

การหาสภาวะที่เหมาะสมของการบำบัดสี Reactive Red 141

โดย *Lentinus tigrinus* AP8

Optimization of Reactive Red 141 Treatment by

Lentinus tigrinus AP8

ปริยห์ทัย อีรางกูร, ปิยวรรณ กลมเกลี้ยง, อีระชัย ธนาพันธ์

และนिरมล ศากยวงศ์*

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์วิจัยสี ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

พนิดา อุทะกุล

ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย

ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Prehatai Teerangkul, Piyawan Klomklieng, Theerachai Thanananta

and Niramol Sakkayawong*

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,

Rangsit Centre, Khlong Nueng, Klong Luang, Pathum Thani 12120

Panida Unakul

National Center For Genetic Engineering and Biotechnology, Thailand Science Park,

Phahonyothin Road, Khlong Nueng, Klong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการบำบัดสี Reactive Red 141 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยรา *Lentinus tigrinus* AP8 โดยใช้สูตรอาหาร minimal medium ที่ประกอบด้วย KH_2PO_4 1.5 กรัมต่อลิตร KCl 0.5 กรัมต่อลิตร MgSO_4 0.5 กรัมต่อลิตร และ FeSO_4 0.01 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อรา *L. tigrinus* AP8 ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจน ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8 และอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เราสามารถบำบัดสีอย่างสมบูรณ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง และมีอัตราการบำบัดสีเฉลี่ย 518.54 ไมโครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 3.70 กรัมต่อลิตร เมื่อนำผลผลิตที่ได้หลังการบำบัดมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเปลี่ยนเป็น 525 นาโนเมตร และเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Fourier transform infrared (FT-IR) พบว่าหลังการบำบัดมีแนวโน้มย่อยสลายสีให้มีโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้มีแนวโน้มในการใช้รา *L. tigrinus* AP8 สามารถบำบัดน้ำเสียสีจากโรงงานฟอกย้อมได้ แต่ค่า COD ที่ได้หลังการบำบัดยังมีค่าเกินกว่าค่า COD ของมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม

คำสำคัญ : สภาวะการบำบัดสี; สิริแอคทีฟ; *Lentinus*

Abstract

This research studied the optimal condition for RR 141 dye treatment by *Lentinus tigrinus* AP8. The minimal medium had been used in this study consisting of 1.5 g/l of KH_2PO_4 , 0.5 g/l of KCl, 0.5 g/l of MgSO_4 and 0.01 g/l of FeSO_4 . The results showed that the optimal condition for RR 141 decolorization were obtained in media containing glucose and ammonium chloride as carbon and nitrogen sources, respectively, at 30 °C and pH 8. *L. tigrinus* AP8 had a complete 100 % treated efficiency within 48 hours at the average decolorization rate of 518.54 $\mu\text{g.l}^{-1}/\text{h}$ and 3.70 g/l cell dry weight. When the final product was analyzed by UV-visible spectrophotometer, it resulted that the maximum absorbent wavelength had changed to 525 nm. Moreover, when using a Fourier transform infrared (FT-IR) to analyze function group of RR 141 dye structure after treatment, it showed that fungus had a tendency to change the molecule structure of color. This stain trend to treat dye in textile waste-water from dyeing plant but COD reduction value exceeded COD of industrial effluent standards.

Keywords: decolorization condition; reactive dye; *Lentinus*

1. คำนำ

อุตสาหกรรมฟอกย้อมเป็นอุตสาหกรรมที่มีบทบาทสำคัญต่อประเทศไทยอย่างมาก แต่ในขณะเดียวกันอุตสาหกรรมฟอกย้อมยังเป็นแหล่งที่ก่อให้เกิดมลพิษทางน้ำ (Eichlerova *et al.*, 2006) โดยสีย้อมผ้าประเภทรีแอคทีฟมีโครงสร้างทางเคมีขนาดใหญ่ที่ซับซ้อน มีสมบัติละลายน้ำ ทำจัดและย่อยสลายได้ยาก อีกทั้งมีความเป็นพิษโดยตรงต่อสิ่งมีชีวิต เช่น สารประกอบเชิงซ้อนอะโรมาติก ได้แก่ สีที่เป็นสารประกอบในกลุ่มอะโซ (ประกอบด้วยหมู่ $-\text{N}=\text{N}-$) หรือสารประกอบไนโตร (nitro-compound) ซึ่งอาจเปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูปเอมีนที่เป็นพิษได้ (toxic amines) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง carcinogen และเมื่อปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติจะทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนของสีในแหล่งน้ำก่อให้เกิดมลพิษทางน้ำส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม สีย้อมเป็นสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ง่าย แต่ยากต่อ

การย่อยสลาย เมื่อปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ทำให้ออกซิเจนละลายลดลง ก่อให้เกิดปัญหาน้ำเน่าเสียตามมา (กัณห์ริย์, 2547) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมฟอกย้อมก่อนปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ทั้งนี้เพื่อลดความพิษและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากการกำจัดสีของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมฟอกย้อมด้วยวิธีการทางกายภาพและทางเคมีมีข้อจำกัด คือ ค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูง มีสลดจ์เคมี และสารที่มีความเป็นพิษเกิดขึ้นในปริมาณมาก ดังนั้นการบำบัดทางชีวภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมฟอกย้อม โดยอาศัยกิจกรรมการทำงานของจุลินทรีย์จำพวกยีสต์ รา และแบคทีเรีย ที่มีรายงานถึงการย่อยสลายโครงสร้างของสีย้อมรีแอคทีฟกลุ่มอะโซบริเวณหมู่โครโมฟอร์และลดความเป็นพิษของสี (Lucas *et al.*, 2006)

รามิบทบาทเป็นผู้ย่อยสลายในระบบนิเวศ และมีความสามารถในการย่อยสลายสารพิษที่ย่อยสลายยาก เช่น สารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (PAHs) ราส่วนใหญ่ดำรงชีวิตแบบย่อยสลายและดูดซึมสารอาหารจากซากสิ่งมีชีวิต โดยสร้างเอนไซม์แล้วปลดปล่อยออกภายนอกเซลล์ (extracellular enzyme) เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่ให้เล็กลง แล้วดูดซึมเข้าสู่เซลล์หรือเส้นใย และนำไปใช้ในกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ รากลุ่ม *Lentinus* ถูกจัดอยู่ในประเภทของราขาว (white rot fungi) ซึ่งเป็นราที่มีระบบของเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารประกอบลิกนินหรือลิกโนเซลลูโลส (Mester *et al.*, 2001; Wesenberg *et al.*, 2003; Levin *et al.*, 2004) ซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลที่ใหญ่และซับซ้อนได้ จึงทำให้ราเหล่านี้สามารถเจริญบนวัสดุประเภทไม้หรือวัสดุที่มีลิกนินหรือลิกโนเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบได้ดี ระบบเอนไซม์นี้เรียกว่าลิกนินโอไลติกเอนไซม์ (ligninolytic enzyme) เอนไซม์เหล่านี้มีบทบาทในการย่อยสลายโมเลกุลสีย้อมได้ โดยขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น สารอาหารที่มีอัตราส่วนของคาร์บอนและไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ สภาพแวดล้อม ความชื้น ความเป็นกรดต่าง และอุณหภูมิที่เหมาะสม เพื่อเป็นการกระตุ้นการทำงานของระบบเอนไซม์ในการย่อยสลายโมเลกุลของสีย้อม (Gahlout *et al.*, 2013) นอกจากนี้มีการศึกษาเปรียบเทียบชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน เช่น กลูโคส ซูโครส แป้ง มอลโตส ฟรุคโตส และกลีเซอรอล รวมทั้งแหล่งไนโตรเจน เช่น โซเดียมไนเตรต ยูเรีย แอมโมเนียมคาร์บอเนต แอมโมเนียมคลอไรด์ เพปไทน์ และแอมโมเนียมออกซาลेट และหาสภาวะการบำบัดสี Reactive blue 220 (RB220) ที่เหมาะสมโดยใช้ *Lentinus crinitus* ซึ่งพบว่าเมื่อใช้กลูโคสและแอมโมเนียมออกซาลेटที่มีความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ใส่ลงใน

อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อบำบัดสี RB220 ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่าง 5.5 สามารถให้ประสิทธิภาพการบำบัดสีสูงสุด (Niebisich *et al.*, 2010)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาเกี่ยวกับการใช้ *Lentinus tigrinus* AP8 ในการบำบัดน้ำสี RR 141 และน้ำเสียสีย้อม โดยศึกษาผลของสารอาหาร ได้แก่ แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน สภาพความเป็นกรดต่าง และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการบำบัดสี ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อลดความเป็นพิษของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมฟอกย้อมในการบำบัดก่อนปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม ทั้งนี้เพื่อลดผลกระทบทางสิ่งแวดล้อม

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียม *Lentinus tigrinus* AP8

เพาะเลี้ยงรา *L. tigrinus* AP8 โดยเชื้อเส้นใยลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7-10 วันเมื่อราเจริญบนอาหารทำการเพิ่มจำนวนทุก ๆ 7-10 วัน จากนั้นนำราที่อายุ 7-10 วัน มาตัดขนาด 1x1 มิลลิเมตร ทำให้ละเอียดโดยตัดให้เป็นชิ้นขนาดประมาณ 0.1x0.1 มิลลิเมตร ใส่ลงอาหาร potato dextrose broth (PDB) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จะได้หัวเชื้อนำไปใช้ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม โดยเติมหัวเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในอาหาร minimal medium ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่ประกอบด้วย NaNO_3 6 กรัมต่อลิตร KH_2PO_4 1.5 กรัมต่อลิตร KCl 0.5 กรัมต่อลิตร MgSO_4 0.5 กรัมต่อลิตร FeSO_4 0.01 กรัมต่อลิตร ผสมสี RR 141 ให้มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการบำบัดสี RR 141 โดยใช้ *Lentinus tigrinus* AP8

2.2.1 แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสม

เตรียมอาหาร minimal medium และเติมแหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ตามสูตรอาหาร minimal medium ได้แก่ กลูโคส ซูโครส และแป้ง ผสมสี RR 141 ให้มีความเข้มข้นตั้งต้นเป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) เท่ากับ 6.8 ทำอย่างละ 3 ข้าง โดยเปรียบเทียบกับสถานะควบคุม เติมหิวเชื้อรา ปริมาตร 5 มิลลิตร ลงในอาหาร minimal medium ปริมาตร 50 มิลลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เก็บผลการศึกษาทุกวัน โดยนำส่วนใสไปหมუნเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงยูวีวิสิเบิล (UV-visible spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-1601 ประเทศญี่ปุ่น) เมื่อได้แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมแล้วจะหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมโดยเติมแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม 10 กรัมต่อลิตร ลงใน minimal medium แล้วเติมแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 6 กรัมต่อลิตร ตามสูตรอาหาร minimal medium ได้แก่ KNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และ NH_4Cl โดยศึกษาเช่นเดียวกับการหาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม (Niebisch et al., 2010)

2.2.2 ความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิที่เหมาะสม

เตรียมอาหาร minimal medium ที่เติมแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสม ผสมสี RR 141 ให้มีความเข้มข้นตั้งต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดต่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ 8, 9, 10 และ 11 ทำอย่างละ 3 ข้าง โดยเปรียบเทียบกับสถานะควบคุม เติมหิวเชื้อราปริมาตร 5 มิลลิตร ลงใน

อาหาร minimal medium ปริมาตร 50 มิลลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน เก็บผลการศึกษาทุกวัน นำส่วนใสไปหมუნเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-visible spectrophotometer) เมื่อได้ความเป็นกรดต่างที่เหมาะสม จากนั้นศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมโดยเปลี่ยนอุณหภูมิในการบ่มที่ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส และศึกษาเช่นเดียวกับการศึกษาความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมต่อไป

2.3 การบำบัดสี RR 141 การเจริญเติบโตของ *Lentinus tigrinus* AP8 และการทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสบนอาหารแข็ง ABTS

เตรียมอาหาร minimal medium ที่เติมแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนและปรับค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสม โดยเติมหิวเชื้อราปริมาตร 5 มิลลิตร ลงในอาหาร minimal medium ปริมาตร 50 มิลลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม ทำอย่างละ 3 ข้าง เปรียบเทียบกับสถานะควบคุมเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยวันเก็บผลการศึกษาทุก 6 ชั่วโมง นำส่วนตะกอนราที่ได้ไปกรองด้วยผ้าขาวบาง และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปชั่งน้ำหนัก เพื่อนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตน้ำหนักเซลล์ (กรัม) กับเวลา (ชั่วโมง) และนำส่วนใสไปหมუნเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แบ่งส่วนใสที่ได้นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 300-700 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-visible spectrophotometer) สร้างกราฟค่าการดูดกลืนแสงของการบำบัดที่เปลี่ยนแปลงไปของผลผลิตที่ผ่านการบำบัดโดยใช้

L. tigrinus AP8 วิเคราะห์ความเข้มข้นกลูโคสโดยทดสอบด้วยสารละลาย glucose liquicolor (Human) (Sacks, 2001) โดยปิเปตตัวอย่างที่เจือจางให้เหมาะสม แล้วนำมาผสมกับสารละลาย glucose liquicolor 0.5 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร ซึ่งผสมกันไว้ก่อนและบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที ทำอย่างละ 3 ซ้ำ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-visible spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นแบลนด์ (blank) แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาความเข้มข้นของกลูโคสในสารละลายตัวอย่างและนำมาคำนวณหาความเข้มข้นของกลูโคส

นอกจากนี้ น้ำส่วนใสจากการแยกตะกอนราที่ได้ไปวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยวิธี infrared spectrum analysis โดยทำให้เป็นของแข็งโดยการระเหยน้ำออกบนเตาความร้อน (hot plate) นำตัวอย่างที่กลายเป็นของแข็งในเมทานอล ป้ายตัวอย่างลงบน window cell KBr นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR spectroscopy (Perkin Elmer, FT-IR Spectrum GX, Germany) ช่วงความถี่ของเลขคลื่น (wave number) เท่ากับ 400-4000 cm^{-1} โดยผลการศึกษาที่ได้จะนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Win-IR Easy tm Version 3.30 และ IR Mentor pro 6.5 (Bio-Rad Laboratories, Philadelphia, USA) เพื่อศึกษาหมู่ฟังก์ชันที่เปลี่ยนแปลงไปของซี RR 141 หลังจากบำบัดด้วยรา ส่วนการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์แลคเคสของรา *L. tigrinus* AP8 ด้วยวิธีการดัดแปลงจาก Mario-carlos และคณะ (2000) บนอาหารแข็งสูตรหลัก lignin modifying enzyme basal media (LBM) ที่มี 2,2'-azino-bis-(3-ethyl benzothiazoline-6-sulphonate (ABTS) เป็นสารตั้งต้นของการเกิดปฏิกิริยา โดยนำรา *L. tigrinus*

AP8 เป็นราที่ต้องการทดสอบ *Gongronella butleri* เป็นตัวควบคุมลบ negative control (ปิยะวรรณ, 2557) และใช้ตัวควบคุมบวก (positive control) คือ *Pleurotus* sp. (Radhika et al., 2013) เพาะเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส รอจนกระทั่งเส้นใยของราเจริญเติบโตจนเต็มจานเพาะเลี้ยง จากนั้นตัดชิ้นวันขนาด 1 x 1 เซนติเมตร เจาะเส้นใยของราบริเวณโดยรอบโคโลนีและใช้เข็มเย็บเย็บปลายงอตัดชิ้นวันที่มีเส้นใยนำมาวางตรงจุดกึ่งกลางของจานเพาะเชื้อที่มีอาหารสูตรหลัก ABTS บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 5-10 วัน โดยบันทึกและสังเกตผลทุกวัน

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมโดยใช้ *Lentinus tigrinus* AP8

นำรา *L. tigrinus* AP8 10 มิลลิลิตร เติมน้ำในน้ำเสียซีรีแอดทีฟสังเคราะห์ (RR 141 50 มิลลิกรัมต่อลิตร Na_2SO_4 90 กรัมต่อลิตร และ Na_2CO_3 20 กรัมต่อลิตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมที่ผ่านการเจือจาง 750 เท่า ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที นาน 5 วัน จากนั้นวัดความยาวคลื่นด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร เพื่อวัดความเข้มข้นของซีเริ่มต้นในหน่วย Space unit (S.U.) เก็บตัวอย่างทุกวันโดยนำตัวอย่างน้ำเสียไปวัดที่ช่วงความยาวคลื่น 400, 500, 600 และ 700 นาโนเมตร นำผลการศึกษาที่ได้ทั้งก่อนและหลังบำบัดมาสร้างกราฟโดยให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เป็นแกนตั้งและความยาวคลื่นแสงในหน่วยนาโนเมตรเป็นแกนนอน แล้วคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟ จากนั้นนำน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมและซี RR 141 มาตรวจสอบค่า

chemical oxygen demand (COD) แบบ closed reflux (ธงชัย และวิบูลลักษณ์, 2540) หลังการบำบัดต่อไป

3. ผลการวิจัยและอภิปราย

3.1 แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสม

L. tigrinus AP8 สามารถบำบัดสี RR 141 เร็วที่สุด เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน สามารถบำบัดสีได้ร้อยละ 97.75 มีอัตราการลดสีเฉลี่ย 290.84 ไมโครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ใช้ระยะเวลาในการลดสีที่สมบูรณ์ที่ 96 ชั่วโมง มีน้ำหนักรเซลแห้ง 0.603 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 1 แหล่งคาร์บอนเป็นแหล่งสารอาหารที่สำคัญที่สุด จำเป็นต้องมีความเข้มข้นและปริมาณที่เหมาะสมเพื่อที่ราจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งกลูโคสเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) มีคาร์บอน 6 อะตอม (hexose) ชนิดแอลโดส (aldose) พบอยู่ในรูป D-glucose ซึ่งเป็นน้ำตาลรีดิวิซ์ ใช้เป็นแหล่งพลังงานโดยเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นพลังงานระดับ ATP แก่ราในการเจริญเติบโต เพิ่มจำนวน ใช้ในกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ที่ส่งเสริมการกระตุ้นการหลั่งเอนไซม์ในการย่อยสลายโมเลกุลของสีย้อม และให้ผลดีกว่าการใช้น้ำตาลประเภทโมเลกุลคู่ (disaccharide) และน้ำตาลหลายโมเลกุล (polysaccharide) เช่น ซูโครส และแป้ง ตามลำดับ (Niebisch et al., 2010)

นอกจากนี้พบว่า *L. tigrinus* AP8 สามารถบำบัดสี RR 141 เร็วที่สุด เมื่อใช้แอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจน สามารถบำบัดสีได้สมบูรณ์มีอัตราการลดสีเฉลี่ย 520.42 ไมโครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ใช้ระยะเวลาในการลดสีที่สมบูรณ์ที่ 72 ชั่วโมง มีน้ำหนักรเซลแห้ง 1.988 กรัมต่อลิตร แสดงตารางที่ 1 ซึ่งแหล่งไนโตรเจนเป็นแหล่ง

อาหารที่สำคัญ รองลงมาจากแหล่งคาร์บอนเป็นกรดอะมิโน ในสร้างพลังงาน สร้างส่วนประกอบของเซลล์ซึ่งจำเป็นต้องมีความเข้มข้นและปริมาณที่เหมาะสม เพื่อที่ราจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ แอมโมเนียมคลอไรด์แตกตัวได้แอมโมเนียและกรดเกลือ มีสมบัติละลายน้ำได้ดี

3.2 ความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิที่เหมาะสม

จากตารางที่ 1 พบว่า *L. tigrinus* AP8 สามารถบำบัดสี RR 141 เร็วที่สุดที่ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8 สามารถบำบัดสีได้สมบูรณ์ มีอัตราการลดสีเฉลี่ย 520.42 ไมโครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ใช้ระยะเวลาในการลดสีที่สมบูรณ์ที่ 48 ชั่วโมง มีน้ำหนักรเซลแห้ง 3.839 กรัมต่อลิตร ซึ่งสามารถบำบัดสีได้เร็วที่สุดเมื่อเทียบกับค่าความเป็นกรดต่างที่ 7, 9, 10 และ 11 ซึ่งค่าความเป็นกรดต่าง 8 เป็นค่าที่สัมพันธ์กับค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมต่อการสร้างเส้นใย (mycelium) ของราเส้นใย คือ ประมาณ 5.5-8.0 (วิจัย, 2546) ซึ่งแสดงว่าราสามารถเจริญเติบโตและบำบัดสีได้ดีที่สภาพเป็นกลางถึงด่างอ่อน ๆ

นอกจากนี้พบว่า *L. tigrinus* AP8 สามารถบำบัดสี RR 141 เร็วที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สามารถบำบัดสีได้สมบูรณ์มีอัตราการลดสีเฉลี่ย 518.88 ไมโครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ใช้ระยะเวลาในการลดสีที่สมบูรณ์ที่ 48 ชั่วโมง มีน้ำหนักรเซลแห้ง 4.410 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สามารถบำบัดสีได้สมบูรณ์มีอัตราการลดสีเฉลี่ย 520.49 ไมโครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ใช้ระยะเวลาในการลดสีที่สมบูรณ์ที่ 96 ชั่วโมง มีน้ำหนักรเซลแห้ง 3.700 กรัมต่อลิตร และอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถบำบัดสีได้ร้อยละ 91 มีอัตราการบำบัดสีเฉลี่ย 240.76 ไมโครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ใช้ระยะเวลาในการบำบัดสีที่สมบูรณ์ที่มากกว่า 96 ชั่วโมง มีน้ำหนักรเซลแห้ง 2.810

กรัมต่อลิตร พบว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เหมาะสมที่สุดในการบำบัดสี RR 141 โดย *L. tigrinus* AP8 ดังตารางที่ 1 ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสม

ในการเจริญเติบโตของราเส้นใย อยู่ระหว่าง 28 ถึง 30 องศาเซลเซียส (วิจัย, 2546; Niebisch *et al.*, 2010)

ตารางที่ 1 แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน ความเป็นกรดต่าง และอุณหภูมิที่มีผลต่อการบำบัดสี RR 141 โดย *Lentinus tigrinus* AP8

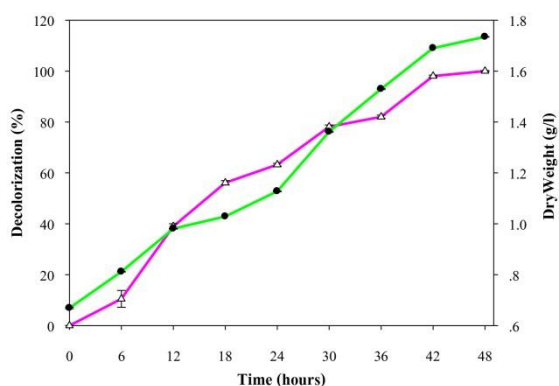
	แหล่งคาร์บอน				
	กลูโคส	ซูโครส	แป้ง		
เปอร์เซ็นต์การบำบัดสี	99.25±0.40	95.88±1.17	94.08±1.62		
อัตราการบำบัดสีเฉลี่ย (ไม่โครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	290.84	283.67	274.05		
เวลาการบำบัด (ชั่วโมง)	96	168	168		
	แหล่งไนโตรเจน				
	KNO ₃	NH ₄ Cl	(NH ₄) ₂ SO ₄		
เปอร์เซ็นต์การบำบัดสี	99.51±0.52	100±0.00	97.83±0.32		
อัตราการบำบัดสีเฉลี่ย (ไม่โครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	518.88	520.42	509.38		
เวลาการบำบัด (ชั่วโมง)	96	72	96		
	ความเป็นกรดต่าง				
	7	8	9	10	11
เปอร์เซ็นต์การบำบัดสี	100±0.00	100±0.00	68.13±1.69	62.33±1.34	33.61±0.27
อัตราการบำบัดสีเฉลี่ย (ไม่โครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	520.08	520.42	354.12	324.53	175.20
เวลาการบำบัด (ชั่วโมง)	72	48	96	96	96
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)				
	30	35	40		
เปอร์เซ็นต์การบำบัดสี	100	100	91.00±0.63		
อัตราการบำบัดสีเฉลี่ย (ไม่โครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	518.54	520.49	240.76		
เวลาการบำบัด (ชั่วโมง)	48	96	96		

3.3 ความสัมพันธ์ระหว่างการบำบัดสี RR 141 และการเจริญเติบโต *Lentinus tigrinus* AP8

อัตราการเจริญเติบโตของ *L. tigrinus* AP8 มีความสัมพันธ์กับอัตราการบำบัดสี เมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นเซลล์จะมีการเจริญเติบโตและเพิ่ม

จำนวนมากขึ้น โดยรา *L. tigrinus* AP8 เป็นราในกลุ่ม บาสิดิโอไมซีท (Basidiomycetes) ถูกจัดอยู่ในประเภทของราขาว (white rot fungi) ใช้สารอาหารจากแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนเป็นแหล่งพลังงาน และกระตุ้นระบบเอนไซม์ลิกนินไลติก (ligninolytic enzyme) ที่มีบทบาทในการย่อยสลาย

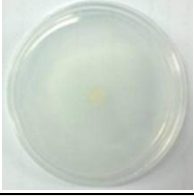
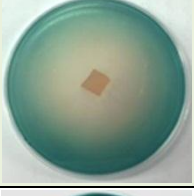
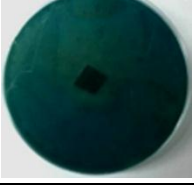
โมเลกุลสี RR 141 ได้ การบำบัดเกิดขึ้นโดยการย่อยสลายทางชีวภาพที่ใช้เอนไซม์แลคเคสที่หลั่งออกนอกเซลล์ (Ratanapongleka and Phetsom, 2014) เอนไซม์นี้มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมได้ดีที่สุดทำให้เกิดการบำบัดสีควบคู่ไปกับการเจริญเติบโตของ *L. tigrinus* AP8 ดังรูปที่ 1

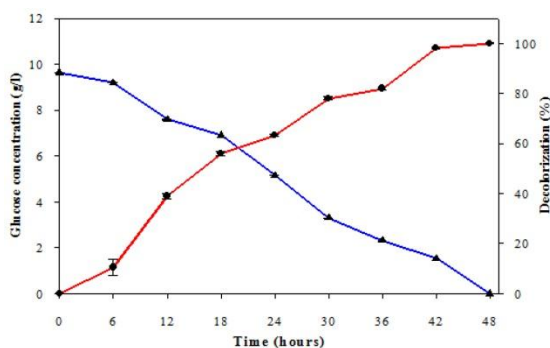


รูปที่ 1 ผลการเจริญเติบโตของ *Lentinus tigrinus* AP8 และการบำบัดน้ำสี RR 141 ที่สภาวะเหมาะสมเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (น้ำหนักเซลล์แห้ง = ● และการบำบัด = △)

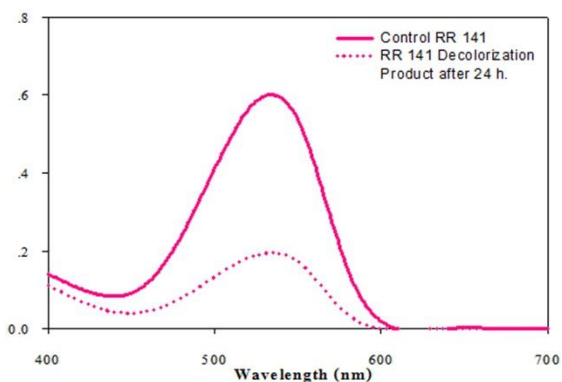
การทดสอบเอนไซม์แลคเคส จากตารางที่ 2 พบว่ารา *Pleurotus* sp. ซึ่งเป็นตัวควบคุมบวก (positive control) สามารถเปลี่ยนสีอาหาร ABTS agar โดยมี 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate (ABTS) เป็นสารสื่อกลาง (mediator) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงบนสีอาหารแข็งจากสีเป็นสีเขียว แสดงว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส ในขณะที่ *L. tigrinus* AP8 สามารถเปลี่ยนสีของอาหาร ABTS agar ได้ แสดงว่าการผลิตเอนไซม์แลคเคส (laccase) นอกจากนี้จากรูปที่ 2 ยังพบว่ารามีการใช้น้ำตาลกลูโคสเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว เมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นความเข้มข้นของกลูโคสจะลดลงและในขณะเดียวกันเปอร์เซ็นต์การบำบัดสีจะเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจากการที่ราใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตสร้างพลังงาน และไปกระตุ้นระบบเอนไซม์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายโมเลกุลของสีย้อมด้วย

ตารางที่ 2 การผลิตเอนไซม์แลคเคสของราบนอาหาร ABTS agar

ชนิดรา	การเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาบนอาหาร ABTS	สีของอาหารแข็ง ABTS
<i>Gongronella butleri</i> (negative control)	สีของอาหารไม่เปลี่ยน ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส	
<i>Lentinus tigrinus</i> AP8	สีของอาหารเปลี่ยนจากสีเป็นสีเขียว แสดงกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส	
<i>Pleurotus</i> sp. (positive control)	สีของอาหารเปลี่ยนจากสีเป็นสีเขียว แสดงกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส	



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างเข้มข้นของกลูโคส และการบำบัดสี RR 141 โดย *Lentinus tigrinus* AP8 ที่สภาวะเหมาะสม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ความเข้มข้นของกลูโคส = ● และเปอร์เซ็นต์การบำบัดสี = ▲)



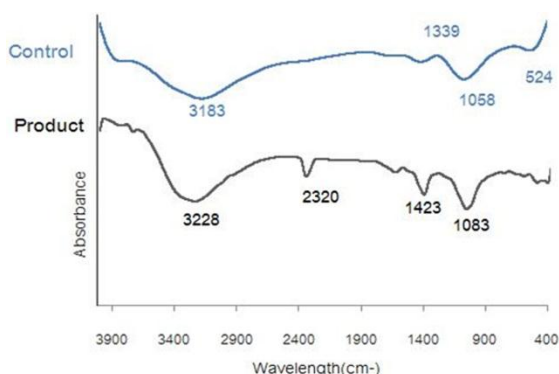
รูปที่ 3 ผลของ UV-visible spectra ของสีย้อม RR 141 ก่อนการบำบัด (—) และหลังการบำบัดโดย *Lentinus tigrinus* AP8 ที่สภาวะเหมาะสม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (.....)

เมื่อนำผลการศึกษาไปเปรียบเทียบกับ ผลการศึกษาของปิยะวรรณ (2557) ที่นำเซลล์แห้ง ของรา *Aspergillus awamori* AP6, *Lentinus tigrinus* AP8 และ *Gongronella butleri* BP1 ปริมาณ 1 กรัม เติมลงในฟลaskอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่ผสมสี RR 141 ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม

ต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำส่วนสีที่ได้วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 544 นาโนเมตร พบว่าอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อก่อนและหลังบำบัดด้วยเซลล์แห้งรา *A. awamori* AP6, *L. tigrinus* AP8 และ *G. butleri* BP1 แสดงค่าการดูดซับสี RR 141 เท่ากับ 36.65, 21.28 และ 24.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ภายใน 24 ชั่วโมง ทั้งนี้เนื่องจากผนังเซลล์ของราประกอบด้วยไคตินและไคโตซาน ซึ่งไคตินมีประสิทธิภาพการดูดซับสีรีแอคทีฟ (Annadurai *et al.*, 1999) ด้วยการแลกเปลี่ยนไอออนและการดูดซับทางกายภาพที่เกิดขึ้นระหว่างไคตินและบริเวณหมู่ซัลโฟเนตในโมเลกุลของสีโดยการรวมตัวระหว่างประจุบวกของหมู่อะเซตามิดหรืออะมิโนในไคตินกับประจุลบของหมู่ฟังก์ชันในสีย้อม นอกจากนี้การนำเซลล์ราไปผ่านการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันอุณหภูมิที่สูงขึ้นอาจเกิดรูพรุนภายในโครงสร้างไคตินมากขึ้น ทำให้ประจุลบของสีสามารถแทรกซึมภายในโครงสร้างรูพรุนได้ดี ดังนั้นในการบำบัดสีของรา *L. tigrinus* ประกอบด้วยการใช้เอนไซม์และการดูดซับสี RR 141 ไว้ที่ผนังเซลล์

เมื่อวิเคราะห์ความยาวคลื่น UV-VIS พบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วงแสงที่มองเห็นได้จะหายไป เปลี่ยนไปในช่วงคลื่นแสง UV ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงการบำบัดที่สมบูรณ์ โดยสี RR 141 ก่อนการบำบัดมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 523 นาโนเมตร และหลังการบำบัดเกิดช่วงความยาวคลื่นใหม่ที่ 525 นาโนเมตร ซึ่งหลังการบำบัดสี RR 141 ภายใต้อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ช่วงความยาวคลื่นลดลงดังกล่าวอาจเกี่ยวข้องกับการย่อยของโครงสร้างของพันธะอะโซที่เชื่อมต่อกับโครงสร้างเปิดของวงแหวนแนฟทาลีน (naphthalene ring) และเบนซีน (benzene) ตามลำดับ (Mielgo *et al.*, 2001) แสดงดังรูปที่ 3

เมื่อการศึกษาวิเคราะห์สเปกตรัม RR 141 โดยนำผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังจากใช้จุลินทรีย์บำบัดน้ำเสีย RR 141 ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT-IR พบว่าโครงสร้างของน้ำเสีย RR 141 เริ่มต้นที่ยังไม่ผ่านการบำบัดนั้น (รูปที่ 4ก) จะแสดงตำแหน่งฟิสิกส์ไปในตำแหน่งที่มีหมู่ N-H ที่ตำแหน่งฟิสิกส์ 3183 หมู่ O-H ที่ตำแหน่งฟิสิกส์ 1058-1399 และหมู่ Cl ที่ตำแหน่งฟิสิกส์ 524 หลังจากผ่านการบำบัดโดย *L. tigrinus* AP8 (รูปที่ 4ข) ฟิสิกส์บริเวณนี้จะเปลี่ยนไปเป็น 3228 ($-NH_2$), 2320 (N-H), 1423 (O-H) และ 1083 (C-O) ซึ่งมีแนวโน้มว่าอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลได้



รูปที่ 4 ผลของ FT-IR spectra ของน้ำเสีย RR 141 ก่อนบำบัด (ก) และหลังบำบัด (ข) โดย *Lentinus tigrinus* AP8 ที่สภาวะเหมาะสมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมโดยใช้ *Lentinus tigrinus* AP8

จากตารางที่ 3 พบว่าน้ำเสียสีรีแอกทีฟ RR 141 ก่อนบำบัดมีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 163.69 หน่วยเอสยู และหลังบำบัดด้วยรา *L. tigrinus* AP8 มีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 42.92 หน่วยเอสยู สามารถคำนวณค่าการบำบัดได้ 73.78 เปอร์เซ็นต์ น้ำเสียสี

จากโรงงานฟอกย้อมก่อนบำบัดมีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 270.12 หน่วยเอสยู และหลังบำบัดมีความเข้มข้นเท่ากับ 82.89 หน่วยเอสยู ดังนั้นพบว่าสามารถบำบัดได้ 69.31 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสีของน้ำเสียทั้งสองชนิดหลังบำบัดจะมีสีอ่อนลง ทั้งนี้ความเข้มข้นของสีที่ลดลงอาจเกิดจากการย่อยสลายโมเลกุลของสีกลุ่มอะโซโดยการสร้างเอนไซม์เพื่อให้โครงสร้างสีมีโมเลกุลที่เล็ก (วีรานุช และคณะ, 2551) ซึ่งผลการศึกษารังนี้แสดงว่า *L. tigrinus* AP 8 มีแนวโน้มที่จะสามารถนำไปบำบัดน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมที่ปนเปื้อนสีรีแอกทีฟหรือสีอื่น ๆ ได้

จากตารางที่ 4 พบว่าก่อนการบำบัดน้ำเสียสีรีแอกทีฟ RR 141 และสีจากโรงงานฟอกย้อมมีค่า COD สูงกว่ามาตรฐานค่า COD น้ำทิ้งซึ่งกำหนดไว้ไม่เกิน 120 มิลลิกรัมต่อลิตร หรืออาจแตกต่างกันแล้วแต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้งหรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร (มันสิน, 2542) ในการศึกษาอาหารเหลือผสมสีรีแอกทีฟ RR 141 มีค่า COD ก่อนการบำบัดเท่ากับ 7,626.67 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำเสียสีรีแอกทีฟ RR 141 มีค่า COD ก่อนการบำบัดเท่ากับ 9,973.33 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม (ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ) มีค่า COD ก่อนการบำบัดเท่ากับ 6,746.67 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม (ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ) มีค่า COD ก่อนการบำบัดเท่ากับ 7,333.33 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อบำบัดแล้วอาหารเหลือผสมสีรีแอกทีฟ RR 141 มีค่า COD เท่ากับ 3,520.00 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำเสียสีรีแอกทีฟ RR 141 มีค่า COD เท่ากับ 6,453.33 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม (ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ) มีค่า COD เท่ากับ 58,66.67 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม (ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ) มีค่า COD

เท่ากับ 4,986.67 มิลลิกรัมต่อลิตร จากค่า COD ที่ลดต่ำลงแสดงให้เห็นว่า *L. tigrinus* AP8 มีการบำบัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียให้มีค่า COD ที่ลดลง โดยค่า COD ก่อนการบำบัดจะมีค่าสูงกว่าค่า COD หลังจากนำไปบำบัดแล้วโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การบำบัดของ COD ของอาหารเหลวผสมสรีแอกทีฟ RR 141 เท่ากับ 53.85 เปอร์เซ็นต์ น้ำเสียสรีแอกทีฟเท่ากับ 35.29 เปอร์เซ็นต์ น้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม (ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ) เท่ากับ 13.04 เปอร์เซ็นต์ และน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม (ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ) เท่ากับ 31.40 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าปริมาณ COD สุดท้ายของตัวอย่างน้ำเสียสีจากโรงงานยังคงมีปริมาณมากกว่าที่มาตรฐานกำหนด ทั้งนี้เนื่องมาจากน้ำเสียสรีแอกทีฟ RR 141

และน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมนั้นจะประกอบไปด้วยสารประกอบอื่น ๆ นอกเหนือจากสี RR 141 ได้แก่ แห้งคาร์บอน เช่น กลูโคส แห้งไนโตรเจน เช่น แอมโมเนียมคลอไรด์ในปริมาณมาก ทำให้ค่า COD หรือปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ต้องการใช้เพื่อออกซิเดชันสารอินทรีย์ในน้ำสูง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของพรชนก และภัสราภรณ์ (2554) ที่ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานปลาบ่นที่มีค่า COD ละ BOD สูง 4,000-16,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าน้ำเสียหลังการบำบัดด้วยจุลินทรีย์ทางการค้าชนิด EMTEC-FM ยังคงมีปริมาณ COD และ BOD สูงกว่าค่ามาตรฐาน เนื่องจากน้ำเสียมีการปนเปื้อนสารอินทรีย์ในปริมาณสูงยากต่อการบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพเพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 3 ค่าความเข้มข้นของน้ำเสียสรีแอกทีฟ RR 141 และน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมก่อนและหลังบำบัดด้วยรา *Lentinus tigrinus* AP8 ในระยะเวลา 5 วัน

ตัวอย่าง	ค่าความเข้มข้น (หน่วยเอสยู)		ค่าการบำบัดความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)
	ก่อนบำบัด	หลังบำบัด	
น้ำเสียสรีแอกทีฟ RR141	163.69	42.92	73.78
น้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม	270.12	82.89	69.31

ตารางที่ 4 ค่า COD ก่อนและหลังบำบัดด้วยรา *Lentinus tigrinus* AP8 ในระยะเวลา 5 วัน

ตัวอย่าง	ค่า COD (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ค่าการบำบัด COD (เปอร์เซ็นต์)
	ก่อนบำบัด	หลังบำบัด	
อาหารเหลวผสมสรีแอกทีฟ RR 141	7,626.67±0.21	3,520.00±0.26	53.85
น้ำเสียสรีแอกทีฟ RR 141	9,973.33±0.23	6,453.33±0.15	35.29
น้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม (ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ)	6,746.67±0.06	5,866.67±0.12	13.04
น้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม (ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ)	7,333.33±0.25	4,986.67±0.31	31.40

4. สรุป

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการบำบัดสี Reactive Red 141 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ด้วยรา *Lentinus tigrinus* AP8 ใน

อาหาร minimal medium พบว่าการใช้กลูโคสที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร แห้งคาร์บอนและแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 6 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน สภาวะความเป็นกรดต่าง

เท่ากับ 8 และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการบำบัดสี โดยมีอัตราการบำบัดสีเฉลี่ย 518.54 ไมโครกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงภายในระยะเวลา 48 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าในระยะเวลาดังกล่าว รามีน้ำหนักรวมเฉลี่ย 3.70 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำรามาบำบัดน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อม พบว่ารา *L. tigrinus* AP8 สามารถบำบัดความเข้มข้นของน้ำเสียสีรีแอคทีฟ RR 141 และน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมได้เท่ากับ 120.77 และ 187.23 หน่วยเอสยู คิดเป็นประสิทธิภาพการบำบัดความเข้มข้นได้เท่ากับ 73.78 และ 69.31 เปอร์เซ็นต์ และค่า COD ลดลงเท่ากับ 35.29 และ 31.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ค่า COD ที่ลดลงยังมีค่าเกินกว่ามาตรฐานค่า COD น้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรม ดังนั้นในการนำไปใช้ควรคำนึงถึงเรื่องนี้ด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อนำผลผลิตที่ได้หลังจากการบำบัดสี RR 141 มาทดสอบการดูดกลืนแสงสูงสุดเปลี่ยนแปลงไปที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร และเทคนิค Fourier transform infrared (FT-IR) พบว่าโครงสร้างสี RR 141 มีการเปลี่ยนแปลงไปของโมเลกุลสี RR 141 แต่ยังไม่สามารถระบุได้แน่ชัดว่ามีการย่อยโครงสร้างสีอย่างสมบูรณ์ (mineralization) หรือไม่ควรมีการศึกษาต่อโดยใช้เทคนิคที่มีความเฉพาะไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ได้จัดสรรงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2556 เลขที่สัญญา 011/2557 สนับสนุนงานวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

กันตริย์ ศรีพงศ์พันธุ์, 2547, มลพิษทางน้ำ, โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร, กรุงเทพฯ.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และวิบูลย์ลักษณ์ วิสุมิศักดิ์, 2540, วิเคราะห์น้ำเสีย, สมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

ปิยะวรรณ กลมเกลี้ยง, 2557, การคัดแยกกราที่สามารถบำบัดสีรีแอคทีฟ RR 141, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, ปทุมธานี.

พรชนก วงศ์ผดุงเกียรติ และภัชราภรณ์ สุวรรณวิทยา, 2554, จุลินทรีย์ทางการค้าในกระบวนการบำบัดน้ำเสียโรงงานปลาป่น, วิศวกรรมสาร มก. 77: 24-33.

มันสิน ตันทุลเวศน์, 2542, เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม, บริษัท แชน.อี.68 คอนซัลติ้งเอ็นจิเนียร, กรุงเทพฯ.

วิจัย รักวิทยาศาสตร์, 2546, ราวิทยาเบื้องต้น, จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ.

วีรานุช หลาง, ธนสิริ มีชัย และวิษุพร จันทรศรี, 2551, ความสามารถในการกำจัดสีย้อมผ้าประเภทรีแอคทีฟของ *Burkholderia glumae*, Environ. Nat. Resour. J. 6: 66-81.

Annadurai, G., Chellapandian, M. and Krishnan, M.R.V., 1999, Adsorption of reactive dye on chitin, Environ. Monit. Assess. 59: 111-119.

Eichlerova, I., Homolka, L. and Nerud, F., 2006, Synthetic dye decolorization of white rot fungus *Dichomitus squalens*, Biores. Technol. 97: 2153-2159.

Gahlout, M., Gupte, S. and Gupte, A., 2013, Optimization of culture condition for enhanced decolorization and degradation of azo dye Reactive Violet 1 with concomitant production of ligninolytic enzyme by *Ganoderma cupreum* AG-1, 3 Biotech. 3: 143-152.

- Levin, L., Papinutti, L. and Forchiassin, F., 2004, Evaluation of Argentinean white rot fungi for their ability to produce lignin-modifying enzymes and decolorize industrial dyes, *Biores. Technol.* 94: 169-176.
- Lucas, S.M., Amaral, C., Sampaio, A., Peres, A.J. and Dias, A.A., 2006, Biodegradation of the diazo dry reactive black 5 by a wild isolate of *Candida oleophila*, *Enzyme Microb. Tech.* 39: 45-51.
- Mario-carlos, N.S., Ana, M.B., Horacio, A.T., Marta, N.A. and Agelica, M.A., 2000, Extracellular ABST-oxidizing activity of autochthonous fungal strains from Argentina and solid medium, *Rev. Iberoam. Micol.* 17: 64-68.
- Mester, T., Ambert-Balay, K., Ciofi-Baffoni, S., Banci, L., Jones, A.D. and Tien, M., 2001, Oxidation of tetrameric monophenolic lignin model compound by lignin peroxidase, *J. Biol. Chem.* 276: 22985-22990.
- Mielgo, I., Moreira, M.T., Feijoo, G. and Lema, J.M., 2001. A packed-bed fungal bioreactor for continuous decolourisation of azo-dyes (Orange II), *J. Biotechnol.* 89: 99-106.
- Niebisch, C.H., Malinowski, A.K., Schadeck, R. and Mitchell, D., 2010, Decolorization and biodegradation of reactive blue 220 textile dye by *Lentinus crinitus* extracellular extract, *J. Hazard Mater.* 180: 316-322.
- Ratanapongleka, K. and Phetsom, J., 2014, Decolorization of Synthetic Dyes by Crude Laccase from *Lentinus Polychrous* Lev., *Int. J. Chem. Eng. Appl.* 5: 26-30.
- Radhika, R.G., Roseline, J. and Gnanadoss, J.J., 2013, Production of cellulase and laccase using *Pleurotus* sp. under submerged and solid-state fermentation, *Int. J. Curr. Sci.* 6: 7-13.
- Sacks, D.B., 2001, Carbohydrates, pp. 427-461, In Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (Eds.), *Teitz's Fundamentals of Clinical Biochemistry*, W.B. Saunders, Inc., Philadelphia.
- Wesenberg, D., Kyriakides, I. and Agathos, S.N., 2003, White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents, *Biotechnol. Adv.* 22: 161-187.