

การบำบัดสี Reactive Red 141 โดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 และการทดสอบความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์หลังบำบัดกับพืช Decolorization of Reactive Red 141 by *Paenibacillus* sp. C24 and *Paenibacillus* sp. C29 and Phytotoxicity Test

เฉลิมวรุฒ สมปาก, ธีระชัย ธนาหันทน์ และนิรมล ศากยวงศ์*

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Chalermwoot Sompark, Theerachai Thanananta and Niramol Sakayawong*

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

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

บทคัดย่อ

การบำบัดสี Reactive Red 141 (RR141) โดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 ที่แยกได้จากดินประเทศญี่ปุ่น พบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการบำบัดสี Reactive Red 141 ในสภาวะนิ่ง (static condition) ได้ 97.86 ± 0.62 และ 96.97 ± 0.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อใช้สภาวะการบำบัดที่เหมาะสม ดังนั้น ระยะเวลาการบำบัด 16 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรดต่าง คือ 6.0 และ 7.0 อุณหภูมิที่ 35.0 และ 45.0 องศาเซลเซียส แหล่งไนโตรเจน คือ แอมโมเนียมคลอไรด์และยูเรีย และใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการบำบัดสีของแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยผลิตภัณฑ์หลังการบำบัดโดยแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเปลี่ยนแปลงไปจาก 546 เป็น 520 และ 517 นาโนเมตร ส่วนค่า COD removal (%) เท่ากับ 51.57 และ 63.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันหลังจากการบำบัดสีโดยเครื่อง Fourier transform infrared spectrometer (FTIR) พบตำแหน่งของหมู่ NH_2 ในกลุ่มเอมีน หมู่ SO_2 ในกลุ่มซัลเฟอร์ และหมู่ CH ในกลุ่มอะโรมาติก แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถย่อยสลายได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีโครงสร้างที่เล็กลง เมื่อนำผลิตภัณฑ์หลังการบำบัดมาทดสอบความเป็นพิษกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 พบว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำสำคัญ : แบคทีเรียบำบัดสี; สีแบบรีแอคทีฟ; ความเป็นพิษต่อพืช

Abstract

Efficiency of Reactive Red 141 (RR141) treatment by *Paenibacillus* sp. C24 and *Paenibacillus* sp. C29 isolated from soil in Japan was 97.86 ± 0.62 and 96.97 ± 0.98 at static condition. The optimal conditions for dye treatment were 16 hours, pH 6.0 and 7.0 at 35.0 and 45.0 °C, with ammonium chloride and urea as nitrogen sources and glucose as a carbon source for both bacteria. The maximum absorption wavelengths of the final products by bacterial treatments were changed from 546 to 520 and 517 nm. The percentages of COD removal were 51.57 and 63.69 %, respectively. Moreover, the functional groups after dye decolorization were determined by Fourier transform infrared spectrometer (FTIR). The NH_2 peak of amine group, SO_2 peak of sulfur group and CH peak of aromatic group were found. The results showed that both of bacterial strains could degrade RR141 to smaller structure of final products. The phytotoxicity of the final product was studied with rice (Pathum Thani 1) and mung bean (Kampangsan 2). The growth of these plants was significantly affected.

Keywords: bacterial decolorization; reactive dye; phytotoxicity

1. คำนำ

ปัจจุบันปัญหามลพิษทางน้ำเป็นผลกระทบจากการเจริญเติบโตของอุตสาหกรรมทวีความรุนแรงมากขึ้น โดยเฉพาะอุตสาหกรรมสิ่งทอซึ่งเป็นอุตสาหกรรมที่มีการขยายตัวสูง มีการพัฒนาด้านกระบวนการผลิต และมีการแข่งขันสูงเพื่อเพิ่มปริมาณสินค้าหรือผลิตภัณฑ์ให้มากขึ้น โดยน้ำเป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องใช้ร่วมกับวัตถุดิบในทุกขั้นตอนการผลิต ไม่ว่าจะเป็นการผลิตเส้นใย การปั่น การทอ และการฟอกย้อม โดยวัตถุดิบที่ใช้ เช่น สีย้อม ผ้า สารเคมี บางชนิดละลายน้ำได้ บางชนิดไม่ละลายน้ำ จึงทำให้น้ำมีสภาพที่เปลี่ยนเป็นน้ำเสีย เช่น อุณหภูมิสูง มีกลิ่น มีสี ตลอดจนทำให้สิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำตายเนื่องจากมีสารอินทรีย์ในน้ำปริมาณสูง ทำให้ขาดออกซิเจนและผลกระทบของน้ำเสียนี้ยังเป็นตัวยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในกระบวนการบำบัดทางชีวภาพ (ปรีห์ทัย และคณะ, 2557)

ปัจจุบันเทคโนโลยีที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมมีทั้งกระบวนการทางกายภาพและเคมีซึ่งบำบัดได้ได้น้อย รวมทั้งมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ค่าใช้จ่ายในการบำบัด ตะกอนที่เกิดขึ้นจากระบบบำบัด การใช้จุลินทรีย์มาใช้ในการบำบัดเป็นทางเลือกหนึ่ง ซึ่งวิธีการนี้มีข้อดี คือประหยัดค่าใช้จ่ายและขั้นตอนการบำบัดทำได้ง่าย (ปิยวรรณ และคณะ, 2557)

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก สามารถบำบัดได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน (aerobic condition) สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (anaerobic condition) และบำบัดได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative condition) ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรานั้น ๆ โดยกลไกในการบำบัดเกี่ยวข้องกับกระบวนการสลายพันธะเอโซ (azo bond) โดยอาศัยการช่วยของเอนไซม์ จะทำให้สีย้อมไม่ปรากฏสีและอยู่ในรูปของสารประกอบอะโรมาติกเอมีน (hazardous-aromatic amine) (Chang and Lin, 2000) สารประกอบอะโรมาติกเอมีนที่เกิดขึ้น

ระหว่างกระบวนการบำบัดจะถูกส่งต่อไปยังกระบวนการบำบัดในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนอีกขั้นตอนหนึ่ง (Joshi *et al.*, 2007) ดังนั้นกระบวนการบำบัดสีโดยจุลินทรีย์ในกลุ่มของแบคทีเรียจึงเป็นที่สนใจและให้ความสำคัญมากในปัจจุบัน เนื่องจากการบำบัดสีด้วยแบคทีเรียสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดได้สูง และมีความปลอดภัยในการบำบัดได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ ยังสามารถบำบัดสีได้หลากหลายสี กระบวนการบำบัดมีต้นทุนต่ำ ผลกระทบหลังจากการบำบัดไม่ก่อผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และไม่ก่อให้เกิดกากตะกอน (sludge) หลังการบำบัดอีกด้วย (Rai *et al.*, 2005; Khehra *et al.*, 2006)

ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการบำบัดสี Reactive red 141 (RR141) โดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 รวมทั้งตรวจสอบผลผลิตที่ได้หลังการบำบัดด้วยเทคนิค UV-visible spectrophotometry และ Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) และศึกษาความเป็นพิษของผลผลิตที่ได้หลังการบำบัดต่อการเติบโตของข้าวและถั่วเขียว

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 แบคทีเรีย

แบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 (GenBank No. AB723502) และ *Paenibacillus* sp. C29 (GenBank No. AB723504) ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยศรีสุโขะ ประเทศญี่ปุ่น

2.2 การเตรียมกล้าเชื้อ

กระตุ้นแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 โดย streak ลงบนอาหารแข็ง nutrient agar (Himedia, Idia) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เชยหัวเชื้อแบคทีเรีย 1 โคโลนี เพื่อเพิ่มจำนวนลงในอาหารเหลว Nutrient Broth (Himedia, Idia) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เชยบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Innova 4230, USA) ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ติดตามการเติบโตของกล้าเชื้อตั้งต้นทุก 2 ชั่วโมง โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร จนเข้าสู่ exponential phase ในชั่วโมงที่ 18-20 ของการเพาะเลี้ยง นำกล้าเชื้อในระยะ exponential phase เจือจางกับอาหารเหลว nutrient broth เพื่อปรับความขุ่นเซลล์ให้เท่ากับ McFarland standard No. 3 หรือ $OD_{600} \approx 0.582$ ซึ่งจะใช้เป็นกล้าเชื้อในการทดลองต่อไป

2.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการบำบัดสีย้อม Reactive Red 141

ถ่ายกล้าเชื้อแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 ที่ปรับความขุ่นแล้ว ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว minimal medium ประกอบด้วย $MgSO_4$ 0.2 g/l, $CaCl_2$ 0.02 g/l, K_2HPO_4 1.0 g/l, $FeCl_3$ 0.05 g/l, yeast extract 0.6 g/l, glucose 1.0 g/l (แหล่งคาร์บอน) NH_4NO_3 1.0 g/l (แหล่งไนโตรเจน) ร่วมกับสี Reactive Red (RR141) เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการบำบัดสีโดยการแปรผันสิ่งทดลองแต่ละปัจจัยตามลำดับ ดังนี้ สภาวะในการบำบัด (สภาวะนิ่งและสภาวะเขย่า) ความเข้มข้นเริ่มต้นของสี RR141 (50.0-200.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น (5.0-9.0) อุณหภูมิ (20-60 องศาเซลเซียส) แหล่งคาร์บอน (ได้แก่ กลูโคส ไฮโดรเจน ซุโครส แป้ง และแมนนิทอล) แหล่งไนโตรเจน (ได้แก่ ยีสต์สกัด เปปโตเน แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรด และยูเรีย) ที่เหมาะสมในการบำบัดสี RR141 เก็บตัวอย่างผลผลิตหลังจากการบำบัด ปริมาตร 5

มิลลิลิตร นำไปหมუნเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงและวิเคราะห์การบำบัดสี

2.4 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์หลังการบำบัด

2.4.1 การวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง

วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงจากเครื่อง UV-visible spectrophotometer (Shimadzu, Japan) โดยการติดตามค่าการดูดกลืนแสง 400-700 นาโนเมตร โดยใช้อาหารเหลว minimal medium ที่ไม่มีการเติมสีเป็นทริต-

เมนต์ควบคุม

2.4.2 การวิเคราะห์การบำบัดสี

วัดค่าสีโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่สูงสุด (546 นาโนเมตร) จากเครื่อง UV-visible spectrophotometer (Shimadzu, Japan) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสี RR141 เข้มข้น 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้อาหารเหลว minimal medium ที่ไม่มีการเติมสีเป็นทริตเมนต์ควบคุม วัดค่าซ้ำ 3 ซ้ำ และคำนวณเปอร์เซ็นต์การบำบัดสีจากสูตร

$$\text{การบำบัดสี (\%)} = \frac{\text{ความเข้มข้นสีก่อนบำบัด} - \text{ความเข้มข้นสีหลังบำบัด}}{\text{ความเข้มข้นสีก่อนบำบัด}} \times 100$$

2.4.3 การวิเคราะห์ Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

นำตัวอย่างไปหมუნเหวี่ยง จากนั้นนำส่วนใสที่ได้ไปทำให้เป็นของแข็งโดยการระเหยน้ำออกโดยเครื่อง freeze dryer (Flexi-Dry, Germany) นำตัวอย่างที่กลายเป็นของแข็งละลายด้วยเอทานอล ให้เข้ากันและป้ายตัวอย่างลงบน window cell KBr นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR spectrometer โดยผลที่ได้จะนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม WIN-IR easy และ IR Mentor pro 6.5 จากบริษัท BIO-RAD Laboratories ความถี่ของช่วงคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่ตรวจสอบอยู่ในช่วง 400-4000 cm^{-1}

2.4.4 การวิเคราะห์ค่าซีโอดี

วัดค่า COD แบบ closed reflux (titrimetric method) โดยเปิดตัวอย่างน้ำสีก่อนและหลังบำบัด 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติม digestion reagent ลงไป 6 มิลลิลิตร เติมกรด sulfuric เข้มข้นที่ผสม AgSO_4 ลงไป 14 มิลลิลิตร นำไปรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 150 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หลังจากการยอย่นำตัวอย่างออกมาไทเทรตด้วยสารละลาย ferrous ammonium sulfate (FAS) จนกระทั่งถึงจุดยุติ แล้วคำนวณค่า COD จากสูตร

$$\text{COD removal (\%)} = \frac{\text{COD ก่อนบำบัด} - \text{COD หลังบำบัด}}{\text{COD ก่อนบำบัด}} \times 100$$

2.5 การศึกษาความเป็นพิษต่อพืชของผลิตภัณฑ์หลังการบำบัด

นำผลิตภัณฑ์หลังบำบัดโดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No. 1) จากนั้นทำให้เป็นของแข็งโดยวิธีการระเหิด

แห้งบนเครื่อง freeze dryer (Flexi-Dry MP Freeze Dryer, Lyophilizer) นำของแข็งที่ได้ละลายกับน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร นำน้ำที่เตรียมได้ไปรดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ที่มีเมล็ดสมบูรณ์ ไม่พบการแตกหักของเมล็ดหรือเยื่อหุ้มเมล็ด ปลูก

ข้าวและถั่วเขียวในกระบะขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร โดยใช้กระดาดชำระเป็นวัสดุปลูก จำนวน 40 เมล็ด เปรียบเทียบกับทรีตเมนต์ควบคุม (น้ำกลั่น) รดน้ำปริมาณ 30 มิลลิลิตร ในช่วง 09:00 น. ของทุกวัน ปริมาตร 30 มิลลิลิตร บันทึกอัตราการงอก ความสูงของลำต้นเฉลี่ย ความยาวใบเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยของต้นข้าวและถั่วหลังจากการปลูก 14 วัน

2.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างสิ่งทดลองด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 16.0

3. ผลและวิจารณ์

3.1 สภาวะที่เหมาะสมต่อการบำบัดสี RR141

3.1.1 อิทธิพลของสภาวะการบำบัดสี

อิทธิพลของสภาวะในการบำบัดสี RR141 เปรียบเทียบ 2 สภาวะ คือ สภาวะเขย่า (dynamic condition) และสภาวะนิ่ง (static condition) ใช้สีที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 แสดงในรูปที่ 1A พบว่าการบำบัดสีในสภาวะนิ่ง สามารถส่งเสริมการบำบัดสี RR141 ในแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ และสามารถย่อยสีได้ในประสิทธิภาพสูงกว่า 90 % ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยให้ประสิทธิภาพสูงถึง 96.78 ± 0.23 และ 94.34 ± 0.29 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ การบำบัดโดยสภาวะเขย่า พบว่ามีประสิทธิภาพน้อยกว่า โดยสามารถบำบัดสีได้เพียง 67.14 ± 0.4 และ 51.67 ± 1.54 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสภาวะในการบำบัดสี RR141 ที่เหมาะสมคือสภาวะนิ่ง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chang *et al.* (2001) และ Saratale *et al.* (2009) ในสภาวะนิ่งมีการ

เหนี่ยวนำเอนไซม์ในกลุ่มของ reductive enzyme ในปริมาณสูงจึงทำให้มีประสิทธิภาพในการบำบัดที่ ดีกว่าในสภาวะเคลื่อนที่ (Chang *et al.*, 2001 และ Boonurapeepinyo *et al.*, 2013) อย่างไรก็ตาม กระบวนการบำบัดยังคงต้องการออกซิเจนใน ปริมาณเล็กน้อยเพื่อกระตุ้น oxidative enzyme ที่ เกี่ยวข้องกับกระบวนการการย่อยและส่งเสริมให้ เกิดการย่อยสลายสีอย่างสมบูรณ์ต่อไป (You and Teng, 2009)

3.1.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของสี

อิทธิพลความเข้มข้นของสีต่อการ บำบัดในสภาวะนิ่งโดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 ซึ่งเพิ่มความ เข้มข้นของสี RR141 ตั้งแต่ 50-200 มิลลิกรัมต่อ ลิตร (รูปที่ 1B) พบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ให้ ประสิทธิภาพการบำบัดได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 95.88 ± 1.96 และ 95.23 ± 1.24 % ตามลำดับ ในระยะเวลา 16 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่ม ความเข้มข้นเป็น 100 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ประสิทธิภาพของการบำบัดจะลดลง โดยการเพิ่ม ความเข้มข้นของสีจะส่งผลให้ความสามารถในการ บำบัดสีลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากความ เข้มข้นของสีที่เพิ่มขึ้นจะก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อ เซลล์แบคทีเรีย โมเลกุลของสีจะขัดขวางการเร่ง ปฏิริยาของเอนไซม์ azoreductase โดยจะไป ยับยั้งที่ตำแหน่ง active site ของเอนไซม์ ทำให้ไม่ สามารถเร่งปฏิกิริยาการสลายโครงสร้างสีต่อไปได้ ความสามารถในการบำบัดสีจึงลดลงเมื่อความ เข้มข้นของสีเพิ่มขึ้น (นิรมล และดุขยา, 2556; Jadhav *et al.*, 2008)

3.1.3 อิทธิพลของค่าความเป็นกรดต่าง

อิทธิพลของค่าความเป็นกรดต่างต่อ การบำบัดสีในสภาวะนิ่ง ความเข้มข้นสีเริ่มต้น เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp.

C29 โดยศึกษาค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมตั้งแต่ 5.0-9.0 (รูปที่ 1C) พบว่าค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมต่อการบำบัดสี RR141 ของแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 คือ 6.0 ให้ค่าการบำบัดสีเท่ากับ 95.95 ± 0.51 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7.0, 8.0, 5.0 และ 9.0 ตามลำดับ ในระยะเวลา 16 ชั่วโมง สำหรับค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมต่อการบำบัดสี RR141 ของแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C29 คือ 7.0 ให้ค่าการบำบัดสีเท่ากับ 98.55 ± 0.09 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.0, 8.0, 5.0 และ 9.0 ตามลำดับ ในระยะเวลา 16 ชั่วโมง โดยจะเห็นว่าแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์มีความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมสำหรับการบำบัดสีที่แตกต่างกันอยู่ในช่วงกรดอ่อนถึงกลาง (6.0-7.0) จะเห็นว่าค่าความเป็นกรดต่างเป็นปัจจัยหลักที่สำคัญต่อการบำบัดสีของจุลินทรีย์ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมต่อแบคทีเรียจะอยู่ในช่วง 6.0-10.0 (Chen *et al.*, 2003; Guo *et al.*, 2007) อัตราการบำบัดสีจะมีค่าสูงสุดที่ค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสม (optimum pH) และมีแนวโน้มลดลงเมื่อค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วงกรดหรือต่างสูง ๆ ทั้งนี้อิทธิพลของค่าความเป็นกรดต่างมีความเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนผ่านของโมเลกุลของสีผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับขั้นกำหนดอัตรา (rate limiting step) ของการบำบัดสีโดยสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดต่อไป (Chang *et al.*, 2001; Kodam *et al.*, 2005)

3.1.4 อิทธิพลของอุณหภูมิ

อิทธิพลของอุณหภูมิต่อการบำบัดสีในสภาวะนิ่ง ความเข้มข้นสีเริ่มต้นเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมตั้งแต่ 20-60 องศาเซลเซียส (รูปที่ 1D) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการบำบัดสี RR141

ของแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 คือ 35 องศาเซลเซียส ให้ค่าการบำบัดสีเท่ากับ 96.90 ± 0.26 เปอร์เซ็นต์ รองมาคืออุณหภูมิเท่ากับ 40, 30 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในระยะเวลา 16 ชั่วโมง โดยอุณหภูมิสูง ๆ (50-60 องศาเซลเซียส) สามารถบำบัดสีได้เพียง 3.0-6.0 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากที่อุณหภูมิต่ำ (20-25 องศาเซลเซียส) ยังคงสามารถบำบัดสีได้สูงถึง 70.0-88.0 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกันแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C29 ที่อุณหภูมิต่ำ (20-25 องศาเซลเซียส) สามารถบำบัดสีได้สูงถึง 70.0-90.0 เปอร์เซ็นต์ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการบำบัดสี RR141 ของแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C29 คือ 45 องศาเซลเซียส ให้ค่าการบำบัดสีเท่ากับ 97.30 ± 0.13 เปอร์เซ็นต์ รองมาคืออุณหภูมิเท่ากับ 40, 35 และ 30 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในระยะเวลา 16 ชั่วโมง โดยที่อุณหภูมิสูง (50-60 องศาเซลเซียส) สามารถบำบัดสีได้เพียง 1.0-10.0 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมและความสามารถในการปรับตัวเข้ากับอุณหภูมิของสิ่งมีชีวิตจะมีผลโดยตรงกับความมีชีวิตของสิ่งมีชีวิต (microbial vitality) ซึ่งเกิดจากการปรับตัวเข้าให้กับอุณหภูมิต่าง ๆ ได้ผ่านระบบชีวเคมีหรือเอนไซม์ภายในเซลล์ จากการรายงานของ Chang และคณะ (2000) และ Santos และคณะ (2007) พบว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงแคบๆ มีผลต่อกระบวนการบำบัดสีอย่างแบบ reactive โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบบำบัด โดยเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางสรีรวิทยาของจุลินทรีย์ และนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของพลังงานกระตุ้น (activation energy) ในเซลล์ (Yu *et al.*, 2001) นอกจากนั้น อุณหภูมิยังส่งผลต่ออัตราการผลิตเอนไซม์ ผลได้ของการผลิตชีวมวล และรวมไปถึงกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์อีกด้วย โดยอัตราการบำบัดสีจะเพิ่มสูงสุดที่อุณหภูมิที่เหมาะสม

(optimum temperature) และจะลดลงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิไป โดยที่อุณหภูมิสูงจะทำให้เซลล์ตายหรือเอนไซม์ azoreductase เสื่อมสภาพไป ทำให้ความสามารถในการบำบัดสีลดลงไปด้วย (Chang *et al.*, 2001; Saratale *et al.*, 2009)

3.1.5 อิทธิพลของแหล่งคาร์บอน

อิทธิพลของแหล่งคาร์บอน เข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส ไซโลส ซูโครส แป้ง และแมนนิทอล ต่อการบำบัดสีของแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 (รูปที่ 1E) พบว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการบำบัดสี RR141 ของแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 คือกลูโคส ให้ค่าการบำบัดสีเท่ากับ 94.61 ± 0.30 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือซูโครส แป้ง และแมนนิทอล ตามลำดับ ในระยะเวลา 16 ชั่วโมง สำหรับแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการบำบัดสี RR141 ของแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C29 คือไซโลสและกลูโคส ให้ค่าการบำบัดสีไม่แตกต่างกัน เท่ากับ 93.02 ± 0.19 และ 93.34 ± 0.35 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือซูโครส แป้ง และแมนนิทอล ตามลำดับ ในระยะเวลา 16 ชั่วโมง

คาร์บอนเป็นปัจจัยสำคัญต่อการบำบัดสีโดยจุลินทรีย์ เนื่องจากในน้ำเสียที่มีสีย้อมมีแหล่งคาร์บอนไม่เพียงพอต่อการเติบโตของเซลล์โดยจุลินทรีย์ (Khelifi *et al.*, 2009; Tony *et al.*, 2009) สิ่งมีชีวิตมีคุณลักษณะเฉพาะของวิธีการย่อยสลาย (metabolic characteristic) ที่แตกต่างกันจึงนำไปสู่การใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการบำบัดสีของจุลินทรีย์แต่ละชนิดนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ซึ่งจะมีความเหมาะสมแตกต่างกันไป แต่โดยทั่วไปแล้วมักจะใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการบำบัดสีย้อมในกลุ่มเอโซหรือน้ำเสียสีย้อม เช่น สีย้อม Reactive Violet 5 โดยกลุ่มจุลินทรีย์ *Paenibacillus polymyxa*, *Micrococcus*

luteus และ *Micrococcus* sp. (Moosvi *et al.*, 2007) สีย้อม Orange II โดย *Geobacillus stearothermophilus* (Evangelista-Barreto *et al.*, 2009) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการบำบัดสี เนื่องจากแป้งเป็นสิ่งที่เหลือจากกระบวนการตกแต่งสำเร็จ (textile finishing process) โดยแป้งจะเป็นซับสเตรตร่วม (co-substrate) ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการบำบัดน้ำเสียสีย้อมจากโรงงานอุตสาหกรรมสิ่งทอโดยการบำบัดโดยจุลินทรีย์ (Babu *et al.*, 2007)

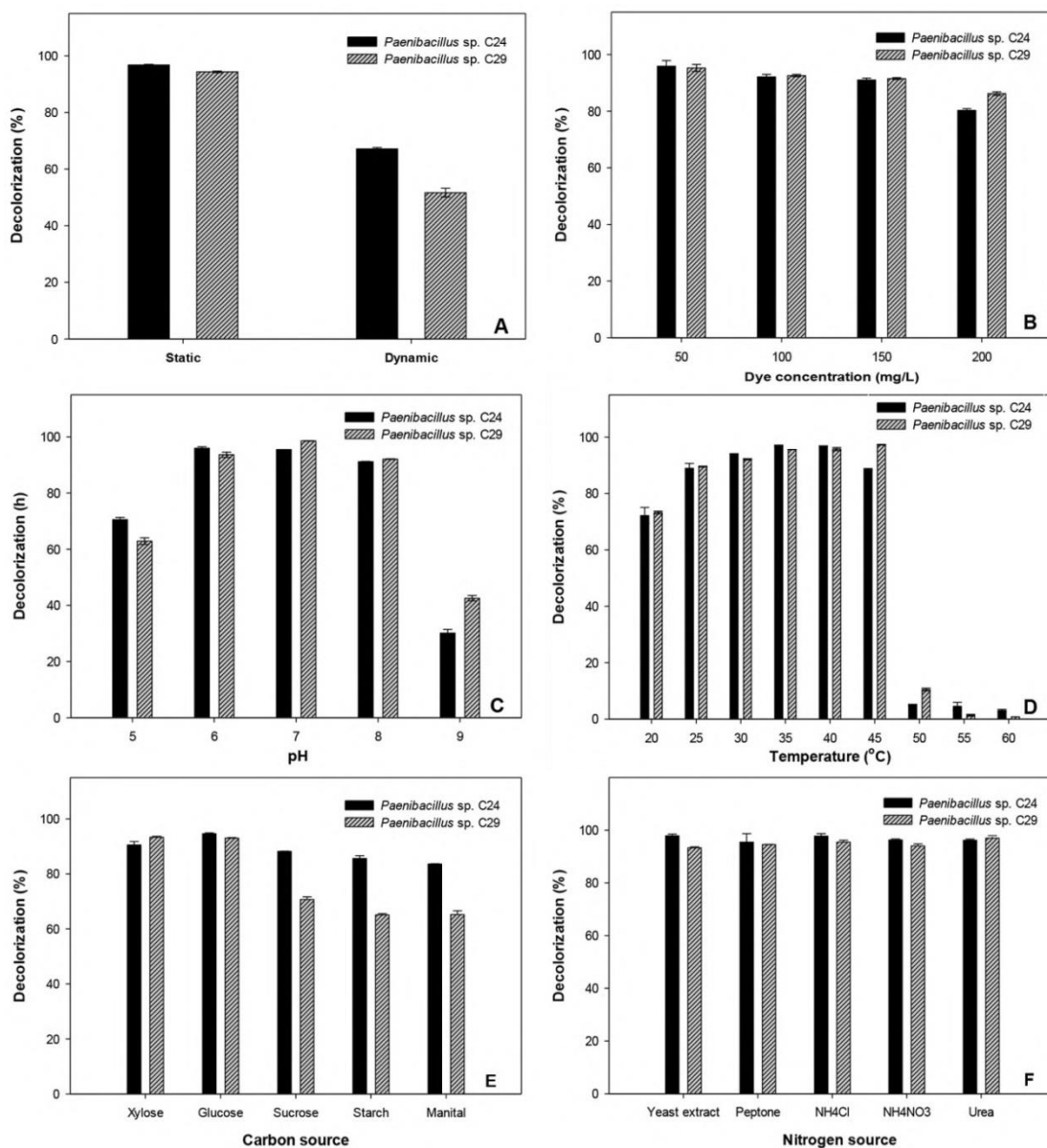
3.1.6 อิทธิพลของแหล่งไนโตรเจน

อิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร 5 ชนิด ได้แก่ ยีสต์สกัด เปปโตน แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมไนเตรต และยูเรีย ต่อการบำบัดสีของแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 (รูปที่ 1F) พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการบำบัดสี RR141 ของแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 ทั้ง 5 ชนิด ให้ผลการบำบัดสีไม่แตกต่างกัน (มากกว่า 95.0 เปอร์เซ็นต์) โดยที่แอมโมเนียมคลอไรด์ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การบำบัดสีสูงสุดเท่ากับ 97.86 ± 0.62 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือยีสต์สกัด แอมโมเนียมไนเตรต ยูเรีย และเปปโตน ตามลำดับ ในระยะเวลา 16 ชั่วโมง ส่วนแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการบำบัดสี RR141 ของแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C29 คือ แอมโมเนียมคลอไรด์ และยูเรียให้ผลการบำบัดสีไม่แตกต่างกัน (มากกว่า 95.0 เปอร์เซ็นต์) โดยที่ยูเรียให้ค่าเปอร์เซ็นต์การบำบัดสีสูงสุดเท่ากับ 96.97 ± 0.98 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือแอมโมเนียมคลอไรด์ เปปโตน แอมโมเนียมไนเตรต และยีสต์สกัด ตามลำดับ ในระยะเวลา 16 ชั่วโมง

ไนโตรเจนเป็นปัจจัยสำคัญต่อการบำบัดสีโดยจุลินทรีย์เช่นเดียวกับแหล่งคาร์บอน โดยงานวิจัยที่ผ่านมา มีการเติมแหล่งคาร์บอนลงไปเพื่อส่งเสริมกระบวนการบำบัดได้น้อยกว่าการเติม

แหล่งไนโตรเจน เนื่องจากจุลินทรีย์ยังสามารถใช้
 เป็นแหล่งคาร์บอนได้ด้วย (Saratale et al., 2009)
 ในทางกลับกัน การเติมแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ลง
 ในน้ำเสียเสียจะช่วยให้ส่งเสริมการบำบัดได้สูงมาก
 เนื่องจากไนโตรเจนอินทรีย์ เช่น ยีสต์สกัด เปปโตน

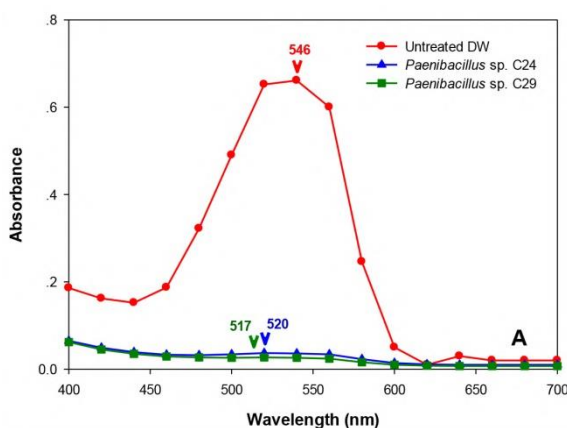
และเนื้อสัตว์ สามารถให้สารพลังงานศักย์สูงคือ
 NADH ซึ่งใช้เป็นตัวให้อิเล็กตรอน (electron
 donors) ในกระบวนการบำบัดสีย้อมในกลุ่มเอโซ
 โดยจุลินทรีย์ (Chang et al., 2000)



รูปที่ 1 ปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อการบำบัดสี Reactive Red 141 โดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 ได้แก่ สภาพการบำบัด (A) ความเข้มข้นของสี RR141 (B) ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น (C) อุณหภูมิ (D) ชนิดของแหล่งคาร์บอน (E) และชนิดของแหล่งไนโตรเจน (F)

3.2 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์หลังการบำบัด

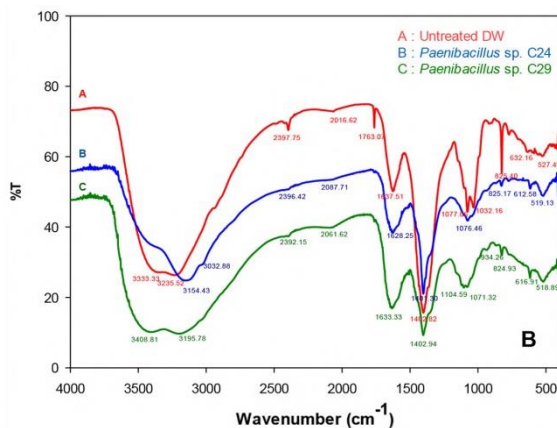
ผลิตภัณฑ์หลังการบำบัดโดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 ที่สภาวะเหมาะสมต่าง ๆ มีค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปเปรียบเทียบกับสี RR141 ก่อนการบำบัด (รูปที่ 2A) พบว่าสี RR141 ก่อนการบำบัดมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 546 นาโนเมตร หลังจากบำบัดด้วยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเปลี่ยนแปลงเป็น 520 และ 517 นาโนเมตร ตามลำดับ มีค่า COD removal (%) เท่ากับ



รูปที่ 2 UV-Visible spectra (A) และ FTIR spectra (B) ของสี Reactive Red 141 ก่อนและหลังการบำบัดด้วยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29

51.57 และ 63.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

สำหรับการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันโดยเครื่อง Fourier transform infrared spectrometer (FTIR) ร่วมกับโปรแกรม IR mentor และ WIN IR พบว่าโครงสร้างของสี RR141 เริ่มต้นก่อนการบำบัด (รูปที่ 2B) มีตำแหน่งที่มีหมู่ OH ในกลุ่ม alcohol ที่ตำแหน่ง peak 3333.33 และ 32535.52 หมู่ NH₂ ในกลุ่ม amine ที่ตำแหน่ง peak 1637.51 หมู่ SO₂ ในกลุ่ม sulfur ที่ตำแหน่ง peak 1402.82 หมู่ CH ในกลุ่ม aromatic ที่ตำแหน่ง peak 1077.05 และ 1032.16 และหมู่ C-Cl ในกลุ่ม halogen ที่ตำแหน่ง peak 632.16



ตารางที่ 1 ค่า COD ของน้ำสี Reactive Red 141 ก่อนและหลังบำบัดด้วยแบคทีเรีย

ผลิตภัณฑ์หลังการบำบัด	COD (mg/L)		COD removal (%)
	ก่อนบำบัด	หลังบำบัด	
<i>Paenibacillus</i> sp. C24	14,860.76±7.20	7,495.72±7.92	51.57
<i>Paenibacillus</i> sp. C29	14,060.76±2.42	5,104.45±4.05	63.69

สำหรับผลิตภัณฑ์หลังการบำบัดโดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 (รูปที่ 2B) พบหมู่ NH ในกลุ่ม hydrazide ที่ตำแหน่ง peak

3154.43 และ 3032.88 หมู่ NH₂ ในกลุ่ม amine ที่ตำแหน่ง peak 1628.25 หมู่ SO₂ ในกลุ่ม sulfur ที่ตำแหน่ง peak 1407.30 หมู่ CH ในกลุ่ม aromatic

ที่ตำแหน่ง peak 1076.46 และ 825.17 และหมู่ C-Cl ในกลุ่ม halogen ที่ตำแหน่ง peak 612.58 เช่นเดียวกับ ผลิตภัณฑ์หลังการบำบัดโดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C29 (รูปที่ 2B) พบหมู่ NH ในกลุ่ม amine ที่ตำแหน่ง peak 3408.81 และในกลุ่ม hydrazide ที่ตำแหน่ง peak 3195.78 หมู่ NH₂ ในกลุ่ม amines ที่ตำแหน่ง peak 1633.33 หมู่ SO₂ ในกลุ่ม sulfur ที่ตำแหน่ง peak 1402.94 และ 1104.59 หมู่ CH ในกลุ่ม aromatic ที่ตำแหน่ง peak 1071.32, 934.26 และ 824.93 หมู่ C-Cl ในกลุ่ม halogen ที่ตำแหน่ง peak 616.91

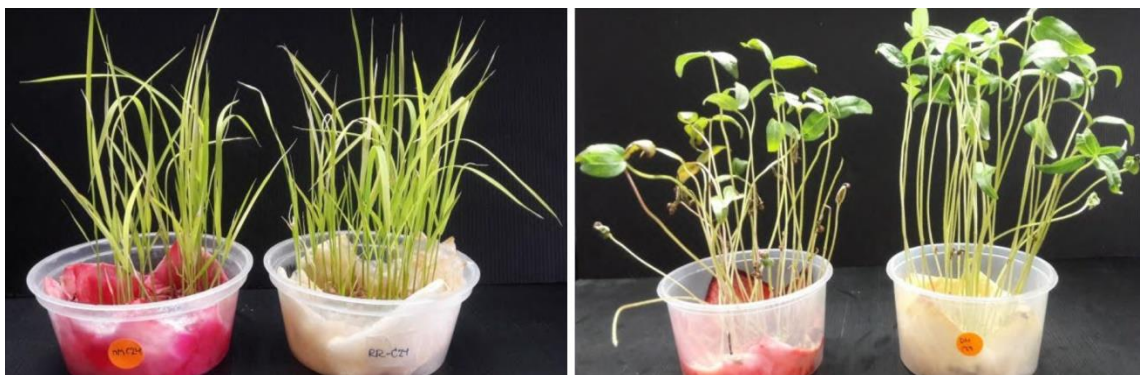
โดยเห็นได้ว่ายังคงพบตำแหน่ง peak CH ในกลุ่ม aromatic ของผลิตภัณฑ์หลังการบำบัดโดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษกับสิ่งมีชีวิตเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์การบำบัดโดยแบคทีเรียจะเป็นการช่วยย่อยโครงสร้างหลักของสีให้เป็นโครงสร้างที่มีขนาดเล็กลง เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Govindwar และคณะ (2008) ใช้ *Rhizobium radiobacter* MTCC 8161 บำบัดสี RR141 ผลิตภัณฑ์หลังการบำบัดได้ผลิตภัณฑ์โมเลกุลขนาดเล็กออกมา คือ monoazo intermediated, naphthalene 2-diazonium 1,5-disulfonic acid และ 2-nitroso naphthol 4,7-disulfonic acid (Telke et al., 2008)

3.3 ศึกษาความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์หลังการบำบัด

เมื่อนำของแข็งที่เป็นผลิตภัณฑ์หลังการบำบัดโดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 ละลายกับน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร นำน้ำที่เตรียมได้ไปรดข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ที่มีเมล็ดสมบูรณ์ ครั้งละ 30 มิลลิตร ในช่วงเวลา 09:00 น. ทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับการรดด้วยน้ำกลั่น (รูปที่ 3)

พบว่าลักษณะของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่รดด้วยน้ำสี RR141 หลังการบำบัดด้วยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 เปรียบเทียบกับน้ำสีก่อนการบำบัด (ตารางที่ 2) พบว่ามีอัตราการงอกที่สูงขึ้นจาก 70.0 เป็น 82.5 เปอร์เซ็นต์ ความยาวรากเฉลี่ยสูงขึ้นจาก 5.41 ± 2.03 เป็น 5.56 ± 1.66 เซนติเมตร และความยาวของลำต้นเฉลี่ยสูงขึ้นจาก 3.52 ± 0.61 เป็น 3.70 ± 0.77 เซนติเมตร ไม่แตกต่างจากข้าวที่รดด้วยน้ำกลั่น (ตัวควบคุม) ความยาวใบเฉลี่ยสูงขึ้นจาก 7.52 ± 2.14 เป็น 9.25 ± 2.91 เซนติเมตร ซึ่งมีความยาวใบเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ การรดด้วยน้ำกลั่น ($p \leq 0.01$) สำหรับต้นถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 เมื่อรดด้วยน้ำสีหลังการบำบัดมีอัตราการงอกสูงขึ้นจาก 62.5 เป็น 80.0 เปอร์เซ็นต์ ความยาวรากเฉลี่ยสูงขึ้นจาก 3.02 ± 1.16 เป็น 3.65 ± 1.05 เซนติเมตร และความยาวใบเฉลี่ยสูงขึ้นจาก 2.70 ± 0.50 เป็น 2.87 ± 0.48 เซนติเมตร ไม่แตกต่างจากถั่วเขียวที่รดด้วยน้ำกลั่น (ตัวควบคุม) ในขณะที่ความยาวลำต้นเฉลี่ยสูงขึ้นจาก 16.11 ± 2.70 เป็น 16.20 ± 4.27 เซนติเมตร ซึ่งมีความยาวลำต้นเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการรดด้วยน้ำกลั่น ($p \leq 0.01$)

สำหรับความเป็นพิษของน้ำสี RR141 หลังการบำบัดด้วยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C29 เปรียบเทียบกับน้ำสีก่อนการบำบัด (ตารางที่ 3) ทดสอบกับข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 พบว่ามีอัตราการงอกที่สูงขึ้นจาก 72.5 เป็น 80.0 เปอร์เซ็นต์ ความสูงของลำต้นเฉลี่ยลดลงจาก 3.52 ± 0.61 เป็น 3.76 ± 0.53 เซนติเมตร ไม่แตกต่างจากข้าวที่รดด้วยน้ำกลั่น (ตัวควบคุม) สำหรับความยาวรากยาวขึ้นจาก 4.69 ± 1.21 เป็น 5.77 ± 1.90 เซนติเมตร ความยาวใบยาวขึ้นจาก 7.52 ± 2.14 เป็น 9.95 ± 2.44 เซนติเมตร ซึ่งมีความยาวรากและความยาวใบเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการรดด้วยน้ำกลั่น ($p \leq 0.01$) ในส่วนของต้นถั่วเขียวพันธุ์กำแพง-



รูปที่ 3 ตัวอย่างการทดสอบความเป็นพิษของสี Reactive Red 141 ก่อนและหลังบำบัดโดย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 ต่อการเติบโตของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 (ซ้าย) และถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 (ขวา)

ตารางที่ 2 ลักษณะของข้าวและถั่วเขียวที่รดด้วยน้ำสี Reactive Red 141 ก่อนและหลังบำบัดโดย *Paenibacillus* sp. C24 เป็นเวลา 14 วัน

พารามิเตอร์	ข้าว			ถั่วเขียว		
	น้ำกลั่น	ก่อนบำบัด	หลังบำบัด	น้ำกลั่น	ก่อนบำบัด	หลังบำบัด
เปอร์เซ็นต์การงอก	87.50	70.00	82.50	85.00	62.50	80.00
ความยาวราก (ซม.)	7.85±1.78	5.41±2.03	5.56±1.66	4.75±1.68	3.65±1.05	3.02±1.16
ความยาวลำต้น (ซม.)	3.83±1.18	3.52±0.61	3.70±0.77	17.03±3.41	16.11±2.70**	16.20±4.27*
ความยาวใบ (ซม.)	10.41±1.85	7.52±2.14**	9.25±2.91*	2.97±0.66	2.70±0.50	2.87±0.48

*แตกต่างจากตัวควบคุม (น้ำกลั่น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$

**แตกต่างจากตัวควบคุม (น้ำกลั่น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.01$

ตารางที่ 3 ลักษณะของข้าวและถั่วเขียวที่รดด้วยน้ำสี Reactive Red 141 ก่อนและหลังบำบัดโดย *Paenibacillus* sp. C29 เป็นเวลา 14 วัน

พารามิเตอร์	ข้าว			ถั่วเขียว		
	น้ำกลั่น	ก่อนบำบัด	หลังบำบัด	น้ำกลั่น	ก่อนบำบัด	หลังบำบัด
เปอร์เซ็นต์การงอก	87.50	72.50	80.00	85.00	57.50	70.00
ความยาวราก (ซม.)	7.85±3.78	4.69±1.21**	5.77±1.90*	4.98±1.64	4.55±1.16	4.75±1.68
ความยาวลำต้น (ซม.)	4.17±0.73	3.52±0.61	3.76±0.53	19.43±2.16	17.03±3.41	17.18±3.37
ความยาวใบ (ซม.)	10.65±2.11	7.52±2.14**	9.95±2.44*	3.18±0.50	2.87±0.48**	3.11±0.63*

*แตกต่างจากตัวควบคุม (น้ำกลั่น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.05$

**แตกต่างจากตัวควบคุม (น้ำกลั่น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p \leq 0.01$

แสน 2 เมื่อรดด้วยน้ำสีหลังการบำบัดมีอัตราการงอกที่สูงขึ้นจาก 57.50 เป็น 70.00 เปอร์เซ็นต์ ความยาวรากยาวขึ้นจาก 4.55 ± 1.16 เป็น 4.75 ± 1.68 เซนติเมตร ความยาวลำต้นสูงขึ้นจาก 17.03 ± 3.41 เป็น 17.18 ± 3.37 เซนติเมตร ไม่แตกต่างจากต้นแก้วเขียวที่รดด้วยน้ำกลั่น (ตัวควบคุม) ส่วนความยาวใบยาวขึ้นจาก 2.87 ± 0.48 เป็น 3.11 ± 0.63 เซนติเมตร ซึ่งมีความยาวใบเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการรดด้วยน้ำกลั่น ($p \leq 0.01$)

4. สรุป

แบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 ที่คัดแยกได้จากดินประเทศญี่ปุ่น มีประสิทธิภาพในการบำบัด RR141 ในสภาวะหนึ่งดีกว่าในสภาวะเขย่า ความเข้มข้นของสีเริ่มต้นที่เหมาะสม คือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการบำบัด คือ 6.0 และ 7.0 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการบำบัด คือ 35.0 และ 45.0 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ในขณะที่แอมโมเนียมคลอไรด์ และยูเรียถูกใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยการบำบัดสี RR141 ที่ได้หลังการบำบัดภายในระยะเวลา 16 ชั่วโมง เท่ากับ 97.86 ± 0.62 และ 96.67 ± 0.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลิตกัณฑ์หลังการบำบัดโดยแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์มีค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปจาก 546 เป็น 520 และ 517 นาโนเมตร ตามลำดับ ค่า COD removal (%) เท่ากับ 51.57 และ 63.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันโดยเครื่อง Fourier transform infrared spectrometer (FTIR) พบว่าหลังการบำบัดโดยแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 พบสารในกลุ่มเอมีน ซัลเฟอร์ และอะโรมาติกที่สูงขึ้นทั้ง 2 สายพันธุ์ เมื่อนำผลิตกัณฑ์หลังการบำบัดทดสอบความเป็นพิษ

กับข้าวปทุมธานี 1 และถั่วเขียวกำแพงแสน 2 ทำให้อัตราการงอก ความสูงของลำต้นเฉลี่ย ความยาวใบเฉลี่ย และความยาว รากเฉลี่ยแตกต่างจากการรดด้วยน้ำสีก่อนการบำบัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. C24 และ *Paenibacillus* sp. C29 สามารถบำบัดสี RR141 ได้ แต่ผลิตกัณฑ์หลังการบำบัดยังคงความเป็นพิษอยู่

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่จัดสรรทุนสนับสนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2558 เลขที่สัญญา 011/2558 มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ และขอขอบคุณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่กรุณาอนุเคราะห์ให้ใช้เครื่องมือสำหรับการวิจัยนี้

6. รายการอ้างอิง

- นิรมล ศากยวงศ์ และดุขยา จันทร์เสาร์, 2556, การบำบัดสีรีแอคทีฟโดยแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 21: 147-158.
- ปรียัทัย ชีรางกูร, ปิยวรรณ กลมเกลี้ยง, ชีระชัย รัตนันต์, นิรมล ศากยวงศ์ และพนิดา อุนะกุล, 2557, การหาสภาวะที่เหมาะสมของการบำบัดสี Reactive Red 141 โดย *Lentinus tigrinus* AP8, Thai J. Sci. Technol. 3: 216-228.
- ปิยวรรณ กลมเกลี้ยง, ชีระชัย รัตนันต์, นิรมล ศากยวงศ์ และสายัณห์ สมฤทธิ์ผล, 2557, การจำแนกราดด้วยวิธีไอทีเอสพีซีอาร์และความสามารถในการบำบัดสีรีแอคทีฟ RR141, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22: 683-694.
- Babu, B.R., Parande, A.K., Raghu, S. and Kumar, T.P., 2007. Cotton textile

- processing: Waste generation and effluent treatment, J. Cotton. Sci. 5: 141-153.
- Boonurapeepinyo, S., Koga, N., Sakkayawong, N. and Ogawa, N., 2013, Isolation of soil bacteria that decolorize Reactive Red 141, a major industrial textile dye used in Thailand, Soil Microb. 67: 10-13.
- Chang, J.S. and Kuo, T.S., 2000. Kinetics of bacterial decolorization of azo dye with *Escherichia coli* No. 3, Biores. Technol. 75: 107-111.
- Chang, J.S. and Lin, Y.C., 2000, Fed-batch bioreactor strategies for microbial decolorization of azo dye using a *Pseudomonas luteola* strain, Biotechnol. Progr. 16: 979-985.
- Chang, J.S., Chou, C., Lin, Y.C., Lin, P.J., Ho, J.Y. and Hu, T.L., 2001, Kinetic characteristics of bacterial azo dye decolorization by *Pseudomonas Luteola*, Water Res 35: 2841-2850.
- Chang, J.S., Kuo, T.S., Chao, Y.P., Ho, J.Y. and Lin, P.J., 2000. Azo dye decolorization with a mutant *Escherichia coli* strain, Biotechnol. Lett. 22: 807-812.
- Chen, K.C., Wu, J.Y., Liou, D.J. and Hwang, S.C., 2003, Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains, J. Biotechnol. 101: 57-68.
- Evangelista-Barreto, N.S., Albuquerque, C.D., Vieira, R. and Takaki, G.M., 2009, Cometabolic decolorization of the Reactive azo dye Orange II by *Geobacillus stearothermophilus* UCP 986, Text. Res. J. 79: 1266-1273.
- Guo, J., Zhou, J., Wang, D., Tian, C., Wang, P., Salah U.M. and Yu, H., 2007, Biocatalyst effects of immobilized anthraquinone on the anaerobic reduction of azo dyes by the salt-tolerant bacteria, Water Res. 41: 426-432.
- Jadhav, S.U., Jadhav, M.U., Kagalkar, A.N. and Govindwar, S.P., 2008. Decolorization of Brilliant Blue G dye mediated by degradation of the microbial consortium of *Galactomyces geotrichum* and *Bacillus* sp., J. Chin. Inst. Chem. Eng. 39: 563-570.
- Joshi, T., Iyengar, L., Singh, K. and Garg, S., 2007, Isolation, identification and application of novel bacterial consortium TJ-1 for the decolourization of structurally different azo dyes, Biores. Technol. 99: 7115-7121.
- Khehra, M.S., Saini, H.S., Sharma, D.K., Chadha, B.S. and Chimni, S.S., 2006, Biodegradation of azo dye C.I. Acid Red 88 by an anoxic-aerobic sequential bioreactor, Dyes Pigments 70: 1-7.
- Khelifi, E., Ayed, L., Bouallagui, H., Touhami, Y. and Hamdi, M., 2009, Effect of nitrogen and carbon sources on Indigo and Congo red decolourization by *Aspergillus alliaceus* strain 121C, J. Hazard. Mater. 163: 1056-1062.
- Kodam, K.M., Soojhawon, I., Lokhande, P.D. and Gawai, K.R., 2005, Microbial decolorization of reactive azo dyes under aerobic conditions, World J. Microb. Biot. 21: 367-370.
- Moosvi, S., Kher, X. and Madamwar, D., 2007,

- Isolation, characterization and decolorization of textile dyes by a mixed bacterial consortium JW-2, Dyes Pigments 74: 723-729.
- Rai, S.H., Bhattacharyya S.M., Singh J., Bansal, T.K., Vats, P. and Banerjee, U.C., 2005, Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: A review of emerging techniques with reference to biological treatment, Crit. Rev. Env. Sci. Tec. 35: 219-238.
- Santos, A.B., Cervantes, F.J. and Lier, J.B., 2007, Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology, Biores. Technol, 98: 2369-2385.
- Saratale, R.G., Saratale, G.D., Chang, J.S. and Govindwar, S.P., 2009. Ecofriendly degradation of sulfonated diazo dye C.I. reactive green 19a using *Micrococcus Glutamicus* NCIM-2168, Biores. Technol. 100: 3897-3905.
- Telke, A., Kalyani, D., Jadhav, J. and Govindwar, S., 2008, Kinetics and mechanism of Reactive Red 141 degradation by a bacterial isolate *Rhizobium radiobacter* MTCC 8161, Acta Chim. Slov. 55: 320-329.
- Tony, B.D., Goyal, D. and Khanna, K., 2009, Decolorization of textile azo dyes by aerobic bacterial consortium, Int. Biodeter. Biodegr. 63: 462-469.
- You, S.J. and Teng, J.Y., 2009, Anaerobic decolorization bacteria for the treatment of azo dye in a sequential anaerobic and aerobic membrane bioreactor, J. Taiwan Inst. Chem. Eng. 40: 500-504.
- Yu, J., Wang, X. and Yue, P.L., 2001, Optimal decolorization and kinetic modeling of synthetic dyes by *Pseudomonas* strains, Water Res. 35: 3579-3586.