 50 มิลลิลิตร และเติมสารละลายอินดิเคเตอร์ 0.5 มิลลิลิตร จะได้สีเหลือง เขย่าให้เข้ากัน

2. ไทเทรตตัวอย่างน้ำด้วยสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท เมื่อถึงจุดยุติจะได้สีชมพูอมส้ม

3. ทำแบลงค์โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 มิลลิลิตร และใส่สารเคมีทุกอย่างเหมือนกับตัวอย่างน้ำ แล้วนำไปไทเทรต

การคำนวณ

$$\text{มิลลิกรัม/ลิตร ของไซยาไนด์} = \frac{(A-B) \times 1000}{\text{ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (มล.)}} \times \frac{250}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ทั้งหมด (มล.)}}$$

A = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรทที่ไทเทรตกับตัวอย่าง

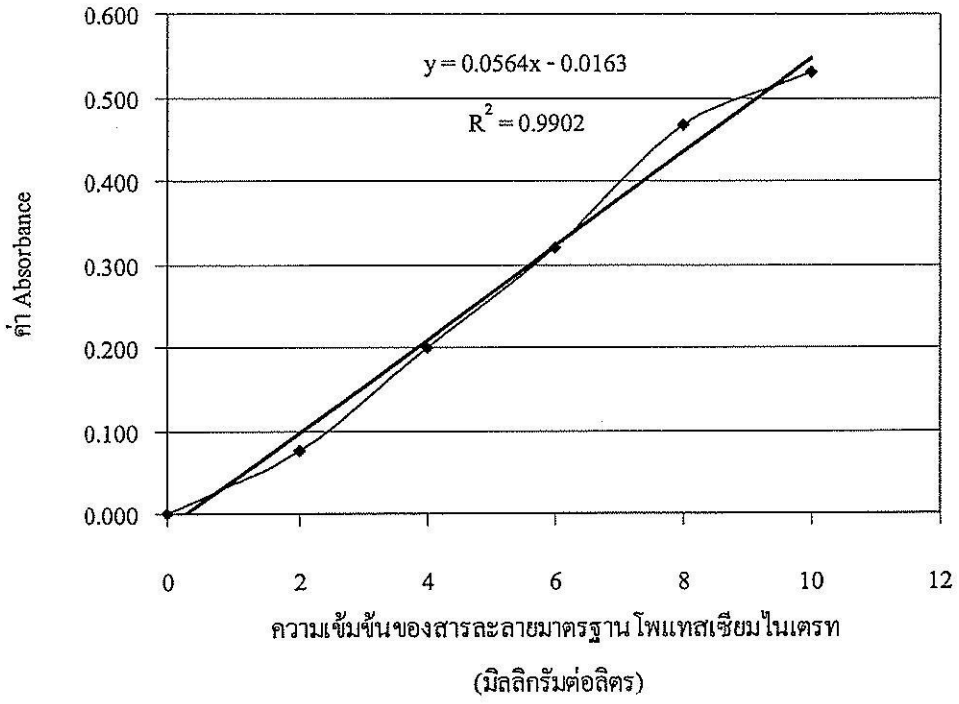
B = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรทที่ไทเทรตกับแบลงค์

ภาคผนวก ข

กราฟสารละลายมาตรฐาน

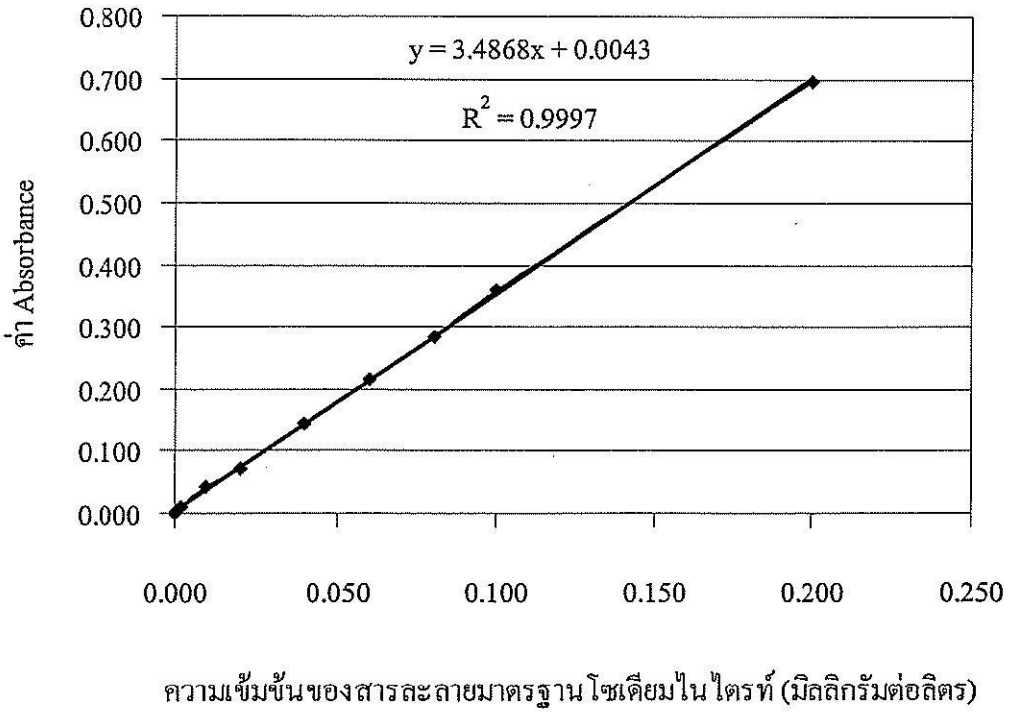
1. กราฟสารละลายมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 0-10 มิลลิกรัมต่อลิตร

Nitrate (mg/L)	Abs.
0	0.000
2	0.075
4	0.201
6	0.320
8	0.468
10	0.530



2. กราฟสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

Nitrite (mg/L)	Abs
0.000	0.000
0.002	0.009
0.010	0.041
0.020	0.073
0.040	0.144
0.060	0.215
0.080	0.285
0.100	0.360
0.200	0.697



ภาคผนวก ค

รายละเอียดของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

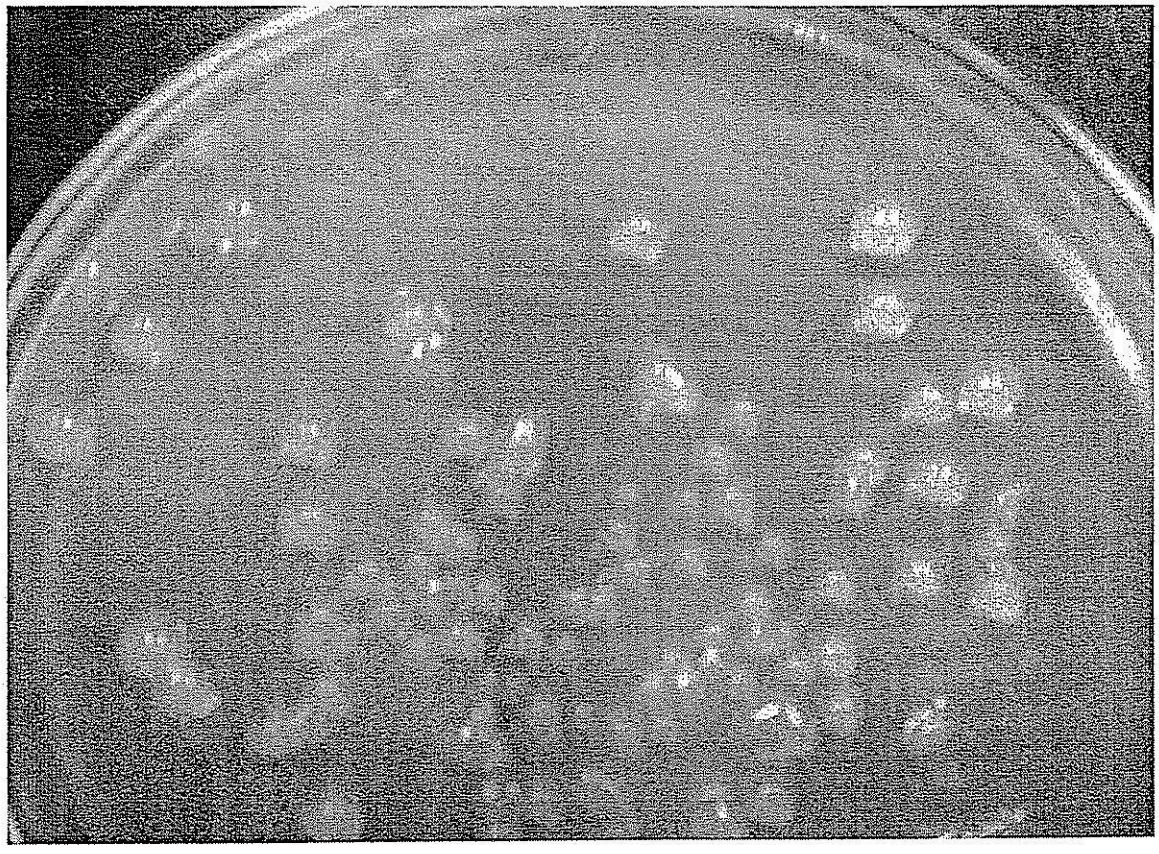
Class : Alpha Proteobacteria

Order : Rhizobiales

Family : Rhizobiaceae

Genus : *Agrobacterium*

Species : *tumefaciens*



ภาพที่ ผ-1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1

รายละเอียดของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* SUTS 1 เมื่อทำการบ่งชี้ชนิดของจุลินทรีย์ด้วยการหาลำดับเบสของดีเอนเอ (DNA sequencing)

gb|DQ790018.1| Agrobacterium tumefaciens isolate wsn1-4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Length=1371

Score = 1181 bits (639), Expect = 0.0
Identities = 639/639 (100%), Gaps = 0/639 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query  1    GGCAGACGGGTGAGTAACGCGTGGGAACATACCCTTTCCTGCGGAATAGCTCCGGGAAAC  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  39   GGCAGACGGGTGAGTAACGCGTGGGAACATACCCTTTCCTGCGGAATAGCTCCGGGAAAC  98

Query  61   TGGAATTAATACCGCATACGCCCTACGGGGGAAAGATTTATCGGGGAAGGATTGGCCCGC  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  99   TGGAATTAATACCGCATACGCCCTACGGGGGAAAGATTTATCGGGGAAGGATTGGCCCGC  158

Query  121  GTTGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCATAGCTGGTCTG  180
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  159  GTTGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCATAGCTGGTCTG  218

Query  181  AGAGGATGATCAGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAG  240
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  219  AGAGGATGATCAGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAG  278

Query  241  TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATGAAGG  300
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  279  TGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATGAAGG  338

Query  301  CCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCACCGATGAAGATAATGACGGTAGTCGGAGAAGAAGCC  360
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  339  CCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCACCGATGAAGATAATGACGGTAGTCGGAGAAGAAGCC  398

Query  361  CCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTCGGAATT  420
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  399  CCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTCGGAATT  458

Query  421  ACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGATATTTAAGTCAGGGGTGAAATCCCGCAGCTCAA  480
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  459  ACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGATATTTAAGTCAGGGGTGAAATCCCGCAGCTCAA  518

Query  481  CTGCGGAACTGCCTTTGATACTGGGTATCTTGAGTATGGAAGAGGTAAGTGGAATTCCGA  540
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  519  CTGCGGAACTGCCTTTGATACTGGGTATCTTGAGTATGGAAGAGGTAAGTGGAATTCCGA  578

Query  541  GTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGG  600
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  579  GTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGG  638

Query  601  TCCATTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAA  639
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  639  TCCATTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAA  677
```

รายละเอียดของเชื้อ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

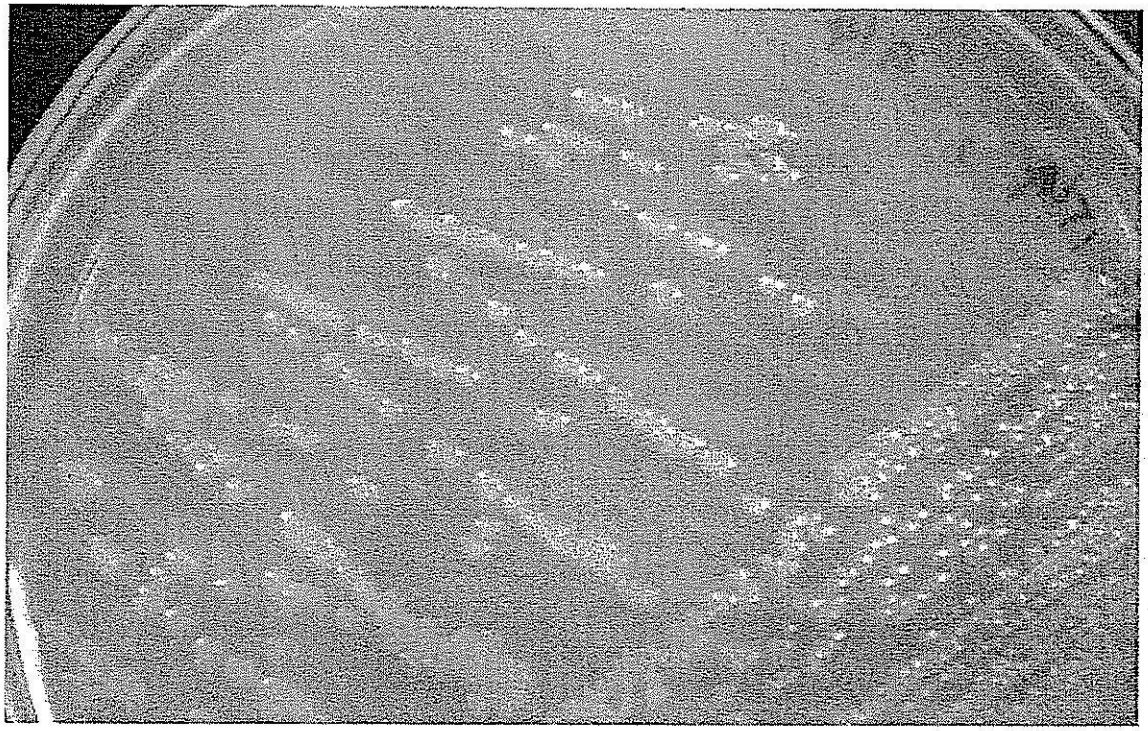
Class : Gamma Proteobacteria

Order : Pseudomonadales

Family : Pseudomonadaceae

Genus : *Pseudomonas*

Species : *monteilii*



ภาพที่ ผ-2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2

รายละเอียดของ เชื้อ *Pseudomonas monteilii* SUTS 2 เมื่อทำการบ่งชี้ชนิดของจุลินทรีย์ด้วยการหาลำดับเบสของดีเอนเอ (DNA sequencing)

gb|EF600886.1| Pseudomonas monteilii strain BFPB88 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Length=748

Score = 1168 bits (632), Expect = 0.0
Identities = 632/632 (100%), Gaps = 0/632 (0%)
Strand=Plus/Plus

```
Query  1    CTTGCTCCTTGATTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGG  60
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  40   CTTGCTCCTTGATTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGG  99

Query  61   GGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGA  120
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  100  GGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGA  159

Query  121  CCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATG  180
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  160  CCTTCGGGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATG  219

Query  181  GCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGA  240
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  220  GCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGA  279

Query  241  GACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGC  300
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  280  GACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGC  339

Query  301  CTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTG  360
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  340  CTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTG  399

Query  361  GGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCG  420
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  400  GGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCG  459

Query  421  GCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACT  480
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  460  GCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACT  519

Query  481  GGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTCGTTAAGTTGGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCT  540
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  520  GGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTCGTTAAGTTGGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCT  579

Query  541  GGGAACTGCATCCAAAACTGGCGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAATTTCCTGTG  600
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  580  GGGAACTGCATCCAAAACTGGCGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAATTTCCTGTG  639

Query  601  TAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAAC  632
            ||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  640  TAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAAC  671
```

ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ (ภาษาไทย) นางสาว สิราภรณ์ โพธิวิชยานนท์ **(ภาษาอังกฤษ)** Miss Siraporn Potivichayanon

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำสาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม

หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม สำนักวิชาแพทยศาสตร์

111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

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

ประวัติการศึกษา

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

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

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

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Odor treatment, Biodegradation and Bioremediation, Ecological sanitation

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ :

งานวิจัย :

เรื่องที่ 1 Removal of hydrogen sulfide by fixed-film bioscrubber. (หัวหน้าโครงการวิจัย)
แหล่งทุน Asian Development Bank (ADB)

เรื่องที่ 2 Optimization of bioscrubber system for hydrogen sulfide removal. (ผู้ช่วยวิจัย)
แหล่งทุน Asian Development Bank (ADB)

เรื่องที่ 3 การประเมินห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทดสอบตามแนวทางปฏิบัติที่ดีที่สุดของห้องปฏิบัติการ: กรณีการชะแคดเมียมและตะกั่วจากภาชนะเซรามิค ห้องปฏิบัติการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี: ภายใต้โครงการการพัฒนากรอบนโยบายการเพิ่มศักยภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์เพื่อการเสริมสร้างความเข้มแข็งของอุตสาหกรรมของประเทศไทยในการรับรองผลกระทบจากการประกาศใช้ระเบียบว่าด้วยสารเคมี (REACH) ของสหภาพยุโรป (ผู้ร่วมวิจัย)

แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

เรื่องที่ 4 Water management and sanitation in a community (หัวหน้าโครงการวิจัย)

แหล่งทุน ภายใต้ความร่วมมือ การแนะนำและปรึกษาของ Swedish International Development Cooperation Agency (Sida) ในโปรแกรม International Training Programme (ITP) in Ecological Alternatives in Sanitation โดย Stockholm Environment Institute (SEI)

เรื่องที่ 5 การประเมินความเสี่ยงของการนำน้ำเสียจากชุมชนขนาดเล็กที่ผ่านการบำบัดแล้วมาใช้ในการเพาะปลูก

แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

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.