

การคัดเลือกคุณนารีฟอกสีน้ำจากสภาที่ได้จากโรงงานสุรา

นางสาวปัทมาวดี	พิทักษ์ธรรม
นางสาวรัตติยา	เสือประเสริฐ
นางสาววิมลวรรณ	อาจงค์

ร.พ.
๒/๐๒๓ ก

เลขหมู่.....๑๕๗
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

๖๑๒๕๔๑๒๐๕

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา ๒๕๓๗

**Screening of Microorganism for Decolorized Molasses Wastewater From
Distilled Alcohol Factory**

Miss. Panyarat	Pitagtam
Miss. Rattiya	Suaprasert
Miss. Veerawan	Arch-ongk

**A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement
for the Degree of Bachelor of Science**

Department of Biotechnology

Faculty of Science

King Mongkut 's Institute of Technology Ladkrabang

1994

หัวข้อโครงการพิเศษ การคัดเลือกจุลินทรีย์ฟอกสีน้ำจากน้ำที่ได้จากโรงงาน
สุรา
โดย นางสาวปัญญารัตน์ พิทักษ์ธรรม
 นางสาวรัตติยา เสือประเสริฐ
 นางสาววิรวรรณ อางองค์
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ อรไท สุขเจริญ



ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงการพิเศษ

ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

(ดร. อุ๋นเรื้อน ศิริวานิชกุล)

คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ

ประธานกรรมการ

(รศ.ดร. คุณฉวี ธนะบริพัฒน์)

กรรมการ

(ดร. อุ๋นเรื้อน ศิริวานิชกุล)

กรรมการ

(อ. อรไท สุขเจริญ)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



หัวข้อโครงการพิเศษ	การคัดเลือกจุลินทรีย์ฟอกสีน้ำจากโรงงานสุรา
โดย	นางสาวปิยฉวีรัตน์ พิทักษ์ธรรม นางสาวรัตติยา เสือประเสริฐ นางสาววีรวรรณ อาจองค์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ อรไท สุขเจริญ
ปีการศึกษา	2537

บทคัดย่อ

น้ำกากส่า เป็นน้ำทิ้งจากโรงงานกลั่นแอลกอฮอล์ที่ใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ น้ำทิ้งนี้มีสีเข้มมากเนื่องจากสีของเมลานอยดิน จึงไม่เป็นที่ยอมรับตามเกณฑ์มาตรฐาน น้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรม เมื่อบำบัดในด้านอื่นๆแล้วจึงต้องผ่านการฟอกจางสี ซึ่งนิยมใช้วิธีตกตะกอนด้วยสารเคมีแต่เป็นวิธีที่เสียค่าใช้จ่ายสูงมาก การทดลองนี้จึงมุ่งศึกษาและทำการแยกตรวจสอบหาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการฟอกจางสีของน้ำกากส่าจากดินในประเทศไทย ซึ่งเชื้อที่แยกได้สามารถเจริญเติบโตและฟอกจางสีของน้ำกากส่าได้ดีที่สุด ทั้งนี้โดยการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากกลูโคส ปรับสภาพความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 6.5 ซึ่งสามารถฟอกจางสีของน้ำกากส่าได้ร้อยละ 10.25 ในวันแรกของการทดลองและยังสามารถลดระดับของค่าบีโอดีและซีโอดีได้ร้อยละ 41.32 และ 37.74 ตามลำดับในเวลา 3 วัน

จากการศึกษาลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้พบว่าเป็น เชื้อรา ซึ่งมีสีเทาแกมเขียวเมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ โปเตโต เด็กซ์โตรส อาการ์ (potato dextrose agar) สปอร์มีลักษณะค่อนข้างรีและเส้นใยมีผนังกัน ทั้งนี้กลไกในการฟอกจางสีของน้ำกากส่าคือ การดูดซับเมลานอยดินของเส้นใย

Special Project Title	Screening of microorganism for decolorized molasses wastewater from distilled alcohol factory
Name	Miss Panyarat Pitagtam Miss Rattiya Suaprasert Miss Veerawan Arch-ongk
Special Project Advisor	Miss Orathai Sukcharoen
Academic Year	1994

Abstract

Molasses wastewater from alcohol factory using molasses as raw material showed to have very dark color because of Melanoidin. Thus it could not be accepted for the standard of the Ministry Industry. When the wastewater was treated, it had to be decolorized by the Chemical Flocculation method but this method was found to be expensive.

This experiment was done by using the isolates of microorganisms screening from soil in Thailand and examined for their abilities in decolorizing molasses pigments, especially. The isolated strain did not require glucose for growth at pH 6.5 and gave the highest decolorization activity at 10.25 percent in the first day of experiment. BOD and COD were reduced 41.32 and 37.74 percent consequently within 3 days.

The isolated strain had the characteristic of forming septate hypha with spore in PDA. The mechanism of decolorization showed to be the absorption of melanoidin into the mycelium of this fungus.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก ดร.อุ้นเรือน ศิริวาณิชกุล รศ. ดร. คุณฉวี ธาระบริวัฒน์ อาจารย์อรรถโท สุขเจริญ และอาจารย์ทุกท่านที่ได้สละเวลาอันมีค่าให้คำปรึกษาและชี้แนวทางที่เป็นประโยชน์ รวมทั้งให้ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ต่อโครงการพิเศษนี้ ซึ่งผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

ท้ายสุดนี้ผู้เขียนขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการ และเพื่อนนักศึกษา รวมทั้งท่านผู้ที่มีอุปการะคุณที่มีอาจกล่าวนามได้ครบถ้วน ณ ที่นี้ที่ได้ช่วยเหลือเป็นกำลังใจ กำลังความคิด ตลอดจนการให้ความร่วมมือในเรื่องต่างๆ เป็นอย่างดี

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2538

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักเกณฑ์ที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงาน	19
3.1 สารเคมี	19
3.2 อุปกรณ์	19
3.3 วิธีทดลอง	20
3.3.1 การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถฟอกจางสีของน้ำกากส่าได้ และศึกษาถึงประสิทธิภาพในการฟอกจางสี	20
3.3.2 ศึกษาประสิทธิภาพการฟอกจางสีของน้ำกากส่าในอาหาร เลี้ยงเชื้อที่ผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ	20
3.3.3 ศึกษาผลของปริมาณกลูโคสที่มีต่อประสิทธิภาพการฟอก จางสีของน้ำกากส่า	21
3.3.4 ศึกษาผลของการฟอกจางสีของน้ำกากส่าที่มีต่อค่าบีโอดี และซีโอดี	21
3.3.5 ศึกษากลไกในการฟอกจางสีของน้ำกากส่า	21
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	25
4.1 ผลการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพการฟอกจางสีของ น้ำกากส่า	25
4.2 ผลการศึกษาประสิทธิภาพการฟอกจางสีของน้ำกากส่าใน อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ	30

สารบัญ(ต่อ)

เรื่อง	หน้า
4.3 ผลการศึกษาผลของปริมาณกลุโคสที่มีต่อประสิทธิภาพการ ฟอกขาวสีของน้ำกาต้มน้ำ	32
4.4 ผลการศึกษาผลของการฟอกขาวสีของน้ำกาต้มน้ำที่มีต่อค่า บีไอดีและซีไอดี	36
4.5 ผลการศึกษากลไกในการฟอกขาวสีของน้ำกาต้มน้ำ	36
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	40
ภาคผนวก	
เอกสารอ้างอิง	

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1 ตารางแสดงคุณลักษณะโดยเฉลี่ยของน้ำกากสำจาก โรงงานสุราในประเทศไทย	3
ตารางที่ 2 ตารางแสดงมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรม	7
ตารางที่ 3 ตารางแสดงองค์ประกอบของน้ำกากสำแห้ง	10
ตารางที่ 4 ตารางแสดงความเข้มข้นน้ำกากสำที่ลดลงหลังการเลี้ยงเชื้อยีสต์ ที่คัดเลือกได้	14
ตารางที่ 5 ตารางแสดงอัตราการฟอกจางสีของน้ำกากสำโดยเชื้อ จุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้	25
ตารางที่ 6 ตารางแสดงอัตราการฟอกจางสีของน้ำกากสำโดยเชื้อ เห็ดชนิดต่างๆ	26
ตารางที่ 7 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการฟอกจางสีของ น้ำกากสำและน้ำนักเซลล์แห้งของเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 23	27
ตารางที่ 8 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการฟอกจางสีของ น้ำกากสำและน้ำนักเซลล์แห้งของเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32	27
ตารางที่ 9 ตารางแสดงอัตราการฟอกจางสีของน้ำกากสำโดยเชื้อ จุลินทรีย์รหัส A 32 ในอาหารที่มีน้ำกากสำเป็น องค์ประกอบซึ่งผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ	30
ตารางที่ 10 ตารางแสดงอัตราการฟอกจางสีของน้ำกากสำโดยเชื้อ จุลินทรีย์รหัส A 32 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมกลูโคส และเติมกลูโคสในปริมาณร้อยละ 1,2 และ 3	32
ตารางที่ 11 ตารางแสดงอัตราการฟอกจางสีของน้ำกากสำโดยเชื้อ จุลินทรีย์รหัส A 32 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และไม่เติมกลูโคส	34
ตารางที่ 12 ตารางแสดงค่าบีโอดีและซีโอดีก่อนและหลังการฟอก จางสีของน้ำกากสำโดยเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32	36

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 13 ตารางแสดงการเปรียบเทียบอัตราการฟอกยางสีของ น้ำกากสำโดยส่วนไซและส่วนตะกอนที่ได้จากการ บดเซลล์จุลินทรีย์ A 32	36

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 1	5
รูปที่ 2	6
รูปที่ 3	22
รูปที่ 4	22
รูปที่ 5	23
รูปที่ 6	23
รูปที่ 7	24
รูปที่ 8	28
รูปที่ 9	29
รูปที่ 10	31
รูปที่ 11	33
รูปที่ 12	35
รูปที่ 13	38

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
รูปที่ 14	แสดงลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32 ก่อนการฟอกจาง สีของน้ำกากส่า	39
รูปที่ 15	แสดงลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32 หลังการฟอกจาง สีของน้ำกากส่า	39

บทที่ 1

บทนำ

เป็นที่ตระหนักดีว่าปัญหาสิ่งแวดล้อมกำลังทวีความรุนแรงมากขึ้นเรื่อยๆ โดยเฉพาะในเขตชุมชน ความสกปรกของแม่น้ำลำคลองเป็นปัญหาที่ต้องแก้ไขอย่างเร่งด่วน โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำทิ้งจากชุมชนและโรงงานอุตสาหกรรมที่ปล่อยลงสู่น้ำลำคลอง โดยไม่ได้รับการบำบัดอย่างถูกต้อง โครงการพิเศษนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลายเมลานอยดินในน้ำกากสำได้ เนื่องจากในอุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์ที่ใช้ในกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบจะได้น้ำกากสำเป็นของเหลวเหลือทิ้ง ซึ่งมีค่าบีโอดีและซีโอดีสูงมากและมีสีเข้มเนื่องจากสีของเมลานอยดินจนไม่สามารถยอมรับได้ ซึ่งกระบวนการบำบัดน้ำทิ้งต่างๆ ในปัจจุบันสามารถลดค่าบีโอดีและซีโอดีได้แต่ยังไม่สามารถลดความเข้มของสีลงจนเป็นที่ยอมรับได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการฟอกจางสีของน้ำกากสำรวมทั้งศึกษาชนิด ลักษณะ และกลไกในการฟอกจางสีของเชื้อจุลินทรีย์นั้น
2. เพื่อศึกษาสภาวะของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการฟอกจางสี
3. เพื่อศึกษาผลกระทบของการฟอกจางสีด้วยเชื้อจุลินทรีย์ต่อค่าบีโอดีและซีโอดี

ขอบเขตการวิจัย

1. หาเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถฟอกจางสีของน้ำกากสำได้ โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่แยกจากดินและเห็ดราบางสายพันธุ์ รวมทั้งศึกษาประสิทธิภาพในการฟอกจางสี
2. ศึกษาประสิทธิภาพการฟอกจางสีของน้ำกากสำในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ
3. ศึกษาผลของปริมาณกลูโคสที่มีต่อประสิทธิภาพในการฟอกจางสีของน้ำกากสำ

4. ศึกษาผลของเรอจลินทรีย์ที่มีต่อการฟอกจางสีของน้ำกาต้มน้ำและค่าบีโอดีและซีโอดี
5. ศึกษากลไกในการฟอกจางสีของน้ำกาต้มน้ำโดยเรอจลินทรีย์ที่คัดเลือกได้

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักเกณฑ์ที่เกี่ยวข้อง

ในกระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมการกลั่นแอลกอฮอล์ ซึ่งมีการใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบนั้น จะมีการปล่อยน้ำทิ้งซึ่งเรียกว่าน้ำกากส่าในปริมาณมาก น้ำทิ้งที่เป็นน้ำกากส่านี้จะมีค่าบีโอดีและซีโอดีเป็นปริมาณมากยังสามารถบำบัดให้มีปริมาณลดลงให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงอุตสาหกรรมได้ แต่ความเข้มข้นของสีที่เกิดจากสารเมลาโนอิดินนั้นยังคงเป็นปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมของน้ำกากส่า (molasses wastewater)

น้ำกากส่า คือ ของเหลวเหลือทิ้งจากกระบวนการกลั่นแอลกอฮอล์ ซึ่งเกิดจากการใช้กากน้ำตาล (molasses) เป็นวัตถุดิบ กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูกและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ โดยประมาณร้อยละ 20 ของกากน้ำตาลจะถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบของโรงงานอุตสาหกรรมบางประเภท โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการผลิตแอลกอฮอล์ จากกระบวนการดังกล่าวพบว่ามือน้ำเสียที่เรียกว่าน้ำกากส่าเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตถึง 10 เท่าของปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้

คุณสมบัติโดยเฉลี่ยของน้ำกากส่าจากโรงงานสุราในประเทศไทยแสดงดังตารางที่ 1 ซึ่งพบว่ามีความเป็นกรด อุณหภูมิ บีโอดี และ ซีโอดี สูงมากกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ตารางที่ 1 คุณสมบัติโดยเฉลี่ยของน้ำกากส่าจากโรงงานสุราในประเทศไทย (ไชยยุทธ , 2524)

คุณลักษณะ	ค่าเฉลี่ย
ความเป็นกรดเป็นด่าง	3.6
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	88.6
ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	118098.0
บีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	27,475.0

ตารางที่ 1 (ต่อ)

คุณลักษณะ	ค่าเฉลี่ย
สารที่แขวนลอย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	11,319.0
ปริมาณของแข็งทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	75,829.0
ของแข็งระเหย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	55,523.0
สารที่ตกตะกอน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	26.6
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	935.0
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมต่อลิตร)	115.2
โพแทสเซียม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	4,763.0
ซัลเฟต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	3,718.0

สีน้ำตาลเข้มในน้ำกาฝาก

ในกาฝากน้ำตาลนอกจากจะมีสารที่ยีสต์สามารถใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ได้ เช่น น้ำตาลซูโครส กลูโคส ฟรุกโทส และ ราฟิโนสแล้ว ยังมีสารที่ยีสต์ไม่สามารถใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ คือ คาราเมล (caramel) และเมลานอยดิน (melanoidin) ซึ่งคาราเมลเป็นสารประกอบที่เกิดจากการที่น้ำตาลได้รับความร้อนมากเกินไประหว่างกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย ส่วนเมลานอยดินเป็นสารที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) กับกรดอะมิโน ซึ่งจะมีสีน้ำตาลเข้มทำให้น้ำกาฝากหรือน้ำกาฝากดำมีสีน้ำตาลเข้ม

คาราเมลและเมลานอยดิน

คาราเมลเกิดจากการที่น้ำตาลได้รับความร้อนมากเกินไประหว่างกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายหรือเกิดจากการทำให้สารละลายน้ำตาลเข้มข้นขึ้น โดยอาจประกอบด้วยน้ำตาลเพียงชนิดเดียวหรือมีสารประกอบอื่นๆ ด้วย คาราเมลอาจถูกผลิตขึ้นจาก

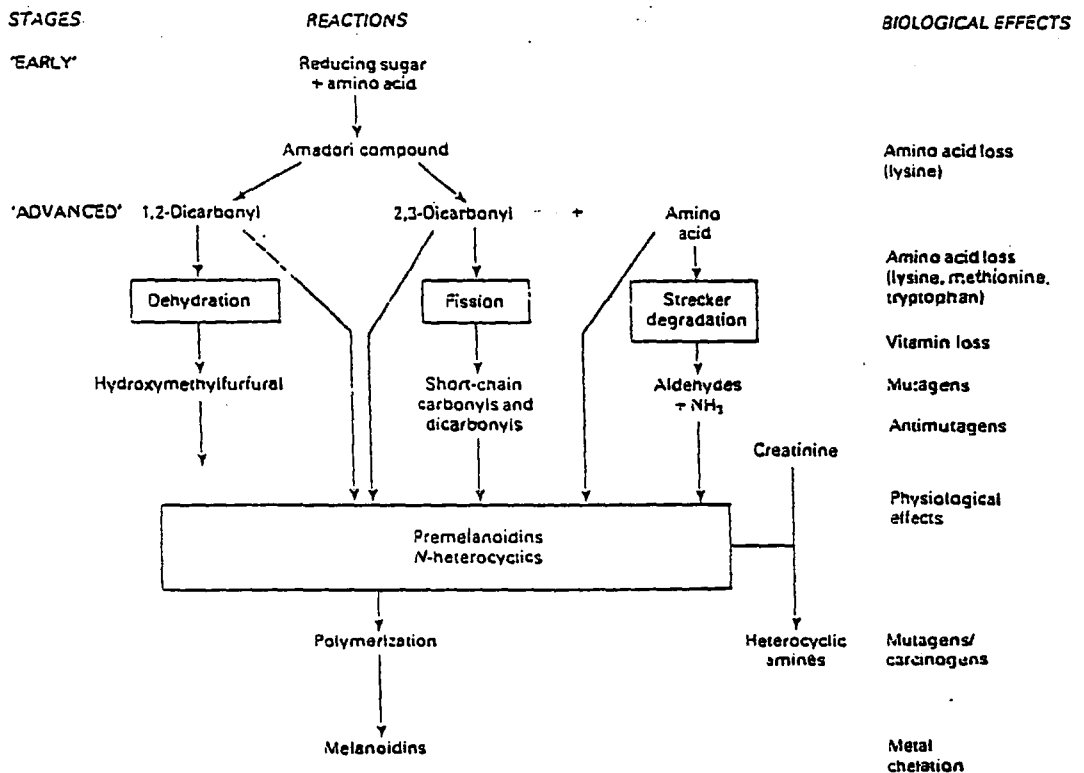
Maillard reaction แบ่งได้เป็น 2 ชั้นคือ early และ advanced

1. The " Early " Maillard reaction

ปฏิกิริยาในขั้นแรกนี้จะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาระหว่างกลุ่มกรดอะมิโนอิสระและน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งจะก่อตัวเป็นสารประกอบอะมาโดริ (Amadori Compound) ซึ่งขั้นนี้เป็นขั้นที่สำคัญเพื่อนำไปสู่ปฏิกิริยาในขั้นต่อไป

2. " Advanced " Maillard reaction

ในขั้นนี้ปฏิกิริยาเริ่มที่การสลายตัวของน้ำตาล ที่อยู่ในสารประกอบอะมาโดริ (Amadori Compound) ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการดีไฮเดรชัน (Dehydration) ซิสชัน (Scission) ออกซิเดชัน (Oxidation) และสเตร็คเกอร์ ดีเกรเดชัน (Strecker degradation) ทำให้เกิดโมเลกุลใหม่ (Premelanoidins) จากนั้นจึงเกิดการพอลิเมอไรเซชัน (Polymerization) เป็นโมเลกุลเมลานอยคิน แสดงดังแผนภาพรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงการพอลิเมอไรเซชันเป็นเมลานอยคิน

การกำจัดน้ำกากส่า

เนื่องจากน้ำกากส่าเป็นน้ำเสียที่ก่อให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเรื่องของสี โรงงานที่จะปล่อยน้ำกากส่าลงสู่แม่น้ำลำคลองจึงควรมีการปรับปรุงคุณภาพของน้ำกากส่าก่อน โดยแยกสิ่งสกปรกต่างๆ ออกและทำการขจัดสีให้ลดลงจนอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษต่อแหล่งน้ำที่รับน้ำทิ้งนั้น

กระทรวงอุตสาหกรรมได้กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรม(เสริมพล และ โชชอุทร, 2524)

คุณลักษณะ	ค่าสูงสุด
บีโอดี (5 วัน 20 องศาเซลเซียส) มิลลิกรัมต่อลิตร	20
สารที่แขวนลอย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	30
สารที่ละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	2,000
ความเป็นกรดเป็นด่าง	5 ถึง 9
เปอร์แมงกาเนต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	60
ซัลไฟด์	1
ไซยาไนด์	0.2
น้ำมันและไขมัน	-
น้ำมันทาร์	-
ฟอร์มาลดีไฮด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	1
ฟีนอลและคลีโซล (มิลลิกรัมต่อลิตร)	1
คลอรีนอิสระ	1

ตารางที่ 2 (ต่อ)

คุณลักษณะ	ค่าสูงสุด
ตั้งกะถี	1
โครเมียม	1
อาร์จีนิก	1
เงิน	1
ซิลิเนียม	1
ตะกั่ว	1
นิกเกิล	1
ยาน้ำแมลง	-
ธาตุกัมมันตภาพรังสี	-
อุณหภูมิ	4
สี กลิ่น รส	เป็นที่ยอมรับ

การออกแบบระบบบำบัดน้ำอากาศสำคัญหลายรูปแบบโดยโรงงานอุตสาหกรรมและแหล่งชุมชนต่างๆ จะเลือกใช้แบบใดนั้นขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของทางโรงงานอุตสาหกรรมและชุมชนนั้นๆ เช่น ชนิดของอุตสาหกรรม ชนิดและปริมาณของน้ำเสีย ตลอดจนสถานที่ที่ใช้ในการจัดสร้างระบบบำบัด ตัวอย่างเช่น

1. การระเหยและการเผา (evaporation and combustion) คือการเคี่ยวน้ำตาลให้เข้มข้นขึ้นในหม้อสแตนเลสเพื่อให้มีความเข้มข้นสูงถึงร้อยละ 60 จากนั้นนำมาผสมกับไอน้ำและอากาศและฉีดเข้าไปภายใต้ความดันสูงในเตาเผาที่อุณหภูมิ 1,000 องศาเซลเซียส แต่วิธีการนี้ค่อนข้างยุ่งยากและมีราคาแพง นอกจากนี้ยังอาจทำให้เกิดมล

ภาวะทางอากาศ คือมีไอน้ำและก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ออกมาสู่อากาศ นอกจากนี้ยังมีกลิ่นเหม็นที่รุนแรงค่อสิ่งมีชีวิตได้ แต่ผลพลอยได้คือปริมาณความร้อนที่สามารถนำไปใช้กับหมักถ่านเป็นการลดค่าใช้จ่ายในส่วนของการนำมันเตา ยิ่งไปกว่านั้น โฟแทสซิซึมที่เกิดขึ้นจากการเผาไหม้กากสำนี้ยังนำไปใช้ประโยชน์ เช่นการนำไปทำปุ๋ย

2. การระเหย (evaporation) วิธีการนี้มักใช้กับน้ำกากสำปริมาณน้อยๆ โดยการเคี่ยวในกะทะขนาดใหญ่ที่มีปล่องระบายควันออก วิธีนี้จะต้องใช้พลังงานเป็นปริมาณมากโดยน้ำกากสำ 1 ลูกบาศก์เมตรจะต้องใช้น้ำมันเตาถึง 28 ลิตรจึงจะทำให้มีน้ำกากสำมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 20 เท่า และน้ำกากสำที่ได้นี้จะถูกนำไปใช้เป็นปุ๋ยต่อไป

3. การหมักในถังหมักไร้อากาศ (anaerobic digestion) และกระบวนการเติมอากาศเยื้องตะกอน (activated sludge process) การหมักน้ำกากสำในถังหมักชีวภาพเพื่อให้ได้ก๊าซมีเทนมาใช้แทนน้ำมันเตานั้น จะได้ก๊าซมีเทนประมาณ 15 - 20 ลูกบาศก์เมตรต่อน้ำกากสำ 1 ลูกบาศก์เมตร โดยน้ำกากสำที่ผ่านการหมักนี้แล้วจะมีค่าบีโอดีลดลงประมาณร้อยละ 80 ก่อนนำไปบำบัดต่อโดยกระบวนการเติมอากาศเยื้องตะกอนซึ่งต้องใช้ค่าใช้จ่ายสูง แต่เนื่องจากบีโอดีของน้ำกากสำมีค่าสูงมาก น้ำกากสำที่ผ่านการบำบัดนี้ยังคงมีสีเข้มและมีค่าบีโอดีสูงเกินกว่าข้อกำหนดมาตรฐานน้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรม และวิธีการบำบัดก็ค่อนข้างซับซ้อน ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญควบคุมการทำงานของระบบเป็นพิเศษ แต่มีข้อดีคือใช้พื้นที่น้อย

4. การทำปุ๋ยหมัก (composting) การทำปุ๋ยหมักนั้นเป็นการฉีดพ่นน้ำกากสำลงบนวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น ขานอ้อย ขุยมะพร้าว โดยต้องมีการกลับกองวัสดุเพื่อให้เกิดสภาพอากาศที่ถ่ายเทได้สะดวก นอกจากนั้นมีการเร่งการหมักด้วยการใส่เชื้อหมักให้เกิดการสลายตัวได้เร็วขึ้น ปุ๋ยหมักที่ได้จะมีสีดำเข้ม วิธีนี้ลงทุนครั้งแรกต่ำแต่ค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานสูงมากและทำได้เฉพาะในฤดูแล้งเท่านั้นและในแถบยุโรปบางประเทศได้นำน้ำกากสำไปทำให้เข้มข้นหรือทำให้แห้งเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์หรือปุ๋ยอินทรีย์ ซึ่งองค์ประกอบของน้ำกากสำแห้งแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของน้ำกากสำแห้ง (Underkofler และ Hickley, 1954)

องค์ประกอบ	ร้อยละ
แร่ธาตุต่างๆ	28.5-29.0
สารคอปเปอร์รีคิวซ์	10.0-12.0
โปรตีน	8.0-10.0
กรดอะมิโน	1.0-2.0
กรดแลคติก	4.0-5.0
กรดอินทรีย์	1.0-2.0
กลีเซอรอล	5.0-6.0
ขี้ผึ้งและอื่นๆ	12.0-22.0

5. การทำบ่อเก็บกักและถนอมตาก (storage lagoon and land application) การทำบ่อเก็บกักและถนอมตาก คือการขุดบ่อเก็บกักน้ำกากสำเอาไว้ โดยทำการกักเก็บในฤดูฝนและปล่อยให้เกิดการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์เป็นเวลาประมาณ 6 เดือน ซึ่งค่าบีโอดีจะลดลงประมาณร้อยละ 80 - 90 แต่ยังมีค่าสูงเกินกว่าจะปล่อยลงสู่แม่น้ำลำคลองได้ จึงต้องบำบัดต่อในฤดูแล้งโดยระบายน้ำกากสำมาตากแห้งบนลานตากอีกประมาณ 6 เดือน ผลพลอยได้คือปุ๋ยที่มีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม มากกว่าปุ๋ยคอกถึง 3 - 4 เท่า วิธีนี้เสียค่าใช้จ่ายน้อยมาก และการตากน้ำกากสำยังช่วยทำลายสีโดยวิธีธรรมชาติอีกด้วย คือกากสำแห้งที่หลีกเลี่ยงจากการขายหรือการทำปุ๋ยจะถูกฝนชะให้ไหลลงจากลานตากละลายปนกับน้ำฝน เชื้อจุลินทรีย์ในดินก็จะช่วยย่อยสีของน้ำกากสำจนเกือบไม่มีสีตกค้างอยู่เลย แต่กากสำแห้งอาจขายได้ในราคาต่ำและใช้เวลานานในการดำเนินงาน

6. การราดถนน (road spray) เนื่องจากน้ำกากสำมีสารลิกนินปนอยู่ จึงทำให้มีลักษณะเหนียวและจับฝุ่นให้ติดแน่นคล้ายยางมะตอยได้ จึงมีการนำมาใช้ในการราดถนนซึ่งจะใช้ได้ดีเฉพาะฤดูแล้งเท่านั้น

7. ใช้เป็นอาหารปลา (fish farming) น้ำกากสำสามารถใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ขนาดเล็ก เช่น แพลงตอน ปลา นอกจากนี้การใช้น้ำกากสำสดในอัตราส่วน 0.6 ส่วน

ในพันธุ์ส่วนต่อ 2 สัปดาห์จะทำให้ปลาผลิตเจริญเติบโตได้สูงสุด แต่วิธีนี้มีข้อจำกัดตรงที่ น้ำกากสาจะถูกใช้ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น กล่าวคือบ่อขนาด 1 ไร่ ลึก 1 เมตรจะใช้ น้ำกากสาเพียง 1 ลูกบาศก์เมตรต่อ 2 สัปดาห์ ซึ่งถ้าใช้น้ำกากสา มากไปกว่านี้จะทำให้ ออกซิเจนในน้ำมีปริมาณน้อยลง ซึ่งอาจทำให้น้ำเกิดการเน่าเหม็นและปลาอาจตายได้

8. ใช้ในการเกษตรโดยตรง (direct agricultural use) การใช้น้ำกากสาในทาง การเกษตร เช่น การปล่อยน้ำกากสาเข้าในนาข้าวหรือไร่อ้อยโดยตรง โดยใส่ในขณะที่ นาว่างหลังการเก็บเกี่ยวพบว่าจะเป็นการเพิ่มปุ๋ยให้กับดิน

ระบบบำบัดที่กล่าวมานี้แต่ละระบบมีทั้งข้อดีและข้อเสีย ตลอดจนมีขีดจำกัดแตกต่างกันไป ปัจจุบันจึงมีการศึกษาเพื่อหาแนวทางที่เหมาะสมในการกำจัดน้ำกากสาจาก โรงงานสุรา โดยระบบที่มีประสิทธิภาพมักแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

ขั้นที่ 1 เป็นการทดลองกำจัดน้ำกากสาโดยใช้ระบบไร้อากาศ โดยเลี้ยงตะกอนใน สภาพไร้อากาศ (anaerobic activated sludge) จากผลการทดลองพบว่าประสิทธิภาพในการลดระดับซีไอดีและบีไอดีโดยเฉลี่ยเป็นร้อยละ 80 และ 70 ตามลำดับ และมีก๊าซ มีเทนเกิดขึ้นด้วย

ขั้นที่ 2 เป็นการทดลองกำจัดน้ำกากสาต่อจากขั้นที่ 1 ซึ่งเป็นระบบให้อากาศ (การให้อากาศเลี้ยงตะกอน) เพื่อลดค่าบีไอดีและซีไอดีให้ต่ำลงอีก ผลการทดลอง พบว่าระบบการให้อากาศเลี้ยงตะกอนจะมีประสิทธิภาพดีต่อเมื่อกำค่าซีไอดีของน้ำกากสา อยู่ในช่วง 6 - 8 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตรต่อวันโดยสามารถลดระดับของซีไอดีได้ร้อยละ 40 - 50 และระดับของบีไอดีได้ร้อยละ 85 - 90 ดังนั้นจึงต้องมีการเจือจางน้ำกากสา ที่ออกจากระบบกำจัดขั้นที่ 1 ก่อนอย่างน้อย 2 เท่า

ขั้นที่ 3 เป็นวิธีการทางเคมีในการตกตะกอนสีน้ำกากสาด้วยสารเคมี โดยทดลอง ใช้สารเคมีชนิดต่างๆ เช่น สารส้ม ปูนขาว และ เฟอร์ริกคลอไรด์ ผลการทดลองพบว่า สารเคมีที่เหมาะสมที่สุดคือสารส้ม เฟอร์ริกคลอไรด์ และปูนขาวตามลำดับ ปริมาณสาร ส้มที่พอเหมาะในการตกตะกอนสีน้ำกากสา คือ 6 กิโลกรัมต่อน้ำกากสาที่ผ่าน ระบบกำจัดขั้นที่ 2 1 ลูกบาศก์เมตร หรือ 35 กิโลกรัมต่อน้ำกากสาสด 1 ลูกบาศก์เมตร คิดเป็นค่าใช้จ่ายประมาณ 197 บาทต่อน้ำกากสาสด 1 ลูกบาศก์เมตร

ระบบการกำจัดน้ำกากสาส่วนใหญ่อาศัยวิธีการทางชีววิทยาในการปรับคุณภาพ ของน้ำกากสา ซึ่งอาจจะใช้ระบบการกำจัดด้วยวิธีไร้อากาศ หรือวิธีการให้อากาศ โดยระบบการกำจัดส่วนมากเป็นเพียงการลดระดับของค่าซีไอดีและบีไอดีให้ต่ำลงจนอยู่

ในระดับที่ไม่เป็นปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมก่อนทิ้งลงในแหล่งน้ำ แต่ยังไม่สามารถลดความเข้มข้นของสีน้ำกากสาได้ ดังนั้นน้ำกากสาดังกล่าวจึงต้องผ่านการกำจัดสีน้ำกากสาอีกขั้นตอนหนึ่งก่อนจะปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ ซึ่งในปัจจุบันได้อาศัยวิธีการทางเคมีตกตะกอนสีน้ำกากสาแต่ผลที่ได้ยังไม่เป็นที่น่าพอใจเพราะจะต้องใช้ค่าใช้จ่ายสูงมาก เช่น การใช้สารส้มช่วยในการตกตะกอนน้ำกากสาซึ่งเป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นจึงมีผู้หันมาใช้วิธีการทางชีววิทยาในการลดความเข้มข้นของสีน้ำกากสาแทนโดยพยายามคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการฟอกจางสีของน้ำกากสา

โดยที่ Tozawa และคณะ (1979) ได้ศึกษาถึงการการใช้จุลินทรีย์ในการฟอกจางสีของน้ำกากสาพบว่าเชื้อเห็ดหลายสายพันธุ์ เชื้อราบางสายพันธุ์และแบคทีเรีย 2 - 3 สายพันธุ์ที่สามารถฟอกจางสีของน้ำกากสาได้ โดยเชื้อเห็ดสายพันธุ์หนึ่งสามารถฟอกจางสีของน้ำกากสาจากสีน้ำตาลเข้มเป็นสีเหลืองอ่อนๆ ได้ภายในเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยเชื้อเห็ดนี้จะเจริญเติบโตได้ดีในน้ำกากสาที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบ และมีความเป็นกรดเป็นค่าเท่ากับ 6 โดยสามารถทำให้สีของน้ำกากสาจางลงจนกระทั่งปริมาณกลูโคสในสารอาหารถูกใช้หมด และการฟอกจางสีของน้ำกากสาส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นในเส้นใย ทั้งนี้เนื่องจากอาหารที่ได้กรองเอาเส้นใยออกแล้วจะมีกิจกรรมการฟอกจางสีของน้ำกากสาเพียงเล็กน้อยเท่านั้น สำหรับแบคทีเรียเมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารน้ำกากสาที่เป็นอาหารแข็งจะเกิดบริเวณ ไม่มีสีรอบๆ โกลีและขณะเดียวกัน รูนจะถูกย่อยให้เหลวตามไปด้วยเมื่อเลี้ยงแบคทีเรียดังกล่าวบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไปจะไม่แสดงคุณสมบัติในการย่อยสลาย รูนและการฟอกจางสีของน้ำกากสาแสดงว่ากิจกรรมการฟอกจางสีจะเกิดขึ้นได้ดีต้องมีสารที่เป็นสีในน้ำกากสาเป็นตัวกระตุ้น

Atthasampunna และ Ohmomo (1981) รายงานว่าได้คัดเลือกยีสต์ได้ 1 สายพันธุ์ จากตัวอย่างดินบริเวณจังหวัดอยุธยา มีความสามารถฟอกสีของน้ำกากสาได้ถึงร้อยละ 50 ในเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 38-40 องศาเซลเซียส โดยยีสต์ดังกล่าวต้องการกลูโคสและผงยีสต์สกัดในการเจริญเติบโต

Watanabe และคณะ (1982) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของเอ็นไซม์ที่แยกได้จากเชื้อเห็ดสายพันธุ์ *Coriolus* sp. No. 20 ที่มีความสามารถในการฟอกจางสีกากน้ำตาล โดยได้สังเคราะห์สีกากน้ำตาลจากการต้มกลั่น สารละลายผสมระหว่างน้ำตาลกลูโคส

กับกฐาแมค แล้วปรับความเป็นกรดเป็นด่างให้เท่ากับ 9 คัวยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ นำสารละลายสีน้ำตาลเข้มที่ได้มาโคอะไลซ์ (dialyze) คัวยน้ำประปานาน 2 วัน และน้ำจืดไอออน (deionized water) นาน 1 วัน และจึงมาทำให้เป็นผงคัวยวิธีแห้งแข็ง (lyophilization) จากการทดลองพบว่าถ้าเลี้ยงเชื้อเห็ดสายพันธุ์ดังกล่าวในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบคัวย

แอมโมเนียมซัลเฟต	1.5	กรัม
โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	10	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.5	กรัม
สารละลายสีจากน้ำตาล	1000	มิลลิลิตร

ความเป็นกรดเป็นด่าง 6.4 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 2 สัปดาห์จะสามารถฟอกจางสีของกากน้ำตาลได้ถึงร้อยละ 77 และเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ฟอกจางสีนี้คือ ซอโบสออกซิเดส (Sorbos oxidase) จากผลดังกล่าวจึงสันนิษฐานได้ว่าเมลานอยคินอาจจะถูกย่อยโดยออกซิเจนอิสระ (Active oxygen) ซึ่งเกิดจากการออกซิไดส์กลูโคสของเอนไซม์ซอโรโบสออกซิเดส ทำให้การฟอกสีจะเกิดขึ้นในสภาวะที่มีน้ำตาลเท่านั้น

สกุณณี (1982) ได้คัดเลือกเชื้อยีสต์ที่มีความสามารถในการลดความเข้มของสีน้ำตาลากดำ และพบว่าเชื้อยีสต์ 13 สายพันธุ์มีความสามารถลดความเข้มของสีน้ำตาลากดำได้โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ *Candida utilis* และมีอยู่ 3 สายพันธุ์ คือ Ch 307, Mj 017, และ Ko 11 โดยสามารถลดความเข้มของสีน้ำตาลากดำได้ถึง 59.8, 52.9 และร้อยละ 50.2 ภายในเวลา 60, 38 และ 36 ชั่วโมงตามลำดับ ในขณะที่สายพันธุ์ *Candida utilis* สามารถลดความเข้มของสีน้ำตาลากดำได้เพียงร้อยละ 41.1 ภายในเวลา 48 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ความเข้มข้นน้ำากาสที่ลดลงหลังการเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่คัดเลือกได้
(สกุนณี ,2524)

ลำดับที่	รหัสเชื้อ	อัตราการลดความเข้มข้นของสี น้ำากาสในระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง)				
		24	36	48	60	72
1	A 20	47.5	41.5	44.8	32.7	36.6
2	Au 007	40.2	43.5	48.4	49.1	50.0
3	Au 029	41.2	45.2	46.5	42.7	41.7
4	Ch 037	46.4	48.5	46.0	59.9	35.7
5	Ch 045	42.1	46.9	44.5	44.2	35.7
6	K 001	42.3	50.2	52.3	40.8	41.0
7	K 008	48.5	49.8	44.6	43.1	43.5
8	K 022	42.5	45.1	47.0	44.2	43.8
9	MS 017	50.6	52.9	45.5	51.3	36.8
10	MS 018	44.8	42.4	41.3	45.1	41.0
11	Su 013	47.0	42.2	45.3	44.1	42.5
12	Su 021	48.4	43.4	46.1	44.2	44.3
13	Su 038	44.0	42.8	44.5	46.8	48.9
14	<i>Candida utilis</i>	40.4	39.8	41.0	40.2	38.0

Ito และ Ueda (1983) ได้ทำการทดลองกำจัดสีของน้ำากาสแบบต่อเนื่องในถังหมัก 2 แบบ คือ แบบใช้อากาศในการกวน (aeration column) และแบบใช้ใบพัดในการกวน โดยการเติมเชื้อเห็ดสายพันธุ์ *Coriplus versicolor* ในรูปเม็ด (pellet) เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการฟอกจางสีของน้ำากาสในถังหมัก ที่มีระดับออกซิเจนละลายอยู่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร 0.5 ระดับความเข้มข้นของสีน้ำากาสมีค่าเท่ากับ 3.5 หน่วยต่อมิลลิลิตร โดยอาศัยความยาวคลื่นแสงที่ 475 นาโนเมตรและปริมาณเชื้อเริ่ม

ค้นเท่ากับร้อยละ 2 จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่าสามารถลดความเข้มข้นของสีน้ำากาส่าลงเหลือ 0.9 หน่วยต่อมิลลิลิตร และอัตราเร็วของการฟอกสีน้ำากาส่าเท่ากับ 0.52 หน่วยต่อมิลลิลิตรต่อชั่วโมง

Ueda และ Atthasampunna (1983) ได้ศึกษาการฟอกจางสีของน้ำากาส่าไทยและญี่ปุ่นด้วยเชื้อแบคทีเรีย โดยปรับความเข้มข้นของสีน้ำากาส่าทั้งสองให้เท่ากับ 3.5 หน่วยต่อมิลลิลิตร โดยอาศัยความยาวคลื่นแสงที่ 475 นาโนเมตร ความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7.5 พบว่าอัตราเร็วของการฟอกจางสีของน้ำากาส่าไทยด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าวเป็นไปช้ามาก แต่สามารถเร่งอัตราเร็วได้โดยการเติมกลูโคส ในทางตรงข้ามอัตราเร็วของการฟอกจางสีของน้ำากาส่าญี่ปุ่นเกิดขึ้นเร็วมากและการเติมกลูโคสไม่มีผลต่อการเร่งอัตราเร็วของการฟอกจางสีของน้ำากาส่า ทั้งนี้เนื่องจากน้ำากาส่าญี่ปุ่นประกอบด้วยน้ำตาลที่ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาการหมักได้ส่วนน้ำากาส่าไทยได้จากโรงงานสุราซึ่งประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่เกิดจากการปนเปื้อนเข้าไประหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราเร็วในการฟอกจางสีของน้ำากาส่ายังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ถ้าอุณหภูมิยิ่งสูงอัตราเร็วในการฟอกจางสีของน้ำากาส่าจะเร็วขึ้นด้วย ดังนั้นอัตราเร็วในการฟอกจางสีน้ำากาส่าของแบคทีเรียที่ทนความร้อนได้สูงจะเร็วกว่าเชื้อแบคทีเรียที่ทนความร้อนได้ปานกลาง

Maria Luz F. Paje และคณะ (1990) ได้ทำทดลองฟอกจางสีน้ำากาส่าด้วยเชื้อ *Bacillus* ชนิดหนึ่งที่ให้ชื่อว่า Biotech1305 โดยใช้ระบบการตรึงเซลล์บนเม็ดแคลเซียมแอลจินเนต และบนเซลล์ูโลสที่มีรูพรุน สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ คือ

น้ำากาส่าศร้อยละ	100
กลูโคสร้อยละ	1.0
เปปโตนร้อยละ	0.5
ยีสต์สกัดร้อยละ	0.5
โพแทสเซียมฟอสเฟต โมโนเบสิกร้อยละ	0.1
แมกนีเซียมซัลเฟตร้อยละ	0.05

และตรวจผลโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 นาโนเมตร จากผลการทดลองพบว่า Biotech 1305 สามารถฟอกจางสีน้ำากาส่าได้ประมาณร้อยละ 70 - 75 และพบว่าการฟอกจางสีจะลดลงถ้าใช้น้ำากาส่าที่ใช้ผ่านการฆ่าเชื้อ (sterile) แล้ว เพราะน้ำากาส่าของเมลานอคตินจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความเป็นกรดเป็นด่าง ที่อุณหภูมิสูงๆ

เมลานอยดินจะมีน้ำหนักโมเลกุลน้อย ซึ่งจะย่อยยากกว่าเม็ดสีที่มีน้ำหนักโมเลกุลหลายๆ ดังนั้นการที่น้ำากาสำผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูง จึงทำให้ผลการฟอกจางสีลดลง สำหรับน้ำากาสำที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อสามารถฟอกจางสีได้ถึงร้อยละ 74 ด้วยปริมาณเชื้อ Biotech 1305 7.5×10^8 เซลล์ต่อ 20 มิลลิลิตร ของแคลเซียมแอลจินेटที่อุณหภูมิประมาณ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน และเมื่อมีการนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ พบว่าประสิทธิภาพการฟอกจางสีจะลดลง

Veronica P. Migox และคณะ (1992) ได้ทดลองฟอกจางสีของน้ำากาสำโดยใช้วิธีทางกายภาพและทางเคมีโดยใช้วิธีการตกตะกอนด้วยสารประกอบที่มีหมู่เฟอร์ริก ($(\text{Fe}(\text{OH})_n (\text{SO}_4)_{3-n/2})_n$) ปริมาณ 0.04 ปริมาตรต่อปริมาตร ซึ่งทำให้เกิดการตกตะกอนได้ในช่วงร้อยละ 33 - 92 ขึ้นกับระบบบำบัดน้ำากาสำที่ใช้ เช่น ถ้าเป็นระบบ lagoon จะได้ผลถึงร้อยละ 92 โดยสารที่เติมลงไปจะไปรวมตัวกับเมลานอยดินและตกตะกอนลงที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส ในเวลา 15 นาที

Maria Luz F. Paje (1990) ทดลองใช้สารอนินทรีย์เช่นเฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3) และอลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3) ในการตกตะกอนเมลานอยดิน จะพบว่าสามารถฟอกจางสีได้ร้อยละ 93 เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 นาโนเมตร

Suntud และคณะ(1987) ทดลองฟอกจางสีของน้ำากาสำด้วยเชื้อ *Rhizoctonia* sp.D90โดยเมลานอยดินจะถูกดูดซับไว้ที่เส้นใยของเชื้อนี้ ทำให้ฟอกจางสีได้ร้อยละ 81.5 นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เส้นใยที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีหมักนิ่งความดัน(autoclave) ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จะทำให้เส้นใยมีความสามารถในการดูดซับเมลานอยดินได้มากกว่า 1-5 เท่าของเส้นใยปกติ การเติมแมกนีเซียมไอออน(Mg^{2+}) และแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) เช่น แมกนีเซียมซัลเฟต (MgSO_4) หรือแคลเซียมซัลเฟต (CaSO_4) จะช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซับเมลานอยดินได้ แต่การเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ทำให้ประสิทธิภาพการดูดซับเมลานอยดินลดลงถึงร้อยละ 60 ซึ่งอาจเป็นเพราะบริเวณที่ดูดซับเมลานอยดินถูกจับไว้ด้วยโซเดียมไอออน (Na^+)

Shinsaku Hayashida (1974) และคณะทดลองใช้เชื้อรา *Coriolus* sp. No. 20 ในการฟอกจางสีของน้ำากาสำโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ระบบ คือ

1. ระบบกึ่งต่อเนื่อง (fed batch system) สามารถฟอกจางสีของน้ำากาสำได้ค่อนข้างคงที่ โดยสามารถฟอกจางสีของน้ำากาสำสดและน้ำากาสำที่ผ่านระบบบำบัด

แล้วได้สูงถึงร้อยละ 75 และ 70 ตามลำดับ และสามารถนำเชื้อมาทดลองใช้ใหม่ได้
ประมาณ 4 ครั้ง

2. ระบบต่อเนื่อง (continue fed system) ซึ่งเป็นระบบที่มีการเติมน้ำกากสำ
สดเข้าไปวันร้อยละ 10 ต่อวัน หลังจากเลี้ยงเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำกากสำสด
เป็นสารอาหารไปแล้ว 7 วัน พบว่าการฟอกจางสีของน้ำกากสำสดเป็นไปอย่างค่อนข้าง
คงที่ คือ มีอัตราการฟอกจางสีประมาณร้อยละ 37.5 ต่อวัน โดยการทดลอง
สามารถดำเนินไปได้ 12 วัน และสามารถลดความเข้มข้นของสีได้ร้อยละ 70 แต่อย่าง
ไรก็ตามจะต้องรักษาระดับน้ำตาลที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ต่ำกว่าร้อยละ 1 ดังนั้น
ในวันที่ 13 ของการทดลองจึงต้องมีการเติมน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 20 เพิ่มอีก
ประมาณ 10 มิลลิลิตร

Sadahiro Ohmomo (1985) ทดลองใช้เอนไซม์ P-III และ P - IV ซึ่งสกัดได้
จากเส้นใยของ *Coriolus versicolus* Ps4a⁺ โดย P-III เป็นเอนไซม์ที่มีมวลโมเลกุล
ประมาณ 48,400 - 50,000 มีความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานคือ 5.5
ส่วน P-IV มีมวลโมเลกุลประมาณ 43,800 - 45,000 มีความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสม
ต่อการทำงานประมาณ 4.0 - 4.5 สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์ทั้ง
สองอยู่ในช่วง 20 - 50 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์ P-III ต้องการน้ำตาล
และออกซิเจนในการฟอกจางสีของน้ำกากสำ และจะสามารถลดปริมาณเมลานินได้อีก
ร้อยละ 22 - 28 ส่วนเอนไซม์ P-IV ให้ผลการฟอกจางสีใกล้เคียงกับเอนไซม์ P-III โดย
ไม่ต้องการน้ำตาลและออกซิเจน และเมื่อนำเชื้อ *Coriolus versicolus* มาศึกษาการ
ฟอกจางสีของน้ำกากสำอย่างต่อเนื่องโดยใช้น้ำทิ้งจากโรงงานขนมปังเมื่อ
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ใช้ในการศึกษาคือ

น้ำกากสำสดร้อยละ	100
กลูโคสร้อยละ	0.5
เปปโตนร้อยละ	0.05

ภายใต้สภาวะที่มีการให้อากาศ จากผลดังกล่าวพบว่าเชื้อสามารถฟอกจางสีของ
น้ำกากสำได้ประมาณร้อยละ 75 ในเวลา 20 ชั่วโมง โดยส่วนที่มีผลในการฟอกจางสี
คือ เส้นใยของเชื้อ และเมื่อนำเอาเฉพาะเส้นใยมาครึ่งบนเจลของแคลเซียม
แอลจินเนต จะพบว่าการฟอกจางสีจะเกิดขึ้นเพียงร้อยละ 65.5

Suntud และคณะ(1988) ได้ทำการทดลองฟอกจางสีของน้ำกากส่าด้วยเชื้อ *Mycelia sterilia* D90+ โดยใช้สูตรอาหารซึ่งประกอบด้วย

น้ำกากส่าสกร้อยละ	100
กลูโคสร้อยละ	2.5
ไซเคียมไนเตรดร้อยละ	0.2
โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ	0.1
แมกนีเซียมซัลเฟตร้อยละ	0.05

พบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถฟอกจางสีของน้ำกากส่าได้ถึงร้อยละ 90 นอกจากนี้ยังสามารถลดค่าบีโอดีได้ถึงร้อยละ 80 ในเวลา 10 วัน เมื่อไม่มีการเติมธาตุอาหารเสริม การฟอกจางสีของน้ำกากส่าจะลดลงเหลือร้อยละ 70 ในเวลา 11 วัน ส่วนในระบบบึงต่อเนื่อง *Mycelia sterilia* D90+ ฟอกจางสีได้ร้อยละ 80 และลดค่าบีโอดีได้ร้อยละ 70

ในปัจจุบันปัญหาน้ำเสียเป็นปัญหาหนึ่งที่สำคัญของปัญหาสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำเสียที่เกิดจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น น้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์ ซึ่งมีการใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ โดยน้ำเสียที่เกิดขึ้นจะเรียกว่าน้ำกากส่า ซึ่งมีค่าบีโอดีและซีโอดีสูงมาก และที่สำคัญจะมีสีน้ำตาลเข้มซึ่งเกิดจากเมลานอยดิน ดังนั้นในโครงการพิเศษนี้มุ่งเน้นในการศึกษาถึงวิธีการลดความเข้มของสีโดยใช้ เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้ในการฟอกจางสีของน้ำกากส่า และศึกษาผลกระทบของวิธีการดังกล่าวต่อค่าบีโอดีและซีโอดี

การลดความเข้มของสีน้ำกากส่าถ้าใช้วิธีทางเคมีจะเสียค่าใช้จ่ายสูง ด้วยเหตุนี้จึงมีการศึกษาใช้วิธีทางชีวภาพโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์เป็นตัวฟอกสีซึ่งทำให้เสียค่าใช้จ่ายต่ำลง

บทที่ 3
ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.1 สารเคมี

1. โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)
2. แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)
3. แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
5. ฝรั่ง (agar)
6. กลูโคส (glucose)

3.2 อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง (test tube)
2. บีกเกอร์ (beaker)
3. แท่งแก้วคน
4. ช้อนตักสาร (spectula)
5. ปิเปตต์ (pipette)
6. จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (petri dish)
7. ตะเกียงแอลกอฮอล์
8. หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
9. เครื่องเขย่า (shaker)
10. เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter)
11. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
12. ตู้บ่ม (incubator)
13. เครื่องซั่งหยาบและละเอียด
14. โถอบแห้ง (desicator)
15. บีบสุญญากาศ (suction)
16. กรวยกรอง (Buchner funnel)

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถฟอกจางสีของน้ำกากสำได้และศึกษาถึงประสิทธิภาพในการฟอกจางสี

3.3.1.1 การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากตัวอย่างดิน

ก. เก็บตัวอย่างดินจากสถานที่ต่างๆในประเทศไทย (ภาคผนวกที่ 1) นำตัวอย่างดินมา 1 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ดังรูปที่ 1 จากนั้นจึงนำมา spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1 (ภาคผนวกที่ 2)

ข. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2-3 วัน

ค. เมื่อมีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้นให้แยกเชื้อดังกล่าวนี้เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 3 และ 4 (ภาคผนวกที่ 3 และ 4) พร้อมทั้งสังเกตลักษณะโดยรอบโคโลนี

3.3.1.2 การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการฟอกจางสีของน้ำกากสำ

ก. นำเชื้อที่ได้จากข้อ 3.3.1.1 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 (ภาคผนวกที่ 4) 5 มิลลิลิตร

ข. บ่มเชื้อในหลอดทดลองโดยใช้เครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ดังรูปที่ 4

ค. กรองเชื้อในแต่ละหลอดก่อนนำไปวัดการดูดกลืนแสง(ภาคผนวกที่ 8) ที่ความยาวคลื่นที่ 475 นาโนเมตร เทียบกับตัวควบคุม ดังรูปที่ 5

3.3.1.3 คัดเลือกเชื้อที่ดีที่สุด 2 เชื้อ มาวัดอัตราการฟอกจางสีและหาหน้าหนักแห้ง (ภาคผนวกที่ 9) เพื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างประสิทธิภาพในการฟอกจางสีกับหน้าหนักเซลล์แห้งของจุลินทรีย์

3.3.1.4 คัดเลือกเชื้อที่ดีที่สุด 1 เชื้อ นำมาและศึกษาลักษณะต่างๆ โดยละเอียด

3.3.2. ศึกษาประสิทธิภาพการฟอกจางสีของน้ำกากสำในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

3.3.2.1 เดิมสารแขวนลอยสปอร์ 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวกที่ 10) 1 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1 และ 5 (ภาคผนวกที่ 6) ดังรูปที่ 6 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร ทุกวันเป็นเวลา 5 วัน

3.3.2.3 คัดเลือกสภาวะที่ให้อัตราการฟอกจางสีสูงสุดเพื่อทำการทดลองต่อไป

3.3.3. ศึกษาผลของปริมาณกลูโคสที่มีต่อประสิทธิภาพการฟอกขาวสีของน้ำกากส่า

3.3.3.1 เติมน้ำตาลแขวนลอยสปอร์ 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร 1 มิลลิลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1 และ 6, 7, 8 (ภาคผนวกที่ 7) ด้วยรูปที่ 7 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร ทุกวันเป็นเวลา 5 วัน

3.3.3.2 คัดเลือกสถานะที่ให้อัตราการฟอกขาวสีสูงสุดเพื่อทำการทดลองต่อไป

3.3.4. ศึกษาผลของการฟอกขาวสีของน้ำกากส่าที่มีต่อค่าบีโอดีและซีโอดี

3.3.4.1 วัดค่าบีโอดี(ภาคผนวกที่ 11)และซีโอดี(ภาคผนวกที่ 12)ของน้ำกากส่าก่อนนำไปเตรียมอาหาร

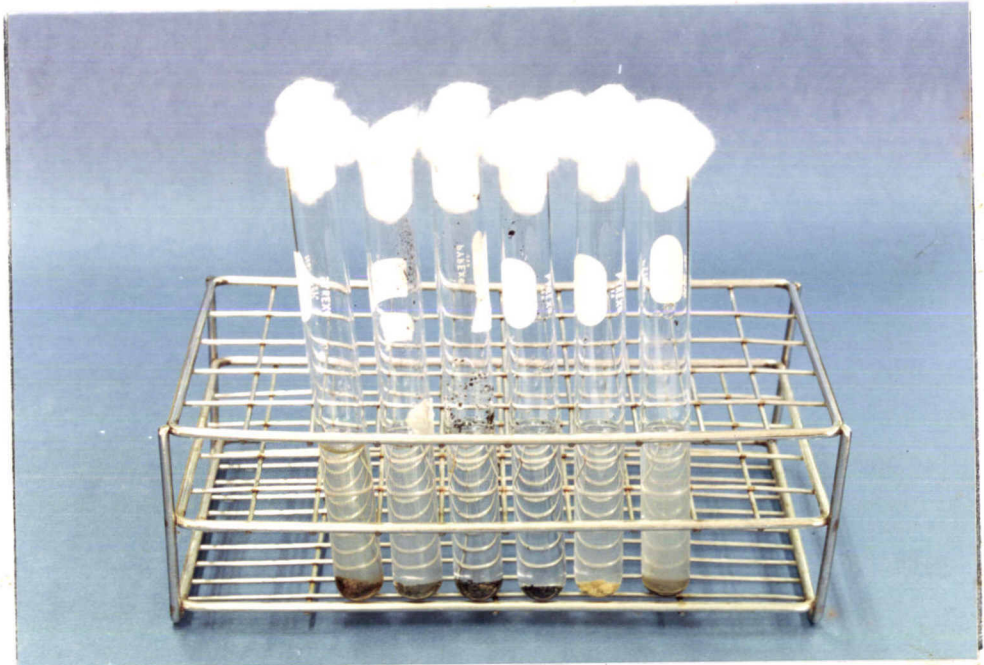
3.3.4.2 เตรียมอาหารตามสถานะที่เลือกในข้อ 3.3.3.2 และเติมน้ำตาลแขวนลอยสปอร์ 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร 1 มิลลิลิตร ในอาหาร 100 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร ทุกวันเป็นเวลา 3 วัน

3.3.4.3 วัดค่าบีโอดีและซีโอดีของน้ำกากส่าที่ผ่านการฟอกขาวสีแล้วเป็นเวลา 3 วัน เพื่อเปรียบเทียบกับค่าบีโอดีและซีโอดีในข้อ 3.3.3.1

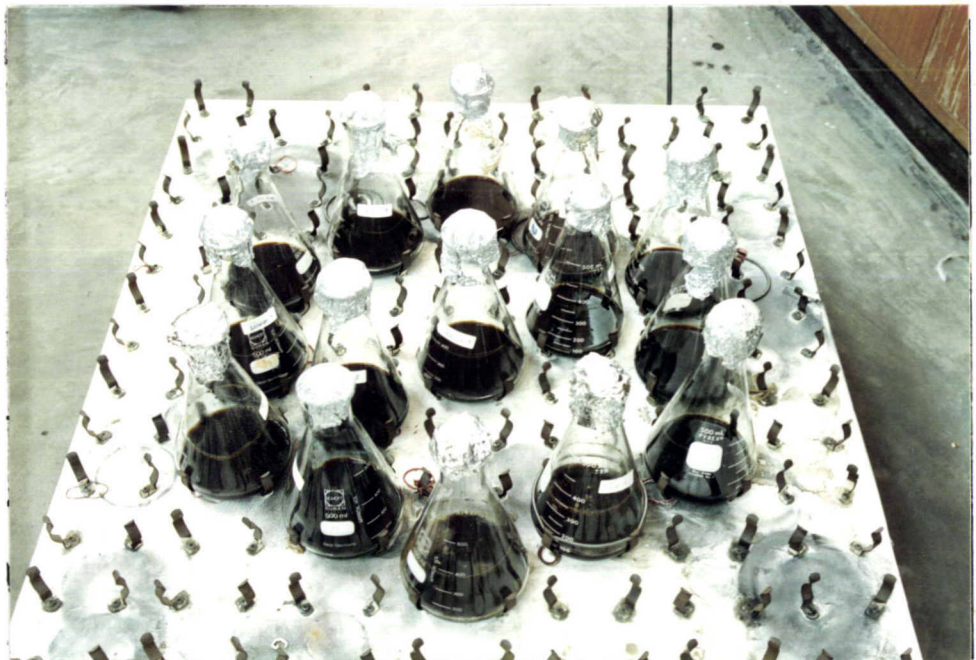
3.3.5. ศึกษาผลึกในการฟอกขาวสีของน้ำกากส่า

3.3.5.1 นำเซลล์จุลินทรีย์มาแขวนในสารละลายอะซิเตดบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ ทีเอช 5(ภาคผนวกที่ 13) และบดด้วยทรายเพื่อให้เซลล์แตก

3.3.5.2 นำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นำส่วนใสและส่วนตะกอนมาทดลองฟอกขาวสีในอาหารเลี้ยงเชื้อ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร ทุก 1 ชั่วโมงเป็นเวลา 3 ชั่วโมง



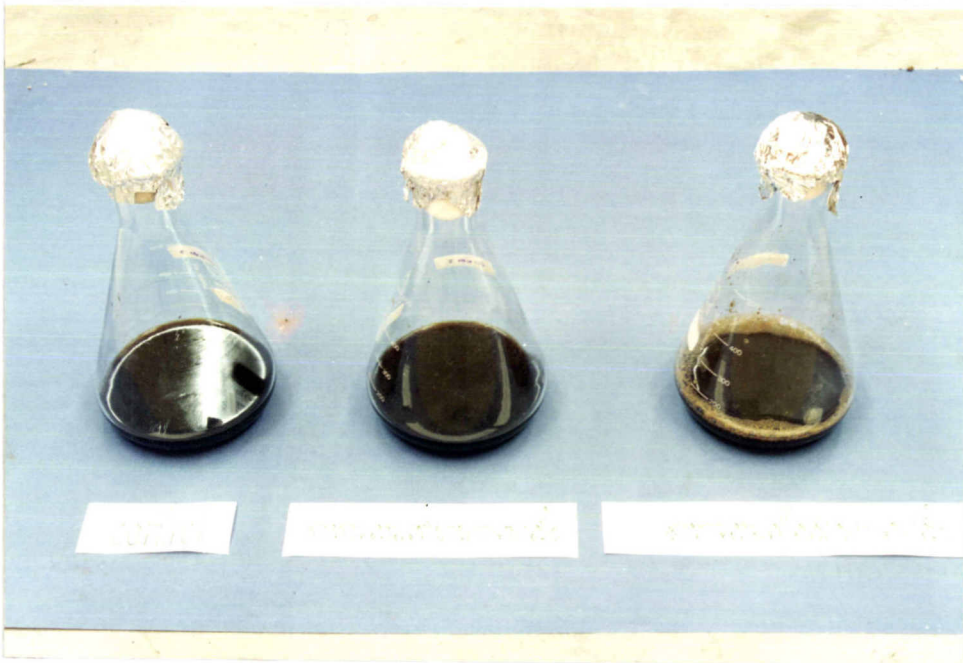
รูปที่ 3 แสดงการเจริญงาตัวของดิน



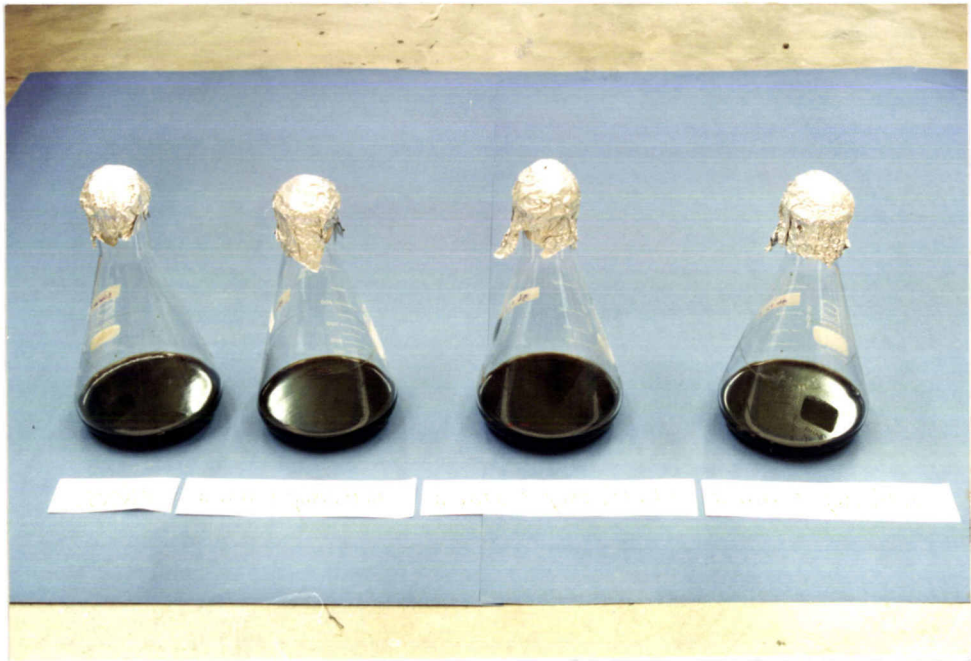
รูปที่ 4 แสดงการบ่มเชื้อโดยใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาที



รูปที่ 5 แสดงการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร



รูปที่ 6 แสดงอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ



รูปที่ 7 แสดงอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมกลูโคสและเติมกลูโคสร้อยละ 1,2 และ 3

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลอง

4.1. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการฟอกจางสีของน้ำกากส่า

จากผลการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการฟอกจางสีของน้ำกากส่า จากตัวอย่างดิน 100 ตัวอย่างที่เก็บได้ตามสถานที่ต่างๆ พบเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกากส่าเป็นองค์ประกอบได้ 52 ชนิด แต่มีเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการฟอกจางสีของน้ำกากส่าเพียง 20 ชนิด โดยแต่ละชนิดให้ประสิทธิภาพในการฟอกจางสีได้ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงอัตราการฟอกจางสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้

รหัสเชื้อ	สถานที่เก็บตัวอย่างดิน	อัตราการฟอกจางสี (ร้อยละ)
A2	หอสถาบันหญิง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ จุดที่ 1	23.33
A13	อ.เมือง จ.สมุทรปราการ จุดที่ 1	3.33
A14	อ.เมือง จ.สมุทรปราการ จุดที่ 2	3.33
A21	อ.เมือง จ.สมุทรปราการ จุดที่ 3	10
A22	อ.เมือง จ.สมุทรปราการ จุดที่ 4	6.6
A23	หอสถาบันหญิง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ จุดที่ 2	25.33
A29	เขตบางเขน กรุงเทพฯ	6.67
A32	ข้างบ่อบำบัด โรงงานสุรา จ.อยุธยา จุดที่ 1	25.33
A33	ข้างบ่อบำบัด โรงงานสุรา จ.อยุธยา จุดที่ 2	6.67
A36	ข้างบ่อบำบัด โรงงานสุรา จ.อยุธยา จุดที่ 3	8
A39	อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา	6.67
A57	ลานพระบรมรูปพระจอมเกล้า สจล.	13.33
A63	คณะวิทยาศาสตร์ สจล. จุดที่ 1	6.67

ตารางที่ 5 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	สถานที่เก็บตัวอย่างดิน	อัตราการฟอกจางสี (ร้อยละ)
A71	คณะวิทยาศาสตร์ สจล. จุดที่ 2	6.67
A82	คณะวิทยาศาสตร์ สจล. จุดที่ 3	6.67
A87	คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล.	20
A93	ที่ทำการไปรษณีย์ เขตลาดกระบัง กรุงเทพ	20
A94	อ.พนมสารคาม จ.ฉะเชิงเทรา	13.32
A96	คณะวิทยาศาสตร์ สจล. จุดที่ 4	13.32
A99	คณะวิทยาศาสตร์ สจล. จุดที่ 5	10

เนื่องจากมีรายงานการทดลอง (Watanabe,1982) เกี่ยวกับการฟอกจางสีของน้ำกากส่า ได้กล่าวถึงเชื้อเห็ดที่มีประสิทธิภาพการฟอกจางสีอยู่ในระดับที่น่าสนใจ จึงนำเชื้อเห็ดบางสายพันธุ์มาทดลองฟอกจางสีของน้ำกากส่า ซึ่งอัตราการฟอกจางสีของเชื้อเห็ดดังกล่าวแสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงอัตราการฟอกจางสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อเห็ดชนิดต่างๆ

เชื้อ	อัตราการฟอกจางสี (ร้อยละ)
เห็ดเข็มทอง	11.33
เห็ดฟาง	9.33
เห็ดตีนแรด	10
เห็ดแชมปิญอง	10

จากผลการทดลองในตารางที่ 5 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 23 และ A 32 ให้ผลการฟอกจางสีของน้ำกากส่าได้สูงสุด และสูงกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 90 โดยมีอัตราการฟอกจางสีเป็นร้อยละ 25.33 ส่วนผลการฟอกจางสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อเห็ดชนิดต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 6 พบว่า

หีดเข็มทองให้ผลการฟอกงามสีของน้ำากาส่าเป็น 11.33 ซึ่งสูงกว่าเชื้อเห็ดชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 90 จากผลที่ได้ดังตารางที่ 1 และ 2 จึงเลือกเชื้อจุลินทรีย์รหัส A23 และ A32 มาศึกษาประสิทธิภาพการฟอกงามสีของน้ำากาส่าในขั้นต่อไป โดยนำเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด มาทดลองเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการฟอกงามสีของน้ำากาส่าและน้ำหนักเซลล์แห้งทุกวันเป็นเวลา 5 วัน และแสดงผลได้ดังตารางที่ 7 และ 8

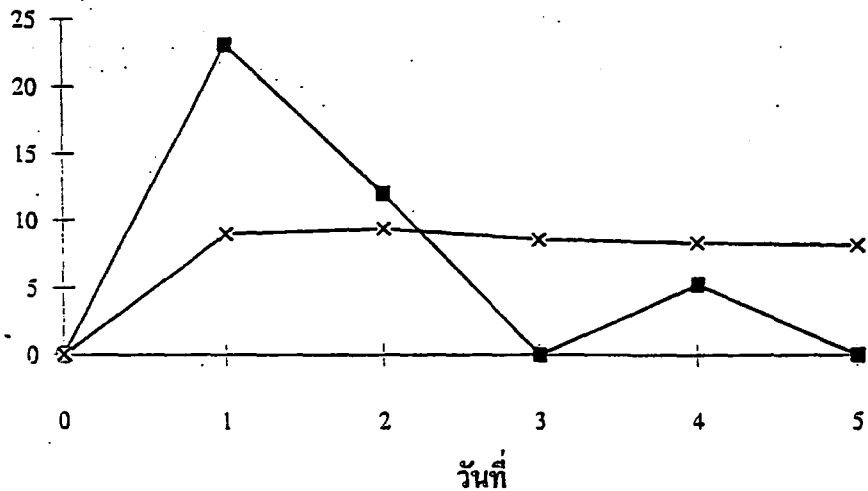
ตารางที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการฟอกงามสีของน้ำากาส่าและน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 23

วันที่	อัตราการฟอกงามสี (ร้อยละ)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)
1	23.12	8.973
2	12.06	9.384
3	0	8.563
4	5.27	8.317
5	0	8.132

ตารางที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการฟอกงามสีของน้ำากาส่าและน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32

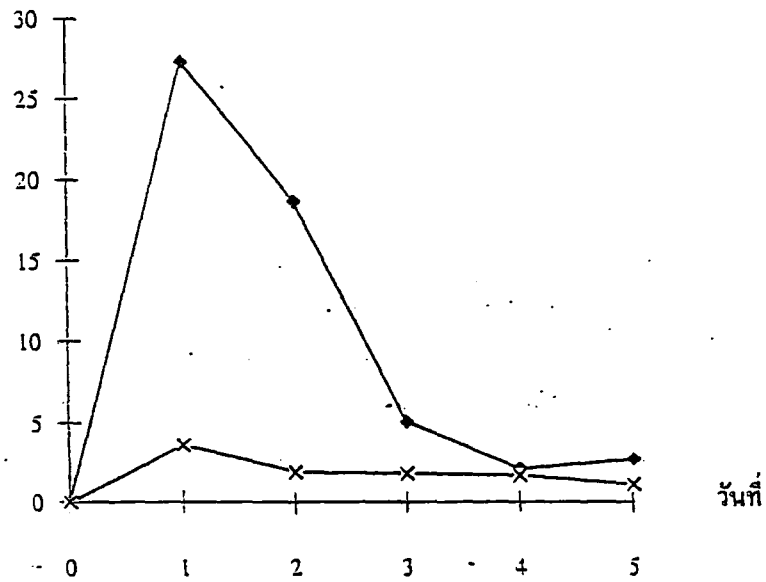
วันที่	อัตราการฟอกงามสี (ร้อยละ)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)
1	27.33	3.552
2	18.66	1.838
3	5.07	1.753
4	2.03	1.639
5	2.64	1.060

เมื่อนำผลที่ได้ดังตารางที่ 7 และ 8 มาสร้างเป็นกราฟดังแสดงในรูปที่ 8 และ 9 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32 มีอัตราการฟอกจางสีของน้ำกากส่าสูงกว่าเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 23 และอัตราการฟอกจางสีจะสูงขึ้นเมื่อน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงเลือกเชื้อจุลินทรีย์รหัส A32 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกจางสีของน้ำกากส่าในขั้นต่อไป



—■— อัตราการฟอกจางสี (ร้อยละ) —x— น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)

รูปที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการฟอกจางสีของน้ำกากส่าและน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 23



—◆— อัตราการฟลูออเรสเซนซ์ (ร้อยละ) —×— น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อ 100 มิลลิตร)

รูปที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราฟลูออเรสเซนซ์ของน้ำกาดำ และน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32

4.2. การศึกษาประสิทธิภาพการฟอกจางสีในอาหารซึ่งผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

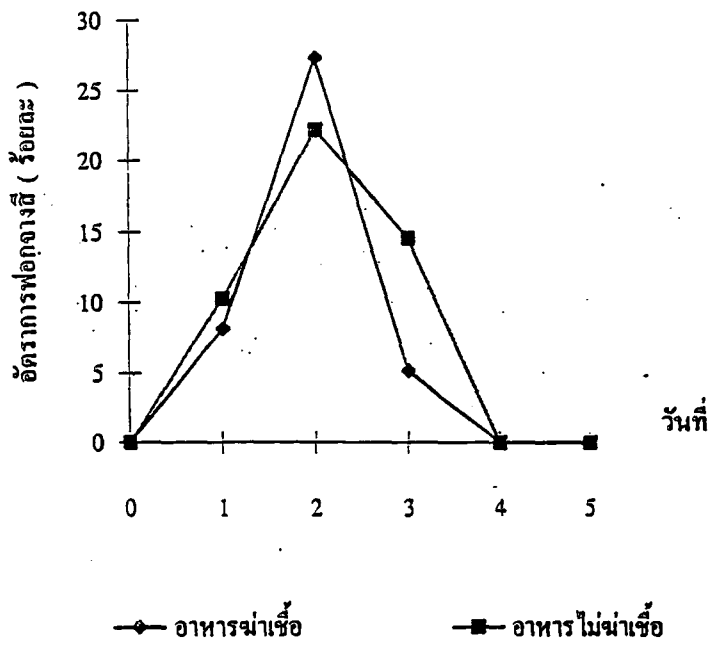
เนื่องจากน้ำกากส่าที่เข้าสู่ระบบบำบัดของ โรงงานอุตสาหกรรมมีปริมาณสูง ดังนั้นถ้าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการฟอกจางสีของน้ำกากส่าสามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกากส่าเป็นองค์ประกอบซึ่งไม่ผ่านการฆ่าเชื้อได้ จะช่วยลดความยุ่งยากในการบำบัดสีของน้ำกากส่าลงได้ และมีรายงานการทดลองของ (Maria Luz F. Paje, 1990) กล่าวว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกากส่าเป็นองค์ประกอบซึ่งไม่ผ่านการเลี้ยงเชื้อจะให้อัตราการฟอกจางสีของน้ำกากส่าสูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จึงทดลองฟอกจางสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงอัตราการฟอกจางสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อจุลินทรีย์ A 32 ในอาหารที่มีน้ำกากส่าเป็นองค์ประกอบซึ่งผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

วันที่	อัตราการฟอกจางสี (ร้อยละ)	
	อาหารฆ่าเชื้อ	อาหารไม่ฆ่าเชื้อ
1	8.12	10.27
2	27.38	22.23
3	5.15	14.56
4	0	0
5	0	0

นำค่าดังแสดงในตารางที่ 9 มาสร้างกราฟได้ซึ่งแสดงดังรูปที่ 10

จากผลการทดลองพบว่าเชื้อจุลินทรีย์รหัส A23 ซึ่งเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อจะให้อัตราการฟอกจางสีของน้ำกากส่าสูงสุดร้อยละ 27.38 ซึ่งสูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อซึ่งให้ค่าสูงสุดร้อยละ 22.23 จึงเลือกสภาวะอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อเพื่อศึกษาในขั้นต่อไป



รูปที่ 10 กราฟแสดงอัตราการฟอกจางสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อจุลินทรีย์ A 32 ในอาหารที่มีน้ำกากส่าเป็นองค์ประกอบซึ่งผ่านและไม่ผ่านการนำเชื้อ

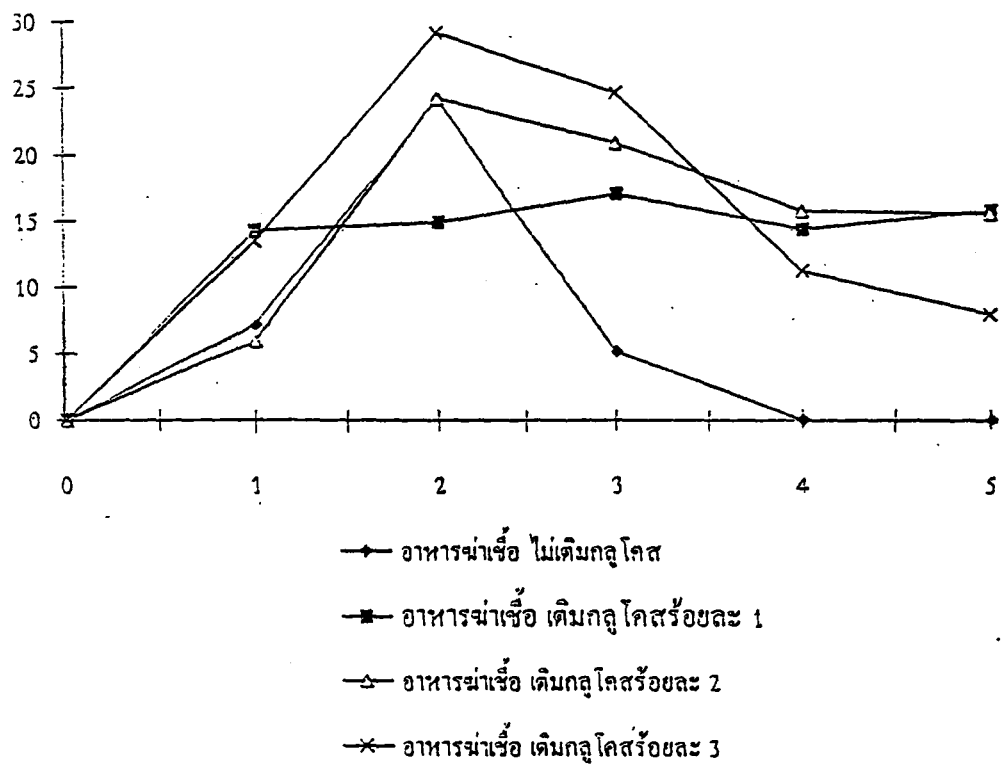
4.3.ศึกษาผลของปริมาณกลูโคสที่มีต่อประสิทธิภาพการฟอกขาวสีของ น้ำกากส่า

จากรายงานการทดลอง(Ueda และ Athasumpanna,1983)ที่กล่าวถึงปริมาณ
กลูโคสที่เติมลงไปใต้น้ำกากส่าในปริมาณร้อยละ 1, 2 และ 3 ว่าจะมีผลในการเพิ่ม
ประสิทธิภาพการฟอกขาวสีของน้ำกากส่า ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเป็นการศึกษา
ถึงปริมาณกลูโคสที่มีต่อการฟอกขาวสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32 ซึ่ง
ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงอัตราการฟอกขาวสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อจุลินทรีย์รหัส A32 ใน
อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมกลูโคสและเติมกลูโคสในปริมาณร้อยละ 1, 2 และ 3

วันที่	อัตราการฟอกขาวสี (ร้อยละ)			
	อาหาร ไม่เติมกลูโคส	อาหาร เติมกลูโคสร้อยละ 1	อาหาร เติมกลูโคสร้อยละ 2	อาหาร เติมกลูโคสร้อยละ 3
1	7.22	14.31	5.98	13.48
2	24.16	14.93	24.21	29.15
3	5.2	17.07	20.91	24.62
4	0	14.43	15.79	11.26
5	0	15.84	15.59	8

นำค่าที่ได้ดังตารางที่ 10 มาสร้างกราฟแสดงดังรูปที่ 11

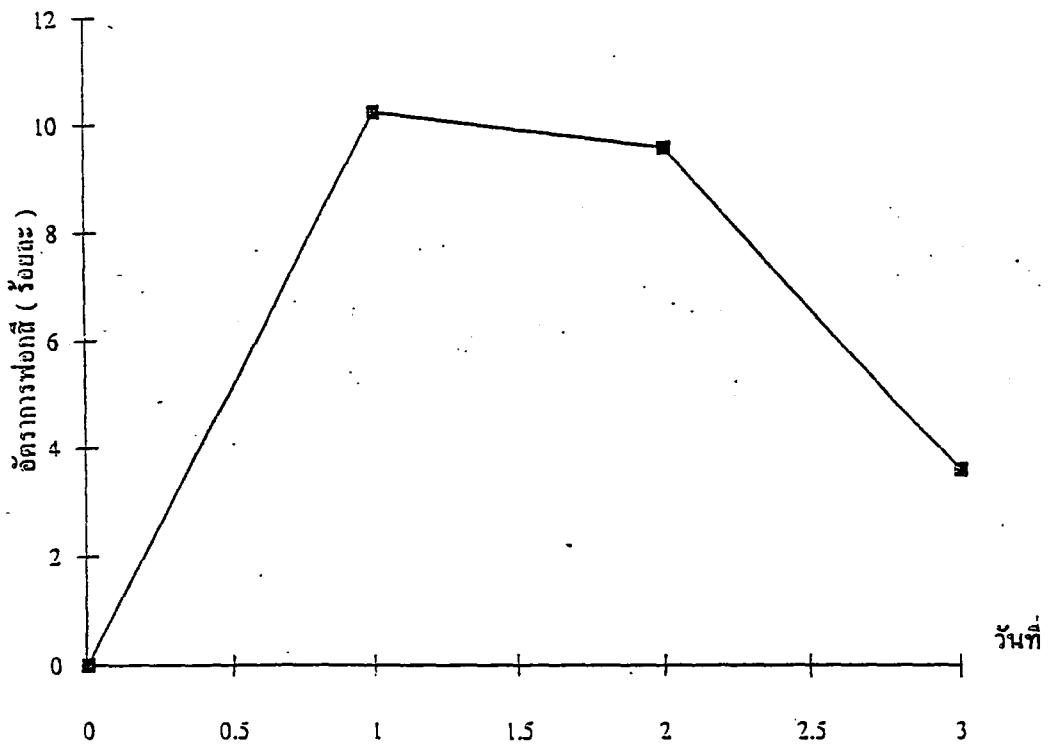


รูปที่ 11 กราฟแสดงอัตราการฟอกงานสีของน้ำกากสำโดยเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมกลูโคสและเติมกลูโคสในปริมาณร้อยละ 1, 2 และ 3

จากผลการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกขาวสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อจุลินทรีย์รहित A 32 พบว่ามีอัตราการฟอกขาวสีสูงสุดเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อและเติมกลูโคสร้อยละ 3 เป็นร้อยละ 29.15 แต่เนื่องจากการเตรียมอาหารโดยเติมกลูโคสถึงร้อยละ 3 นับเป็นความสิ้นเปลืองทางเศรษฐกิจ จึงเลือกสภาวะอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่เติมกลูโคสซึ่งให้อัตราการฟอกขาวสีสูงเป็นลำดับถัดมาคือร้อยละ 24.16 นำเพื่อมาทดลองฟอกขาวสีของน้ำกากส่าซึ่งให้ผลคงแสดงในตารางที่ 7 ตารางที่ 11 แสดงอัตราการฟอกขาวสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อจุลินทรีย์รहित A32 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่เติมกลูโคส

วันที่	อัตราการฟอกขาวสี (ร้อยละ)
1	10.25
2	9.59
3	3.61

นำค่าที่ได้ดังตารางที่ 11 มาสร้างกราฟแสดงดังรูปที่ 12



รูปที่ 12 กราฟแสดงอัตราารฟอกจากสีของน้ำกากง่าโดยเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32
ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อและไม่เติมกลูโคส

4.4 ศึกษาผลของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีต่อการฟอกจางสีของน้ำกากส่าและค่าบีโอดีและซีโอดี

จากรายงานการทดลอง(Sadahiro Ohmomo,1985)ที่กล่าวถึงการฟอกจางสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อจุลินทรีย์พบว่า การฟอกจางสีมีส่วนในการลดค่าบีโอดีและซีโอดีของน้ำกากส่าลงได้ จึงศึกษาค่าบีโอดีและซีโอดีก่อนและหลังการฟอกจางสี ซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงค่าบีโอดีและซีโอดีก่อนและหลังการฟอกจางสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32

วันที่	ค่า COD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่า BOD (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	207,548	78,400
3	129,228	46,000

4.5 การทดสอบกลไกในการฟอกสี

เพื่อศึกษาว่าส่วนใดของเซลล์ที่มีผลในการฟอกจางสีของน้ำกากส่า เนื่องจากการฟอกจางสีอาจเกิดขึ้นได้จากการทำงานของเอนไซม์หรือเกิดจากการดูดซับโดยเส้นใยของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งผลการเปรียบเทียบการฟอกจางสีของน้ำกากส่าด้วยส่วนของเหลวใสและส่วนตะกอนที่ได้จากการบดเซลล์จุลินทรีย์ A 32 แสดงดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบอัตราการฟอกจางสีของน้ำกาก โดยส่วนใสและส่วนตะกอนที่ได้จากการบดเซลล์จุลินทรีย์ A 32

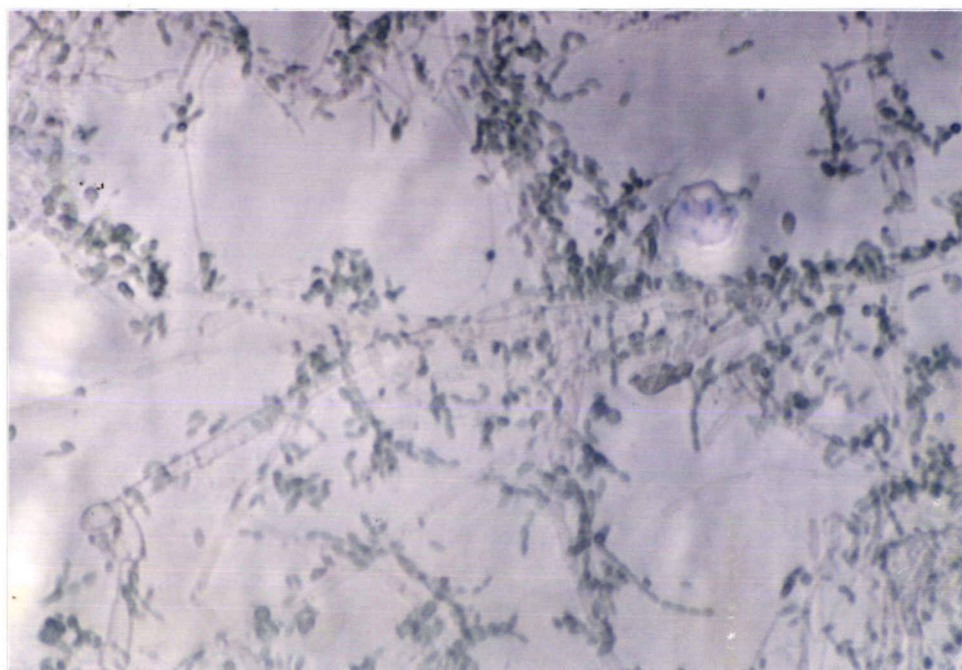
ชั่วโมงที่	อัตราการฟอกสี (ร้อยละ)	
	ส่วนที่เป็นของเหลวใส	ส่วนที่เป็นตะกอน
1	-	26
2	-	20
3	-	34

จากผลการทดลองพบว่า การฟอกจางสีของน้ำกากส่าโดยเชื้อจุลินทรีย์รหัส A32 จะเกิดขึ้นได้เมื่อนำส่วนตะกอนซึ่งบดได้จากเซลล์จุลินทรีย์มาทำการฟอกจางสีเท่านั้น

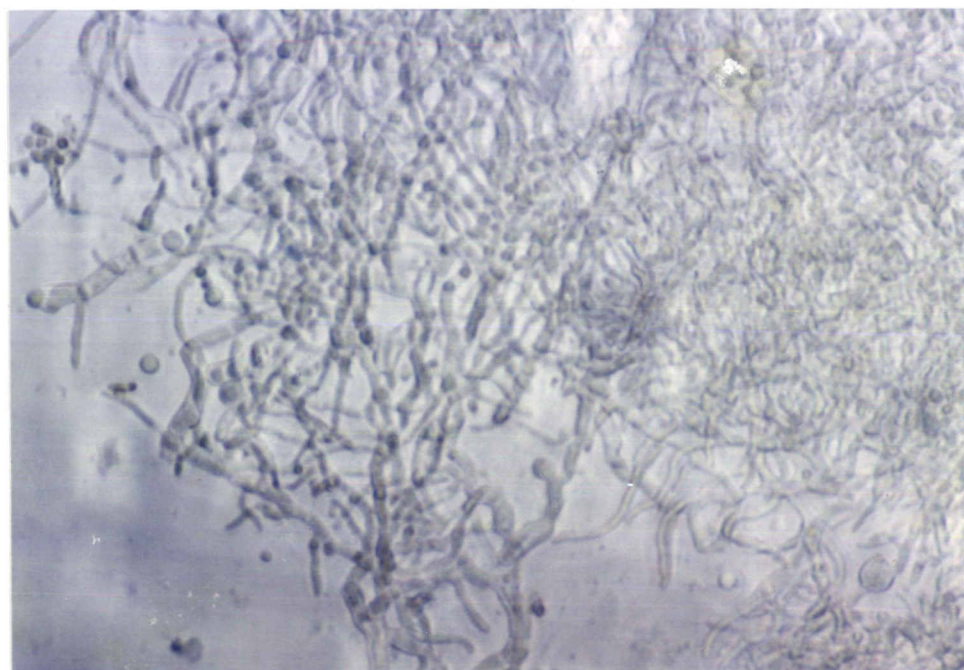
และจากการสังเกตพบว่าเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32 มีสีเทาแกมเขียวเมื่อเลี้ยงในอาหาร
เลี้ยงเชื้อโปเตโต เด็กซ์โตรส อาการ์ (potato dextrose agar) และเส้นใยมีผนังกัน มี
สีเขียวใส สปอร์มีสีเขียวลักษณะค่อนข้างรี แสดงดังรูปที่ 13 - 15



รูปที่ 13 แสดงลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ
โปเตโต เค็กซ์โตรส อาการ์



รูปที่ 14 แสดงลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32 ก่อนการฟอกจางสีของน้ำกากส่า



รูปที่ 15 แสดงลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์รหัส A 32 หลังการฟอกจางสี
ของน้ำกากส่าเป็นเวลา 3 วัน

บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ

1. จากผลการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการฟอกจางสีของน้ำกากสำจาก ตัวอย่างดิน 100 ตัวอย่าง พบว่าเชื้อรารหัส A 32 มีประสิทธิภาพในการฟอกจางสีของ น้ำกากสำสูงสุดในวันแรกของการทดลอง โดยให้อัตราการฟอกจางสีเป็นร้อยละ 10.25 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกากสำเป็นองค์ประกอบ โดยไม่มีการเติมกลูโคส จากการสังเกต พบว่าเชื้อรารหัส A 32 มีสีเทาแกมเขียวเมื่อเลี้ยงในโปเตโด เด็กซ์โตรส อาการ์ (potato dextrose agar) เส้นใยมีลักษณะเป็นปด้อย มีสีเขียวใส สปอร์มีสีเขียวลักษณะค่อนข้างรี

2. จากผลการศึกษาสภาวะของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการฟอกจางสีของน้ำ กากสำพบว่า การเติมกลูโคสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพการ ฟอกจางสี โดยพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกากสำเป็นองค์ประกอบและเติมกลูโคสร้อย ละ 3 จะให้อัตราการฟอกจางสีสูงสุดคือร้อยละ 29.15 ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่า เชื้อและไม่เติมกลูโคสจะทำให้อัตราการฟอกจางสีต่ำกว่าเล็กน้อยคือร้อยละ 24.16 แต่มี ความเป็นไปได้ที่จะใช้ในระดับอุตสาหกรรมเนื่องจากการเติมกลูโคสถึงร้อยละ 3 ใน การเตรียมอาหารเป็นความสิ้นเปลืองทางเศรษฐกิจอย่างสูงสำหรับโรงงานอุตสาหกรรม

3. จากผลการทดลองพบว่านอกจากเชื้อรารหัส A 32 จะมีศักยภาพในการฟอก จางสีของน้ำกากสำแล้ว ยังสามารถลดค่าบีโอดีและซีโอดีของน้ำกากสำได้ร้อยละ 41.32 และ 37.74 ตามลำดับ

ภาคผนวก

1. ตารางแสดงสถานที่เก็บตัวอย่างและจำนวนตัวอย่างที่เก็บ

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง
เขตลาดกระบัง	7
ลานพระบรมรูปพระจอมเกล้า สจล.	1
หอสถาบัน สจล.	3
ตึกพระเทพ สจล.	2
คณะวิทยาศาสตร์ สจล.	4
คณะครุศาสตร์ สจล.	6
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล.	4
คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ สจล.	3
คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล.	5
อ.เมือง และ อ.พระประแดง จ.สมุทรปราการ	18
อ.บางคล้า และ อ.พนม จ.ระยอง	9
อ.เมือง จ.ชลบุรี	3
อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ จ.ปราจีนบุรี	5
อ.วิเชียรบุรี และ อ.ชัยภูมิ จ.เพชรบุรี	6
เขตจอมทอง กรุงเทพฯ	1
เขตพญาไทย กรุงเทพฯ	5
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ	3
โรงงานสุรา จ.อยุธยา	6
โรงงานสุรา จ.กาญจนบุรี	2
อ.ชัยบาดาล จ. ลพบุรี	1
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ กรุงเทพฯ	2
เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ	3
อ.เมือง จ.นครราชสีมา	4

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1 (molasses wastewater medium)

เป็นอาหารแข็งที่มีกากน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ ประกอบด้วย

น้ำกากสำร่อยละ	100
โทแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ	0.1
แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ	0.1
แมกนีเซียมซัลเฟตร้อยละ	0.05
วุ้นร้อยละ	2
ความเป็นกรดเป็นด่าง	6.5

นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 (potato dextrose agar)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเก็บรักษาเชื้อรา ประกอบด้วย

มันฝรั่งร้อยละ	20
กลูโคสร้อยละ	2
วุ้นร้อยละ	2
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

เตรียมโดยหั่นมันฝรั่งเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร
ต้มจนสุก กรองเอาแต่น้ำแล้วเติมส่วนผสมดังกล่าวข้างต้นและน้ำกลั่นจนครบ 1000
มิลลิลิตร ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

4. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 3 (nutrient agar)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียและเชื้อยีสต์ ประกอบด้วย

เนื้อสกัดร้อยละ	0.3
เปปโตนร้อยละ	0.5
วุ้นร้อยละ	1.5
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร
ความเป็นกรดเป็นด่าง	6.8 - 7.0

นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 4

เป็นอาหารเหลวที่มีกากน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ วิธีการเตรียมเหมือนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1 แต่ไม่เติมผงวุ้น

6. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 5

วิธีการเตรียมเหมือนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1 แต่ไม่ต้องนำไปผ่านการฆ่าเชื้อ

7. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 6, 7 และ 8

วิธีการเตรียมเหมือนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1 แต่เติมกลูโคสร้อยละ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

8. การวัดค่าการดูดกลืนแสง

นำตัวอย่างมาทำการกรองด้วยกระดาษกรองวาทแมน หมายเลข 1 ดูดเอาส่วนน้ำใส 0.5 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยสารละลายอะซิเตดบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ 9.5 มิลลิลิตร วัดความเข้มของสีโดยนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร

การคำนวณ

$$\text{อัตราการฟอกสี (ร้อยละ)} = (A - B) \times C \times 100 / A$$

A = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างก่อนการฟอกจางสี

B = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างหลังการฟอกจางสี

C = อัตราการเจือจางตัวอย่างซึ่งมีค่า 10 เท่า

9. การหาน้ำหนักแห้ง

นำกระดาษกรองวาทแมน หมายเลข 1 มาอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้งนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่ นำตัวอย่างที่ต้องการหาน้ำหนักแห้งมากรองบนกระดาษกรองนี้และนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นและชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่

การคำนวณ

$$\text{น้ำหนักเซลล์ (กรัม)} = A - B$$

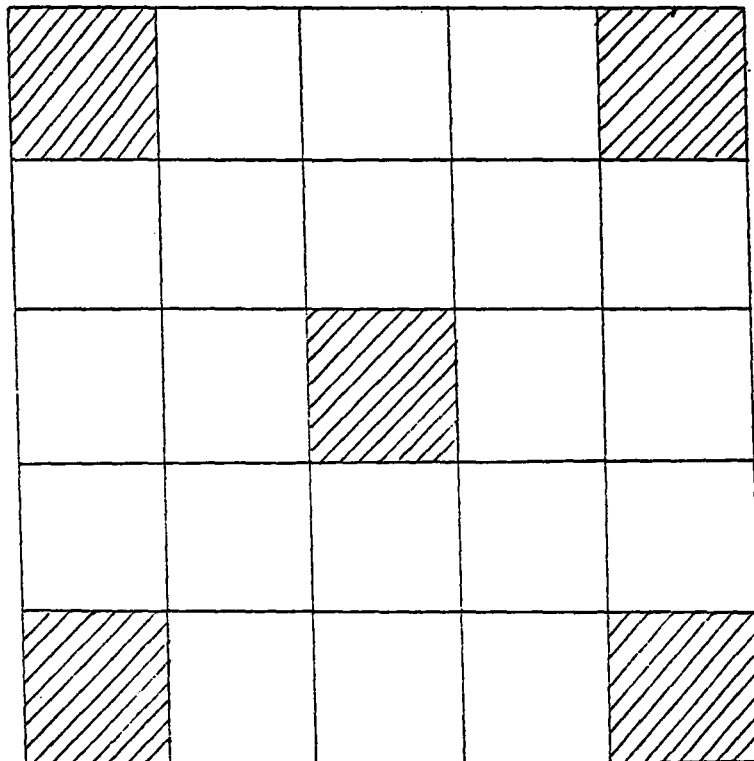
$$A = \text{น้ำหนักกระดาษกรองและเซลล์หลังการอบ}$$

$$B = \text{น้ำหนักกระดาษกรองก่อนการอบ}$$

10. การเตรียมเชื้อเริ่มต้น

เตรียมเชื้อเริ่มต้นในรูปของสารละลายสปอร์ (spore suspension) โดยนำน้ำกลั่นที่นิ่งมาเชื่อมผสม tween 80 ร้อยละ 0.01 มาละลายสปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์ ปรับความเข้มข้นของสปอร์เท่ากับ 1×10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งนับจำนวนสปอร์โดยใช้เฮมาไซโตมิเตอร์

การนับจำนวนสปอร์โดยใช้เฮมาไซโตมิเตอร์ทำได้โดยนับจำนวนสปอร์ในช่องใหญ่ 5 ช่อง ดังแสดงในรูปข้างล่างนี้



11. บีโอดี (Biochemical Oxygen Demand)

หลักการทั่วไป

การวิเคราะห์หาค่าบีโอดี เป็นการวิเคราะห์เพื่อที่จะทราบถึงปริมาณความสกปรกของน้ำ เช่นในแม่น้ำลำคลอง น้ำทิ้งจากอาคารบ้านเรือน และโรงงานอุตสาหกรรม เป็นต้น เพื่อประโยชน์ในการออกแบบระบบบำบัดควบคุมคุณภาพน้ำทิ้งและประสิทธิภาพของระบบนั้นๆ โดยคิดเปรียบเทียบในรูปของปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์

การวิเคราะห์หาค่าบีโอดี โดยทั่วไปเป็นการวัดปริมาณออกซิเจนที่ถูกใช้หมดภายในเวลา 5 วัน ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 20 องศาเซลเซียส

เนื่องจากออกซิเจนในอากาศสามารถละลายน้ำได้ในจำนวนจำกัด คือ ประมาณ 9 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ในน้ำบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ดังนั้นในน้ำเสียซึ่งมีความสกปรกเจือจางอยู่ในระดับซึ่งสมมูลพอดีกับปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ การวิเคราะห์นี้เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ในน้ำ จึงจำเป็นต้องทำให้มีสภาพที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ กล่าวคือไม่มีสารพิษ แต่มีอาหารเสริมเพียงพอสำหรับจุลินทรีย์ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เป็นต้น นอกจากนี้การย่อยสลายสารอินทรีย์ให้เป็นการบอนไดออกไซด์และน้ำ กระทำโดยจุลินทรีย์หลายชนิด จึงจำเป็นต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ชนิดต่างๆเหล่านี้้อย่างเพียงพออยู่ในตัวอย่างซึ่งทำการวิเคราะห์ ถ้าไม่มีหรือมีปริมาณน้อยไปควรเติมจุลินทรีย์ซึ่งเรียกว่า หัวเชื้อ ลงไป

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดบ่ม (incubation bottles) หรือขวดบีโอดี ขนาด 250-300 ลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งมีจุกปิดเป็นจุกแก้วปิดสนิท

ก่อนที่จะนำขวดบีโอดีมาใช้จะต้องนำขวดมาล้างให้สะอาดปราศจากอินทรีย์สารต่าง ๆ การล้างควรล้างด้วยสารละลายของกรดโครมิก (chromic acid solution) หลังจากนั้นนำขวดมาล้างด้วยน้ำสะอาด ครั้งสุดท้ายล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้งแล้วทำให้แห้ง

2. ตู้บ่ม (incubator) ชนิดใช้อากาศหรือน้ำ ซึ่งสามารถควบคุมและปรับอุณหภูมิได้เองโดยอัตโนมัติที่ 20 ± 1 องศาเซลเซียส และต้องเป็นตู้ซึ่งป้องกันไม่ให้แสงผ่านเข้าไปได้

3. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่าง ๆ เช่น บิวเรตต์ ขนาด 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร ขวด เออร์เลนเมเยอร์ ขนาด 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร กระจกวง ขนาด 1,000 ลูกบาศก์ เซนติเมตร

รีเอเจนต์

1. น้ำกลั่น จะต้องมีคุณภาพดีกลั่นจากเครื่องกลั่นที่มาด้วยแก้ว และต้องเป็นน้ำ กลั่นซึ่งมีปริมาณของทองแดงน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร และต้อง ปราศจากคลอรีน คลอรามีน ความเป็นด่างเนื่องจากไฮดรอกไซด์ อินทรีย์สารและกรด

2. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

สารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 8.5 กรัม ไดโซเดียม ไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) 21.75 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตา ไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 33.4 กรัม และแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 1.7 กรัม ในน้ำกลั่น 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารละลายนี้จะมีค่าพีเอช เท่ากับ 7.2

3. สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต

ละลายแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 22.5 กรัม ใน น้ำกลั่นแล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

4. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ละลายแอนไฮดรัสแคลเซียมคลอไรด์ (anhydrous CaCl_2) 27.5 กรัมในน้ำ กลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

5. สารละลายไอออน (III) คลอไรด์

ละลายไอออน (III) คลอไรด์เฮกซาไฮเดรต ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0.25 กรัมในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

6. สารละลายกรดและด่างเข้มข้น 1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ใช้สำหรับปรับ ตัวอย่างน้ำที่เป็นกรดและด่างให้เป็นกลาง ก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์

7. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต

ละลายแมงกานีสซัลเฟตเตตราไฮเดรต ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 480 กรัม หรือ แมงกานีสซัลเฟตไดไฮเดรต ($\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 400 กรัม หรือแมงกานีสซัลเฟตโมโน ไฮเดรต ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 364 กรัมในน้ำกลั่น กรองแล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 ลูกบาศก์ เซนติเมตร สารละลายนี้จะต้องไม่เกิดสีกับน้ำแข็งเมื่อเติมสารละลายโพแทสเซียม

ไอโอดีนในสภาพที่เป็นกรด

8. สารละลายอัลคาไล-ไอโอดีน-เอไซด์ (alkali-iodide-azide reagent) เตรียมได้ 2 วิธี

8.1 ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 500 กรัม และโซเดียมไอโอดีน (NaI) 135 กรัม (หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 700 กรัมและโพแทสเซียมไอโอดีน (KI) 150 กรัม) ในน้ำกลั่นแล้วทำให้เจือจางเป็น 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร หลังจากนั้นเติมโซเดียมเอไซด์ (NaN₃) 10 กรัม ซึ่งละลายในน้ำกลั่น จำนวน 40 ลูกบาศก์เซนติเมตร ก่อนที่จะใช้เติม ลงในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้น สารละลายนี้ไม่ควรเกิดสีกับน้ำแข็ง เมื่อทำให้เป็นกรดหรือทำให้เจือจาง

8.2 ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม ในน้ำกลั่นซึ่งคัมไคคาร์บอนไดออกไซด์ และทำให้เย็นเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้ว 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร เมื่อละลายจะเกิดความร้อนขึ้น ทิ้งไว้ให้เย็นเล็กน้อย เติมโซเดียมไอโอดีน 900 กรัม ละลายโซเดียมเอไซด์ 10 กรัม ในน้ำกลั่น 40 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วเทลงในสารละลายข้างต้น ถ้าปริมาตรของสารละลายที่เตรียมขึ้นนี้มีปริมาตรเกิน 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร เล็กน้อยอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำให้เจือจางลงอีก เนื่องจากมีความเข้มข้นของเกลือที่ละลายอยู่สูง

9. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

10. น้ำแข็ง

11. สารละลายมาตรฐานไทโอซัลเฟต 0.0021 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

12. สารละลายโซเดียมซัลไฟด์ 0.0125 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

ละลายแอนไฮดรัสโซเดียมซัลไฟด์ (Na₂SO₃) 1.575 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร (สารละลายนี้ไม่อยู่ตัวต้องเตรียมในวันที่จะใช้เท่านั้น)

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่างนำก่อนการวิเคราะห์ (pretreatment)

1.1 ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำไม่เป็นกลางจะต้องทำให้มีพีเอช 6.5 - 7.5 โดยใช้กรดซัลฟิวริก 0.5 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

1.2 ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีคลอรีนตกค้างจะต้องกำจัดออกก่อนโดยปกติคลอรีนตกค้างจะลดลงเองเมื่อตั้งตัวอย่างทิ้งไว้ 1 - 2 ชั่วโมง แต่ในตัวอย่างซึ่งมีคลอรีนตกค้างปริมาณมาก ๆ จะต้องกำจัดโดยการเติมสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ซึ่งจะทราบปริมาณว่าต้องเติมไปเท่าใด โดยนำตัวอย่างน้ำมาในปริมาณที่เหมาะสม (ระหว่าง 100 - 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร) เติมกรดแอสซิติค (1 + 1) หรือกรดซัลฟิวริก (1 + 50) 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร (เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมไฮไดรด์ 10 กรัม ในน้ำกลั่น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร) แล้วไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ 0.0125 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร โดยใช้น้ำแข็งไฮไดรด์ เป็นอินดิเคเตอร์ จากนั้นก็ทราบปริมาณของโซเดียมซัลไฟด์ที่ใช้เติมลงไปในตัวอย่าง หลังจากเติมสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ตามปริมาณที่คำนวณได้ลงในตัวอย่างแล้ว กวนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10 - 20 นาที

1.3 ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีสารพิษเจือปนอยู่ เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานชุบโลหะ จะต้องศึกษาหาทางแก้ไขเป็นกรณี ๆ ไป

2. การวิเคราะห์มี 2 วิธี

2.1 วิธีตรง (Direct Method) ใช้ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีค่าบีโอดีน้อยกว่า 7 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ทำได้ดังนี้

2.1.1 นำตัวอย่างน้ำที่ปรับปรุงแล้วตามข้อ 1 มาปรับอุณหภูมิให้ได้ประมาณ 20 องศาเซลเซียส

2.1.2 เติมอากาศให้มีออกซิเจนละลายอิ่มตัว (ใช้เวลาประมาณ 5 - 10 นาที)

2.1.3 รินตัวอย่างน้ำลงใส่ขวดบีโอดีจนเต็ม 3 ขวด ปิดจุกให้สนิท ดูให้แน่ใจว่ามีน้ำล้นที่ปากขวด นำขวดหนึ่งมาหาค่าออกซิเจนที่ละลายก่อน อีกสองขวดนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

2.1.4 หลังจาก 5 วันแล้ว นำตัวอย่างนั้นมาหาค่าออกซิเจนละลายที่เหลืออยู่

2.1.5 การคำนวณ

$$\text{ค่าบีโอดี (มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร)} = D_1 - D_2$$

เมื่อ D_1 = ค่าออกซิเจนละลายที่ไทเทรตได้ในวันแรก

D_2 = ค่าออกซิเจนละลายที่ไทเทรตได้ในวันที่ 5

2.2 วิธีทำให้เจือจาง ใช้ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีความสกปรกสูง(มีค่าบีโอดีมากกว่า 7 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร) จำเป็นจะต้องทำให้ตัวอย่างน้ำที่สกปรกเจือจางลงโดย

ใช้น้ำผสมเจือจาง (dilution water) และควรทำหลาย ๆ ความเข้มข้นอย่างน้อย 3 ความเข้มข้น

2.2.1 การเตรียมน้ำผสมเจือจาง

- นำน้ำกลั่นที่ปราศจากสารมีพิษ (กลั่นจากเครื่องกลั่นแก้ว) มาปรับอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 20 ± 1 องศาเซลเซียส

- ปรับคุณภาพให้เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ โดยเติมสารละลายฟอสเฟตบัพเฟอร์ แมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์ อย่างละ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต่อน้ำกลั่น 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร

- เติมอากาศให้มียอกซิเจนละลายอิ่มตัว

2.2.2 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ (seed)

เพื่อให้ได้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย จำเป็นจะต้องเลือกหัวเชื้อที่เหมาะสมกับตัวอย่างแต่ละชนิด โดยทั่วไปใช้น้ำจากส้วมหรือน้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อมาก่อนเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์

2.2.3 การผสมเจือจาง เนื่องจากการวิเคราะห์ค่าบีโอดีอาศัยปฏิกิริยาทางชีวเคมี โดยมีจุลินทรีย์เป็นตัวกลางในการย่อยสลาย สภาพแวดล้อมจะมีผลต่อการวิเคราะห์มาก ทำให้ค่าบีโอดีที่ได้มีความผันแปรสูง การวิเคราะห์ตัวอย่างหนึ่ง ๆ จึงมักจะทำการผสมเจือจางอาจประมาณจากชนิดของตัวอย่าง หรือค่าความเข้มข้นโดยประมาณ เมื่อได้อัตราส่วนที่เหมาะสมแล้วจึงทำการผสมเจือจางดังนี้

- ค่อย ๆ รินน้ำผสมเจือจาง ลงในกระบอกตวง (ขนาด 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร) โดยให้น้ำค่อย ๆ ไหลลงตามข้างกระบอกตวง

- เติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ ลงในกระบอกตวง 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร (ในกรณีที่จำเป็นต้องเติม)

- เติมตัวอย่างน้ำตามส่วนที่คำนวณได้

- เติมน้ำผสมเจือจางลงจนครบ 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

- กวนให้เข้ากันโดยใช้แท่งแก้วเสียบจุกยางไว้ที่ปลายชักขึ้นลงเบา ๆ ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ

- ค่อย ๆ รินตัวอย่างที่ผสมเข้ากันดีแล้วนี้ลงในขวดบีโอดีที่แห้งและสะอาดจนเต็ม 3 ขวด ปิดจุกให้สนิท ขวดหนึ่งนำไปวิเคราะห์ หากค่าออกซิเจนละลายวันแรกอีกสองขวดนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ก่อนนำไป

บ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ให้ตรวจดูว่ามีน้ำหล่อที่ปากขวด และควรตรวจทุก วันอย่าให้แห้ง (ถ้าแห้งให้เติมด้วยน้ำผสมเจือจาง)

2.2.4 การบ่ม

หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในที่มีครบ 5 วันแล้ว นำมาหาค่า ออกซิเจนละลาย ตัวอย่างที่ใช้ได้จะต้องมีค่าออกซิเจนละลายเหลืออย่างน้อย 1 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และมีการใช้ออกซิเจนไปอย่างน้อย 2 มิลลิกรัม ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

2.2.5 การแก้ค่าเนื่องจากการเติมหัวเชื้อ (seed correction)

ถ้ามีการใส่หัวเชื้อ จะต้องนำหัวเชื้อมาทำให้เจือจาง แล้วนำไปบ่มเช่นเดียวกับ ตัวอย่างน้ำ หลังจากนำน้ำมาหาค่าการใช้ออกซิเจนหลังจาก 5 วัน เลือกอันที่มีการใช้ออกซิเจนระหว่าง ร้อยละ 40 - 70

2.2.6 การตรวจสอบคุณภาพน้ำผสมเจือจาง (dilution water check)

เติมน้ำผสมเจือจางที่ยังไม่ได้ใส่หัวเชื้อลงในขวดบีโอดี 3 ขวด ขวดหนึ่งนำไปหาค่าออกซิเจนละลายก่อน อีก 2 ขวด ปิดจุกนำไปบ่ม หลังจากนั้นนำมาหาค่าการใช้ออกซิเจนไปหลังจากบ่ม 5 วัน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และไม่ต้องนำไปใช้ในการคำนวณผลต่างของค่าออกซิเจนละลายก่อนและหลัง 5 วัน ที่ 20 องศาเซลเซียส ไม่ควรเกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และยิ่งดีถ้าไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

2.2.7 การตรวจสอบโดยใช้กลูโคส - กรดกลูตามิก (glucose glutamic acid check)

เนื่องจากน้ำกลั่นที่ใช้ อาจจะมีสารเป็นพิษเจือปนอยู่โดยเฉพาะทองแดง ซึ่งจะ ทำให้หัวเชื้อมีประสิทธิภาพลดลง มีผลทำให้ค่าบีโอดีที่ได้ต่ำกว่าความเป็นจริง การตรวจสอบโดยใช้สารประกอบอินทรีย์บริสุทธิ์ที่ทราบค่าบีโอดีแล้ว ซึ่งได้แก่ กลูโคสและกรดกลูตามิก กลูโคสออกซิไดส์ได้ง่าย และอัตราการออกซิไดส์ไม่คงที่ ใช้ได้กับหัวเชื้อทั่ว ๆ ไป เมื่อใช้ผสมกับกรดกลูตามิกทำให้อัตราการออกซิไดส์จะคงที่ และมีสมบัติคล้ายน้ำเสียจากชุมชน

วิธีการตรวจสอบการวิเคราะห์ ทำโดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีกลูโคสและ กรดกลูตามิก ซึ่งอบแห้งที่ 103 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง อย่างละ 150 มิลลิกรัม ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นลูดสารละลายที่เตรียมมา 5 ลูกบาศก์เซนติเมตรใส่ขวด

บีโอดีจำนวน 3 ขวด เติมน้ำผสมเจือจางที่ใส่หัวเชื้อแล้วลงไปจนเต็ม ปิดจุกให้แน่น
ขวดหนึ่งนำไปไทเทรตหาค่าออกซิเจนละลายวันแรก อีกสองขวดนำไปบ่มพร้อมกับตัว
อย่างน้ำ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน จากนั้นนำมาหาค่าออกซิเจนที่ใช้ไป
(oxygen depletion) และค่าบีโอดีนี้จะขึ้นอยู่กับชนิดของหัวเชื้อที่ใส่ลงไป

2.2.8 การหาค่าออกซิเจนละลาย

ทำการหาค่าออกซิเจนละลายในวันแรก และวันหลังจากบ่มแล้ว 5 วัน

2.2.9 การคำนวณ

ค่า บีโอดี เมื่อไม่ใส่หัวเชื้อ

$$\text{บีโอดี (มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร)} = (D_1 - D_2) / P$$

ค่า บีโอดี เมื่อใส่หัวเชื้อ

$$\text{บีโอดี (มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร)} = ((D_1 - D_2) - (B_1 - B_2) f) / P$$

12. ซีโอดี (Chemical oxygen demand)

หลักการทั่วไป

การวิเคราะห์หาค่าซีโอดี เป็นการวัดความสกปรกของน้ำเสีย โดยคิดเปรียบ
เทียบในรูปของปริมาณออกซิเจนที่ต้องการใช้ในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ โดยใช้สาร
เคมีซึ่งมีอำนาจในการออกซิไดส์สูงในสารละลายที่เป็นกรด

การวิเคราะห์ซีโอดี โดยวิธีรีฟลักซ์แบบเปิด (Open Reflux)

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือที่ใช้ในการรีฟลักซ์ (reflux apparatus) ประกอบด้วย

1. ขวดเออร์เลนเมเยอร์ ขนาดความจุ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือขวดก้นแบน
(flat-bottom flask) ชนิดที่มีปากแบบกรวยยอที่ด้านใน ขนาด 24/40
2. เครื่องควบแน่น (condenser) ซึ่งมีแจ็กเก็ต (jacket) ขนาด 300 มิลลิเมตร
มีกรวยยอที่ด้านนอก ขนาด 24/40
3. เตาชนิด hot plate หรือ heating mantle ซึ่งสามารถให้กำลังไฟฟ้าอย่าง
น้อย 1.4 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร ที่ผิวหน้าเตา

รีเอเจนต์

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (standard potassium
dichromate solution) เข้มข้น 0.0417 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (มาตรฐานปฐมภูมิ) ซึ่งอบให้แห้งที่ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หนัก 12.259 กรัม ลงในน้ำกลั่น ทำให้เจือจางเป็น 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

ละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 22 กรัม ลงในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 ขวด ซึ่งมีน้ำหนัก 4.0 กิโลกรัม (ต้องให้เวลาในการละลาย 1-2 วัน)

3. สารละลายมาตรฐานไอออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟตไทแทนท์ (standard ferrous ammonium sulfate titrant) เข้มข้น 0.25 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

ละลายไอออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต [$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$] ชนิดเออาร์ (analytical grade crystals) 98 กรัม ในน้ำกลั่น เดิมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำให้เย็นแล้วเจือจางเป็น 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

สารละลายนี้จะต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอน ด้วยสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต

การหาความเข้มข้นของสารละลายไอออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต

นำสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 10.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร มาเติมน้ำ 90 ลูกบาศก์เซนติเมตร เดิมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น จำนวน 30 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทั้งให้เย็นแล้วนำมาโคเดรตกับ ไอออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้เฟอโรอิน (ferroin) จำนวน 0.10-0.15 ลูกบาศก์เซนติเมตร (2-3 หยด) เป็นอินดิเคเตอร์

การคำนวณ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟตเป็น
โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร = $\frac{\text{ลูกบาศก์เซนติเมตร } 0.0417 \text{ M } \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \times 0.25}{\text{ลูกบาศก์เซนติเมตร } \text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2}$

4. สารละลายเฟอโรอินอินดิเคเตอร์ (Ferroin indicator solution)

ละลาย 1,10-ฟีเนลโทรลีนโมโนไฮเดรต [1,10-phenanthroline monohydrate] ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{H}_2 \cdot \text{N}_2\text{O}$) 1.485 กรัม และไอออน (II) ซัลเฟตเฮปต้าไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.695 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำให้เจือจางเป็น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

5. เมอร์คิวรี (II) ซัลเฟต ชนิดเออาร์ (mercury (II) sulfate, analytical grade crystals, $HgSO_4$)

6. กรดซัลฟามิก ชนิด เออาร์ (sulfamic acid, analytical grade)

หมายเหตุ : สารในข้อ 6 ใช้ในการกำจัดไนไตรต์ (nitrite) เนื่องจากไนไตรต์-ไนโตรเจนจะมีค่าซีไอดี 1.1 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิกรัมของไนไตรต์-ไนโตรเจน ดังนั้นจึงควรเติมกรดซัลฟามิกจำนวน 10 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิกรัมของไนไตรต์-ไนโตรเจนที่มีในขวดรีฟลักซ์ซึ่งอาจเติมกรดซัลฟามิก จำนวน 0.12 กรัม ลงในสารละลายโคโครเมต จำนวน 1000 ลูกบาศก์เซนติเมตร จะสามารถกำจัดไนไตรต์ที่มีอยู่ในตัวอย่างจำนวน 20 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ในกรณีที่มีความเข้มข้นของไนไตรต์-ไนโตรเจนมากกว่า 6 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร จะต้องทำให้ตัวอย่างเจือจางก่อน

การที่เราเติมกรดซัลฟามิกลงในสารละลายมาตรฐานโคโครเมตนี้ เป็นการสะควกและไม่ทำให้ค่าซีไอดีผิดไป เนื่องจากต้องทำ " แบลงค์ " จากน้ำกลั่นอยู่แล้ว

7. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโครเจนพาทาเลต

ละลายโพแทสเซียมไฮโครเจนพาทาเลต ($HOOC C_6H_4 COOK$) ซึ่งอบที่ 120 องศาเซลเซียส จนมีน้ำหนักคงที่ จำนวน 425 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นเจือจางจนได้ปริมาตร 1000 ลูกบาศก์เซนติเมตร

วิธีวิเคราะห์

1. ใส่เมอร์คิวรี (II) ซัลเฟต ประมาณ 0.4 กรัม ลงในขวดรีฟลักซ์ เติมตัวอย่างน้ำหรือตัวอย่างน้ำที่ทำให้เจือจางแล้วลงไป 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร เขย่าให้เข้ากัน เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมโคโครเมต จำนวน 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วค่อยๆเติมกรดซัลฟามิกเข้มข้น ซึ่งมีซิลเวอร์ซัลเฟตเจือปนอยู่ จำนวน 30 ลูกบาศก์เซนติเมตร ลงไป ใส่ลูกแก้ว (glass beads) ลงไป 5-6 เม็ด เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเดือดอย่างรุนแรง

หมายเหตุ : ก่อนที่จะทำการรีฟลักซ์จะต้องผสมสารละลายในขวดให้เข้ากันเสียก่อน มิฉะนั้นเมื่อสารละลายในส่วนกันขวดเริ่มร้อนอาจทำให้ส่วนผสมพุ่งออกมาจากเครื่องควบแน่น

การใช้เมอร์คิวรี (II) ซัลเฟต จำนวน 0.4 กรัม เพียงพอที่จะทำปฏิกิริยากับคลอไรด์ในตัวอย่างน้ำปกติ ถ้ามีคลอไรด์มากกว่านี้จะต้องเติมเมอร์คิวรี (II) ซัลเฟตลงไปอีกเพื่อให้อัตราส่วนโดยน้ำหนักของ $HgSO_4 : Cl^-$ เป็น 10 : 1 และ

ถ้ามีตะกอนเกิดขึ้นเล็กน้อยหลังจากเติมเมอร์คิวรี (II) ซัลเฟต ลงไปแล้วก็ไม่มีผล
กระทบกระเทือนต่อการวิเคราะห์แต่อย่างใด

2. นำขบวนการรีฟลักซ์ต่อเข้ากับเครื่องควบแน่น ใช้บีกเกอร์เล็กๆ ปิดปลายด้านบน
เปิดของเครื่องควบแน่น เพื่อป้องกันสารต่างๆ จากภายนอกหลุดเข้าไป แล้วรี
ฟลักซ์หรือต้มให้เดือดเป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง ทั้งให้เย็น ล้างเครื่องควบแน่นด้วยน้ำ
กลั่นก่อนที่จะถอดเครื่องควบแน่นออกจากเครื่องรีฟลักซ์

3. ทำส่วนผสมให้เจือจางลงด้วยน้ำกลั่น จนมีปริมาตรประมาณ 150 ลูกบาศก์
เซนติเมตร ทำให้เย็นลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วจึงไทเทรตหาปริมาณไอโครเมตที่มาก
เกินพอด้วยสารละลายมาตรฐานไอออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้เฟอร์โรนเป็น
อินดิเคเตอร์ ซึ่งโดยทั่วไปใช้ประมาณ 2-3 หยด หรือ 0.10-0.15 ลูกบาศก์เซนติเมตร
ถึงแม้ว่าปริมาณอินดิเคเตอร์ที่ใช้จะไม่มีความสำคัญมากนัก แต่ควรใช้เท่าๆกันทุกๆตัว
อย่าง การเปลี่ยนสีของส่วนผสมเมื่อถึงจุดยุติจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเขียวไปเป็นน้ำตาล
แดง ควรจะใช้เมื่อตอนที่สีเริ่มเปลี่ยนไปเป็นสีน้ำตาลแดงทันที ถึงแม้ว่าเมื่อตั้งทิ้งไว้
สักครู่สีนั้นอาจเปลี่ยนกลับไปเป็นสีน้ำเงินเขียวใหม่ก็ตาม

4. การทำแบลนด์ควรทำไปพร้อมกับตัวอย่าง ใช้น้ำกลั่น 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร
แทนตัวอย่าง เคมีรีเอเจนต์ต่างๆที่ใช้ และทำการรีฟลักซ์เช่นเดียวกับตัวอย่างทุก
ประการ

ในกรณีที่ใช้ปริมาณตัวอย่างต่างกัน อัตราส่วนของสารละลายอื่นๆจะต้อง
เปลี่ยนแปลงด้วย

ในกรณีที่ต้องการตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่ำ (dilute sample) วิธีการวิเคราะห์
ก็ทำเช่นเดียวกันกับข้อ 1 - 4 ตามวิธีวิเคราะห์จะเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย
มาตรฐานกล่าวคือ

1. ใช้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไอโครเมตให้เจือจางลงเป็น 0.00417
โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

2. การไตเตรตหลังจากรีฟลักซ์แล้ว ใช้สารละลายมาตรฐานไอออน (II) แอม
โมเนียมซัลเฟตที่เจือจางลงเป็น 0.025 โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตรแทน

ในกรณีนี้จะต้องรักษาอัตราส่วนระหว่างกรดซัลฟิวริกเข้มข้นกับตัวอย่างผสมกับ
ไอโครเมต ให้เป็นอัตราส่วน 1 : 1 เพราะถ้าใช้กรดมากหรือน้อยเกินไปประสิทธิภาพ
ในการออกซิไดซ์จะลดลง

การวิเคราะห์ตัวอย่างมาตรฐาน

เพื่อที่จะตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์และคุณภาพของรีเอเจนต์ที่ใช้ โดยตรวจสอบกับสารละลายกลูโคสหรือโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (potassium hydrogen phthalate) ซึ่งในทางทฤษฎีเมื่อสารละลายกลูโคส จำนวน 468.6 มิลลิกรัมในน้ำกลั่น และทำให้เจือจางเป็น 1000 ลูกบาศก์เซนติเมตร จะให้ค่าซีไอดี 500 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร (กลูโคส 1 กรัมมีค่าซีไอดี 1.067 กรัม) ส่วนโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลตซึ่งอบที่ 120 องศาเซลเซียส จนมีน้ำหนักคงที่จำนวน 425 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น และทำให้เจือจางเป็น 1000 ลูกบาศก์เซนติเมตรจะให้ค่าซีไอดี 500 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร (โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต 1 กรัมมีค่าซีไอดี 1.176 กรัม)

การคำนวณ

$$\text{ซีไอดี (มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร)} = \frac{(A - B) \times M \times 8,000}{\text{ลูกบาศก์เซนติเมตรของตัวอย่าง}}$$

A = ลูกบาศก์เซนติเมตรของไอออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งใช้ไทเทรตสำหรับแบลงค์

B = ลูกบาศก์เซนติเมตรของไอออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งใช้ไทเทรตสำหรับตัวอย่างน้ำ

M = โมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตรของไอออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต

13. สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ ความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 5

1. สารละลายกรดแอสติก 0.1 โมลาร์

ละลาย 116 มิลลิลิตรกรดแอสติกในน้ำกลั่น 1 ลิตร

2. สารละลายโซเดียมอะซิเตต 0.1 โมลาร์

ละลาย 16.4 กรัมโซเดียมอะซิเตตในน้ำกลั่น 1 ลิตร

นำสารละลายในข้อ 1. และข้อ 2. ผสมกันในอัตราส่วน 14.8 ต่อ 35.2

เอกสารอ้างอิง

- สกุณฉวี กุณชาติยะ การเลี้ยงจุลินทรีย์ในน้ำกากส่า วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต ภาค
วิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2525 .
- เสริมพล รัตสุข และไชยยุทธ กลิ่นสุคนธ์ การกำจัดน้ำจากโรงงานอุตสาหกรรมและ
แหล่งชุมชน สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
2524 : 280-284
- Atthasampunna, P. and Ohmomo, S. Microbial Decolorization of Waste
Liquor Attached to Molasses Fermentation Annual Report of ICME
4(1981) : 364
- Hayashida, S. , Feng ,D.D and Hongo, M. Biol . Chem 38 , 2001 (1974).
- Maria Luz F. Paje , Masatoshi matsumura and Hiroshi kataoka . Microbial
Decolorization of Molasses Wastewater. (1990)
- Ohmomo S., Y. Kaneko. , Sirianuntapiboon S., Somchai. P., Atthasampunn
and I. Nakamura ., Agric. Biol. Chem. 49. 2551 (1985) .
- Sirianuntapiboon S., Somchai P., Ohmomo S. and Atthasampunna P., Agric. Biol.
Chem. , 52 (2), 387- 392, 1988.
- Tozawa, Y., Ohmomo S. and Ueda, K, Microbial Decolorization of Waste
from Fermentation of Molasses. Annual Report of Cooperative
Research and Development in Microbial Engineering. Vol. 2, (1979) :
316
- Ueda, K. and Atthasampunna, P. Microbial decolorization of Molasses
Fermentation Residue. Annual Report of ICME. 6 (1983) : 288
- Underkofler, L.A. and Hickley, J, Alcohol Fermentation of Molasses
Industrial Fermentation. Chemical Publishing Company, New York,
1954 .
- Veronica. P. Migo, Matsumura, Ernesto J. Del Rosario, and Hiroshi K.
Decolorization of Molasses Wastewater. National Institute of
Biotechnology and Applied Microbiology (1992)

Watanabe, Y., Sugi, R., Tanaka, Y. and Hayashida, S. Enzymation of
Melanoidin by *Coriolus* sp. No. 20. *Agric. Biol. Chem.*, 46 (60),
(1992) : 1623-1630 .