

การกำจัดสปอร์ของ *Bacillus subtilis* ในน้ำ
ด้วยปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสจากการใช้ผง
และแผ่นกรองจุ่มเคลือบผงไทเทเนียมไดออกไซด์
Inactivating *Bacillus subtilis* Spores in Water with
Photocatalysis Using TiO_2 Powder
and TiO_2 Dip-coated Filter

ดวงพร รอดพิทักษ์ และภารดี ช่วยบำรุง*

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

สิทธิสุนทร สุโพธิณะ

ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Toungporn Rodpitak and Paradee Chuaybamroong*

Department of Environmental Science, Faculty of Science and Technology,

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

Sitthisuntorn Supothina

National Metal and Materials Technology Center, National Science and Technology Development

Agency, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาการกำจัดสปอร์ของ *Bacillus subtilis* ในน้ำด้วยปฏิกิริยาไทเทเนียมไดออกไซด์โฟโตคะตะไลซิสภายใต้แสงจากดวงอาทิตย์เป็นเวลา 180 นาที โดยใช้ผง Degussa P25 ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.001 ถึง 0.05 กรัม/ลิตร แต่เนื่องจากผงนั้นก่อให้เกิดความขุ่นของน้ำและไม่สามารถแยกออกหลังการบำบัดเสร็จสิ้น งานวิจัยจึงมีการพัฒนาเป็นแผ่นกรองจุ่มเคลือบผง Degussa P25 (ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 % โดยน้ำหนัก) โดยใช้สารยึดติดชนิด polyethylene glycol (PEG) น้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 1,000 ถึง 6,000 ในความเข้มข้น 1.5 ถึง 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เพื่อหาชนิดและสัดส่วนที่ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์สูงสุด ผลการศึกษาพบว่าผง Degussa P25

*ผู้รับผิดชอบบทความ : paradee@tu.ac.th

0.005 กรัม/ลิตร กำจัดสปอร์ได้ 100 % ภายในเวลา 120 นาที ขณะที่แผ่นกรองเคลือบ Degussa P25 1 % โดยน้ำหนัก ร่วมกับ PEG น้ำหนักโมเลกุล 2,000 ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (ความเข้มข้นของไทเทเนียมไดออกไซด์ 0.6-1 กรัม/ลิตร) ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์สูงสุด โดยกำจัดได้ 100 % ภายในเวลา 180-240 นาที อย่างไรก็ตาม การเพิ่มจำนวนแผ่นกรองเคลือบให้มากขึ้นไม่ได้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์ เนื่องจากแผ่นกรองที่ใช้มีความหนาแน่นเกินไปจนแสงจากดวงอาทิตย์ไม่สามารถทะลุผ่านมายังด้านล่าง การผลิตอนุโมลิสระจึงเกิดได้ไม่ทั่วถึง แผ่นกรองในส่วนที่มีอนุโมลิสระน้อยจึงเป็นที่หลบซ่อนของจุลินทรีย์ได้ ผลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการกำจัดจุลินทรีย์ในน้ำชนิดอื่น ๆ ต่อไป

คำสำคัญ : การกำจัดเชื้อโรคในน้ำ; ไทเทเนียมไดออกไซด์; โฟโตคะตะไลซิส; การจุ่มเคลือบ

Abstract

The aim of this study was to inactivate spores of *Bacillus subtilis* in water using TiO_2 photocatalyst under sunlight irradiation for a duration of 180 min. Two forms of TiO_2 were used, Degussa P25 powder in a concentration of 0.001 to 0.05 g/L and Degussa P25 dip-coated filter. Since Degussa P25 powder is suspended in water, its elimination after treatment is very difficult. This research, thus, used a dip-coating technic to fix Degussa P25 onto a filter. Polyethylene glycol molecular weights of 1,000 to 6,000 were used as a binder in a concentration of 1.5 to 25 mg/mL, while the concentrations of Degussa P25 were 1, 3, and 5 wt%. The results showed that a 0.005 g/L of Degussa P25 powder was the most efficient condition to inactivate the spores (100 % efficiency) within 120 min. For the coated filter, 1 wt% of Degussa P25 and 20 mg/mL of PEG molecular weight of 2000 (TiO_2 concentrations of 0.6-1 g/L) gave the best inactivation rate (100 % efficiency) within 180-240 min. However, increase the number of coated filter did not enhance the inactivation efficiency. Since the filter in this study was too thick, the sunlight could not thoroughly penetrate, consequently uneven free radicals were generated. Thus, part of the filter with less radicals could be a place for the microbes to hide. The results from this study can be applied to any water disinfection.

Keywords: water disinfection; titanium dioxide; photocatalysis; dip-coating

1. บทนำ

ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อก่อโรคในน้ำอุปโภคบริโภคยังคงพบได้ทั่วโลก ก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพและการสูญเสียมาโดยตลอด องค์การอนามัยโลกระบุว่าประชากรโลกป่วยจากการดื่มน้ำปนเปื้อนเชื้อที่อยู่ใน

อุจจาระประมาณ 1,700 ล้านคน/ปี ก่อให้เกิดโรคอุจจาระร่วง บิด อหิวาตกโรค ไทฟอยด์ ฯลฯ เป็นสาเหตุให้เด็กเล็กอายุต่ำกว่า 5 ปี เสียชีวิตประมาณ 7 แสนคน/ปี เฉลี่ยนาทีละ 1 คน ส่วนประเทศไทย สำนักโรคระบาดวิทยา รายงานเมื่อปี พ.ศ. 2557 พบผู้ป่วยโรค

อุจจาระร่วง โรคบิด ที่เกิดจากการดื่มน้ำไม่สะอาดทั่วประเทศ 1 ล้านกว่าคน เสียชีวิต 8 คน กระทรวงสาธารณสุขจึงกำหนดให้น้ำประปาควรมีคลอรีนตกค้างไม่น้อยกว่า 0.2-0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลกเพื่อลดการเจ็บป่วยและความสูญเสียดังกล่าว [1]

อย่างไรก็ตาม คลอรีนสามารถทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ในน้ำเกิดเป็นสารประกอบในกลุ่มของไตรฮาโลมีเทน (trihalomethane) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง [2] และคลอรีนยังไม่สามารถกำจัดสปอร์ของแบคทีเรียในกลุ่มของ *Bacillus* spp. [3] และโปรโตซัว เช่น *Giardia lamblia* และ *Cryptosporidium parvum* ที่ก่อให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง [4] บางแห่งจึงเปลี่ยนไปใช้โอโซนซึ่งเป็นสารออกซิไดซ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดไวรัสและแบคทีเรีย โดยโอโซนมาจากการรวมตัวกันของออกซิเจนอะตอมเดี่ยวและออกซิเจนโมเลกุล แต่เนื่องจากออกซิเจนอะตอมเดี่ยวนั้นสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว ทำให้การตกค้างของโอโซนมีไม่มากพอที่จะทำลายเชื้อก่อโรคต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนในภายหลัง [5] จึงต้องมีการค้นหาเทคโนโลยีใหม่ที่ให้ประสิทธิภาพมากกว่า ซึ่งหนึ่งในนั้น คือปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสที่สามารถทำลายแบคทีเรียมากกว่าคลอรีนถึง 3 เท่า และมากกว่าโอโซน 1.5 เท่า [6]

ปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสเกิดจากการใช้สารกึ่งตัวนำ เช่น ไทเทเนียมไดออกไซด์ (TiO_2) ดูดซับพลังงานของแสงเอาไว้ ทำให้อิเล็กตรอนที่อยู่ในชั้นวาเลนซ์ของสารกึ่งตัวนำสามารถข้ามไปยังชั้นคอนดักชันที่มีระดับพลังงานสูงกว่า จึงเกิดรูว่างหรือ hole^+ ในชั้นวาเลนซ์ ซึ่งสามารถออกซิไดซ์ไฮดรอกไซด์ในน้ำกลายเป็นอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ($^{\circ}\text{OH}$) ส่วนอิเล็กตรอนที่ขึ้นไปยังชั้นคอนดักชันก็สามารถรีดิวซ์ออกซิเจนที่อยู่รอบ ๆ สารกึ่งตัวนำให้กลายเป็นอนุมูล

อิสระซูเปอร์ออกไซด์ (O_2°) ได้ โดยอนุมูลอิสระทั้งคู่มีสมบัติในการเป็นตัวออกซิไดซ์และตัวรีดิวซ์ที่รุนแรงจึงสามารถทำลายเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์และทำลายองค์ประกอบภายในเซลล์ ทำให้เซลล์ตายไปในที่สุด [7]

ไทเทเนียมไดออกไซด์สามารถใช้งานได้ทั้งในรูปของผงและในรูปของการเคลือบลงบนตัวกลาง การใช้งานในรูปของผงมีข้อดี คือ มีพื้นที่ผิวสัมผัสมากและมีการกระจายตัวในน้ำอย่างทั่วถึง จึงเกิดปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสได้อย่างรวดเร็ว แต่ข้อเสีย คือ เกิดการแขวนลอยในน้ำจึงยากที่จะแยกผงออกจากน้ำหลังการบำบัดเสร็จสิ้น ส่วนการใช้งานแบบการเคลือบให้ความสะดวกมากกว่าเนื่องจากไม่เกิดการแขวนลอยในน้ำ แต่ข้อเสีย คือ พื้นที่ผิวสัมผัสในการเกิดปฏิกิริยาลดลง อีกทั้งการตรึงผงไทเทเนียมไดออกไซด์ลงบนตัวกลางในกระบวนการเคลือบนั้นต้องไม่ให้เกิดการหลุดร่วงของผง โดยนิยมใช้ตัวยึดติด (binder) เป็นตัวยึดไว้ โดยต้องควบคุมความเข้มข้นของทั้งตัวยึดติดและผงไทเทเนียมไดออกไซด์ให้เหมาะสม งานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาการใช้ตัวยึดติดชนิด polyethylene glycol (PEG) น้ำหนักโมเลกุลต่าง ๆ กัน คือ 1,000, 2,000, 4,000 และ 6,000 ในความเข้มข้นตั้งแต่ 1.5 ไปจนถึง 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตรึงผงไทเทเนียมไดออกไซด์ชนิด Degussa P25 บนแผ่นกรองใยแก้วที่เป็น pre-filter สำหรับการกรองอากาศทั่วไปซึ่งมีราคาถูกและหาได้ง่าย โดยใช้ความเข้มข้นของผง Degussa P25 1, 3 และ 5 % โดยน้ำหนัก ใช้แสงจากดวงอาทิตย์เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส เพื่อเป็นการลดต้นทุนด้านพลังงานในการกำจัดสปอร์ของ *Bacillus subtilis* ในน้ำ สามารถนำไปใช้ในสภาวะหรือในห้องที่ไม่มีไฟฟ้าใช้ ทั้งนี้การเลือกสปอร์เป็นตัวแทนของเชื้อก่อโรคในการศึกษานี้เนื่องจากคลอรีนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ไม่สามารถกำจัดสปอร์ของ *B. subtilis* [8] หากปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสในการศึกษา

นี้กำจัดสปอร์ของ *B. subtilis* ได้ ย่อมหมายความว่าปฏิกิริยานี้สามารถกำจัดเชื้อก่อโรคชนิดอื่น ๆ ในน้ำที่มีความทนทานน้อยกว่าได้อย่างแน่นอน โดยในการศึกษามีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์เมื่อใช้ผงไทเทเนียมไดออกไซด์ Degussa P25 กับการตรึงผงไทเทเนียมบนแผ่นกรองด้วย ผลที่ได้น่าจะเป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้แก้ปัญหาเชื้อก่อโรคปนเปื้อนในน้ำอุปโภคบริโภคต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมสปอร์ *Bacillus subtilis*

แบคทีเรีย *B. subtilis* (TISTR 1460) ซื้อมาจากศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ในรูปเชื้อสด นำมาบ่มเพาะเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดสปอร์ จากนั้นใช้ไม้ swab เชี่ย *B. subtilis* มาผสมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 20 มิลลิลิตร แช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 10 นาที เพื่อฆ่าเซลล์จุลินทรีย์ให้เหลือแต่เฉพาะสปอร์ ทั้งไว้ให้เย็น นำไปหมუნเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็ว 2,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายส่วนใสไปเทียบกับ 0.5 McFarland standard ให้มีความเข้มข้น 10^4 โคโลนี/มิลลิลิตร

2.2 ปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสที่ใช้ผงไทเทเนียมไดออกไซด์

สปอร์ที่ได้จากข้อ 2.1 นำมาผสมกับน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (autoclave) ในอัตราส่วน 170 ไมโครลิตร/ลิตร บรรจุในตู้กระจกขนาดกว้าง×ยาว×สูง เท่ากับ 7×22×18 เซนติเมตร จำนวน 5 ตู้ ตู้ละ 1 ลิตร ใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อคนให้เข้ากัน ดูดน้ำตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร จากแต่ละตู้ หยดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (Himedia) เกลี่ยด้วยวิธี spread plate เพื่อเป็นตัวแทนของจำนวน

โคโลนีที่เวลาเริ่มต้น (C_0) จากนั้นใส่ผงไทเทเนียมไดออกไซด์ Degussa P25 (Evonik) 0.001, 0.005, 0.01 และ 0.05 กรัม ในตู้ทดลองใบที่ 2 ถึง 5 ตามลำดับ โดยเว้นตู้ใบที่ 1 ไว้สำหรับเป็นชุดควบคุม นำตู้ทั้งหมดไปวางไว้บนตาดฟ้าของอาคาร 2 ชั้น ภายใต้แสงจากดวงอาทิตย์นาน 180 นาที ทุก 30 นาที ใช้แท่งแก้วคนน้ำตัวอย่างก่อนดูน้ำไปเกลี่ยเพาะเชื้อในลักษณะเดิม ซึ่งจะได้เป็นจำนวนโคโลนีที่ยังคงหลงเหลืออยู่ในตู้ทดลองแต่ละช่วงเวลา (C_t) และมีการวัดความเข้มรังสีอัลตราไวโอเลตเอ บี และซี ที่ความยาวคลื่น 365, 310 และ 254 นาโนเมตร ตามลำดับ ด้วยเครื่อง radio-meter (AnalytikJena, รุ่น UVX) และบันทึกอุณหภูมิของน้ำทุก 30 นาที ด้วยเซ็นกัน จานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 18-24 ชั่วโมง จึงนับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏ การกำจัดสปอร์ของปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสในแต่ละช่วงเวลาคำนวณในรูปของ C_t/C_0 ประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์ของผงไทเทเนียมไดออกไซด์ในแต่ละความเข้มข้นมีการทดสอบทางสถิติด้วย ANOVA และ student paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

2.3 การจุ่มเคลือบแผ่นกรอง

แผ่นกรองที่ใช้เป็นแผ่นกรองอากาศชนิดใยแก้ว (glass fiber filter) แบบ pre-filter ขนาด 6×7 เซนติเมตร ที่ล้างแวกซ์เคลือบผิวออกด้วย sodium dodecyl sulphate (Loba chemie) ความเข้มข้น 0.08 โมลาร์ เป็นเวลา 10 นาที ก่อนอบแห้งที่ 100 °ซ นาน 1 ชั่วโมง

การตรึงผงไทเทเนียมไดออกไซด์บนแผ่นกรองเริ่มจากกวนสารยึดติดชนิด polyethylene glycol (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 1,000, 2,000, 4,000 และ 6,000 ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมผง Degussa P25 ลงไปโดยศึกษา 3 ความเข้มข้น คือ 1, 3 และ 5 % โดย

น้ำหนัก กวนต่ออีก 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำแผ่นกรองจุ่มลงในสารแขวนลอยทิ้งไว้ 1 นาที ดึงขึ้นด้วยเครื่องดึงในอัตรา 10 ซม./นาที ผึ่งพองหมด แล้วอบที่อุณหภูมิ 100 °ซ นาน 1 ชั่วโมง นำมาจุ่มเคลือบและอบซ้ำในลักษณะเดิมจนครบ 1-10 รอบ (ขึ้นกับความเข้มข้นของ Degussa P25 ที่ใช้) แล้วจึงเผาที่อุณหภูมิ 420 °ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อกำจัดสารอินทรีย์ให้ระเหยออกไป หลังจากทราบน้ำหนักโมเลกุลของ PEG ที่เหมาะสมที่สุดแล้ว จึงทดสอบความเข้มข้นของ PEG อย่างละเอียดอีกครั้ง คือ 1.5, 3, 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นจึงเลือก PEG น้ำหนักโมเลกุลและความเข้มข้นที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดมาศึกษาสัดส่วนของ Degussa P25 (1, 3 และ 5 % โดยน้ำหนัก) อีกครั้ง ประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์ของ PEG แต่ละชนิดในแต่ละความเข้มข้น และสัดส่วนของ Degussa P25 ที่ใช้ ได้ทดสอบทางสถิติด้วย ANOVA และ student paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

2.4 ปฏิกริยาโฟโตคะตะไลซิสที่ใช้แผ่นกรองจุ่มเคลือบ

นำแผ่นกรองที่เคลือบไทเทเนียมไดออกไซด์แล้วจากข้อ 2.3 ใส่ลงในบีกเกอร์ทดลองขนาด 600 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นผสมสปอร์ของ *B. subtilis* ในลักษณะเดียวกับข้อ 2.2 จากนั้นดูดน้ำตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยเพาะเชื้อบน nutrient agar เพื่อให้ทราบจำนวนโคโลนีเริ่มต้น แล้วจึงนำบีกเกอร์ทั้งหมดไปวางไว้บนแดดฟ้าภายใต้แสงจากดวงอาทิตย์เป็นเวลา 180 นาที ทุก 30 นาที ดูน้ำตัวอย่างมาเกลี่ยเพาะเชื้อในลักษณะเดิม และวัดความเข้มรังสีอัลตราไวโอเลตเอบี และซี รวมทั้งอุณหภูมิของน้ำเช่นเดียวกับข้อ 2.2

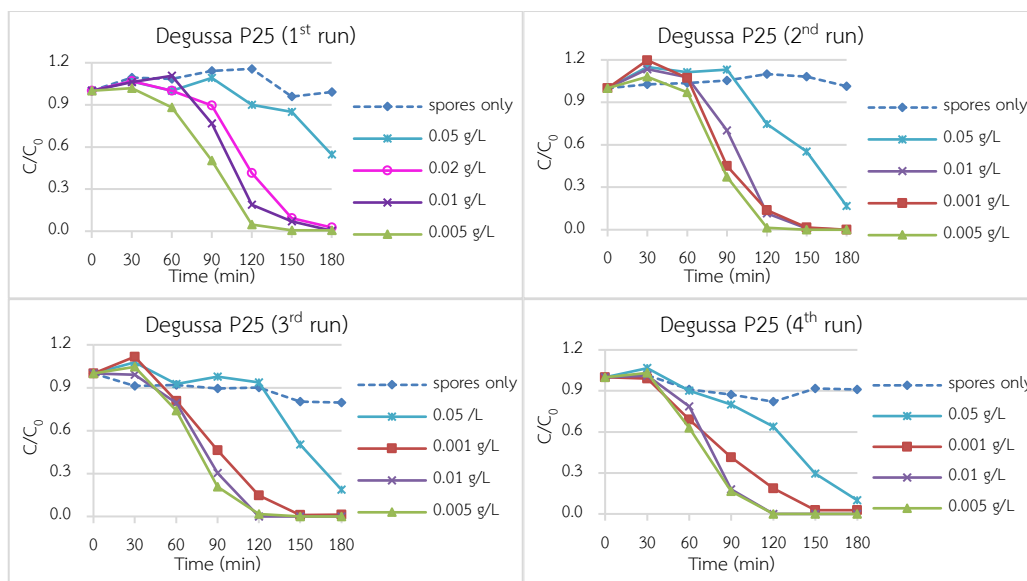
3. ผลการศึกษาและวิจารณ์

3.1 การใช้ผงไทเทเนียมไดออกไซด์

การกำจัดสปอร์ของ *B. subtilis* ในน้ำโดย

ใช้ผง Degussa P25 ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.001 ถึง 0.05 กรัม/ลิตร ภายใต้แสงจากดวงอาทิตย์ ทำทั้งหมด 4 ครั้ง ในวันและเวลาที่ต่างกัน แสดงผลดังรูปที่ 1 โดยในครั้งที่ 1 ใช้ความเข้มข้น 0.005-0.05 กรัม/ลิตร ส่วนครั้งที่ 2 ถึง 4 ได้ลดความเข้มข้นลงเป็น 0.001-0.05 กรัม/ลิตร เนื่องจากผลของครั้งที่ 1 พบว่าความเข้มข้นที่ใช้นั้นสูงเกินไป

รูปที่ 1 พบว่าผงไทเทเนียมไดออกไซด์ 0.05 กรัม/ลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุคนั้นให้ประสิทธิภาพน้อยที่สุดทั้ง 4 ครั้งของการทดลอง เนื่องมาจากความเข้มข้นที่มากเกินไปก่อให้เกิดความขุ่นของน้ำในช่วง 339-375 NTU (รูปที่ 2) แสงจากดวงอาทิตย์จึงส่องทะลุผ่านมายังน้ำด้านล่างได้น้อยกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ ปฏิกริยาโฟโตคะตะไลซิสจึงมีประสิทธิภาพด้อยกว่าความเข้มข้นอื่นไปด้วย [9] ขณะที่ความเข้มข้น 0.005 กรัม/ลิตร ให้ประสิทธิภาพสูงสุดทั้ง 4 ครั้งของการทดลอง สามารถกำจัดสปอร์อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 120 นาที ส่วนความเข้มข้น 0.001 กรัม/ลิตร ในครั้งที่ 2 ถึง 4 นั้น เป็นความเข้มข้นที่น้อยจนเกินไป โดยมีความขุ่นเพียง 10.2-18.9 NTU ประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์จึงน้อยลงไปด้วย เนื่องจากการผลิตอนุมูลอิสระมีน้อยเกินไป ในขณะที่ความเข้มข้น 0.01 กรัม/ลิตร ให้ประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกับความเข้มข้น 0.005 กรัม/ลิตร ในครั้งที่ 3 และ 4 ซึ่งเป็นไปได้ว่าเป็นเพราะความขุ่นนั้นใกล้เคียงกันมาก ความสามารถในการส่องผ่านของแสงและการผลิตอนุมูลอิสระจึงน่าจะต่างกันไม่มาก อย่างไรก็ตามในแง่ของสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % แล้ว พบว่าความแตกต่างระหว่างการใช้ความเข้มข้น 0.001, 0.005 และ 0.01 กรัม/ลิตร ในครั้งที่ 2-4 ไม่มีนัยสำคัญแต่อย่างใด ($p = 0.95$) แต่ครั้งที่ 1 พบว่าการใช้ความเข้มข้น 0.005 กรัม/ลิตร ต่างจากความเข้มข้น 0.01 กรัม/ลิตร อย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.02$)



1st run: UVA 0.82-2.05 mW/cm², UVB 0.7-1.85 mW/cm², UVC 0.06-0.18 mW/cm², water temp. 28-38 °C;
 2nd run: UVA 0.81-1.84 mW/cm², UVB 0.69-1.65 mW/cm², UVC 0.05-0.14 mW/cm², water temp. 26-34 °C;
 3rd run: UVA 0.99-1.88 mW/cm², UVB 0.75-1.63 mW/cm², UVC 0.05-0.13 mW/cm², water temp. 26-37 °C;
 4th run: UVA 0.93-1.88 mW/cm², UVB 0.8-1.65 mW/cm², UVC 0.06-0.13 mW/cm², water temp. 24.5-37 °C.

Figure 1 Inactivating *B. subtilis* spores with Degussa P25 photocatalysis.

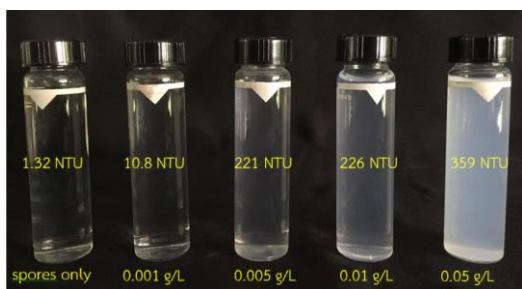


Figure 2 Water turbidity from different Degussa P25 concentrations.

3.2 ชนิดและปริมาณสารยัดติดในการเคลือบแผ่นกรอง

การเคลือบแผ่นกรองด้วยผง Degussa P25 เริ่มจากการศึกษาโมเลกุลของสารยัดติดที่เหมาะสม ได้แก่ PEG1000, PEG2000, PEG4000 และ PEG6000 โดยทุกชนิดใช้ในปริมาณที่เท่ากัน คือ 20

มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แต่ใช้ความเข้มข้นของ Degussa P25 ที่หลากหลาย กล่าวคือ การศึกษาครั้งที่ 1 ใช้ Degussa P25 1 % โดยน้ำหนัก ครั้งที่ 2 ใช้ความเข้มข้น 3 % โดยน้ำหนัก และครั้งที่ 3 ใช้ความเข้มข้น 5 % โดยน้ำหนัก เพื่อสังเกตว่ามวลโมเลกุลของสารยัดติดที่ให้ประสิทธิภาพสูงที่สุดนั้น สอดคล้องกันในทุกความเข้มข้นของผงไทเทเนียมไดออกไซด์ที่ใช้หรือไม่ ผลการศึกษาแสดงดังรูปที่ 3

รูปที่ 3 ชัดเจนว่า PEG2000 นั้นเป็นชนิดของสารยัดติดที่เหมาะสมที่สุดทั้ง 3 ความเข้มข้นของผง Degussa P25 โดยประสิทธิภาพของ PEG2000 มีความแตกต่างจาก PEG อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($p = 0.004-0.045$) และเมื่อนำแผ่นกรองเคลือบ PEG น้ำหนักโมเลกุลต่างกันไปวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่อง

เกรด ได้ผลดังรูปที่ 4 โดยในรูปเป็นการใช้ Degussa P25 ความเข้มข้น 1 % โดยน้ำหนัก แลวบนใช้กำลังขยาย 1,500 เท่า แลวล่างใช้กำลังขยาย 5,000 เท่า

รูปที่ 4 พบว่า PEG2000 ค่อนข้างจะมีความพรุนมากกว่า PEG น้ำหนักโมเลกุลอื่น ๆ ที่มีลักษณะแน่นทึบกว่ามาก โดยความพรุนช่วยให้มีพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยามากขึ้น ลำดับต่อไปเป็นการศึกษาความเข้มข้นของ PEG2000 (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

ที่ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์สูงสุด โดยครั้งแรกใช้ Degussa P25 ความเข้มข้น 1 % โดยน้ำหนัก และใช้ PEG2000 ตั้งแต่ 1.5 จนถึง 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ครั้งที่ 2 ทดลองเปลี่ยนเป็น Degussa P25 ความเข้มข้น 5 % โดยน้ำหนัก และเพิ่ม PEG2000 ไปจนถึง 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยทุกบีกเกอร์กำหนดให้มีความเข้มข้นของไทเทเนียมไดออกไซด์ต่อน้ำ 1 กรัม/ลิตร เท่ากัน ผลการศึกษาแสดงดังรูปที่ 5

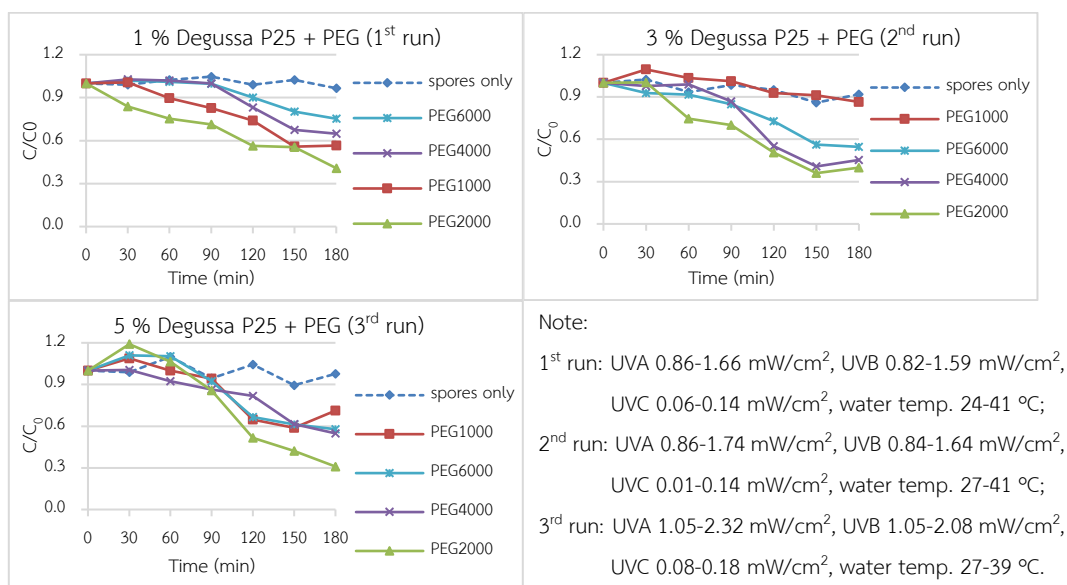


Figure 3 Inactivating *B. subtilis* spores with Degussa P25-coated filters using different binders.

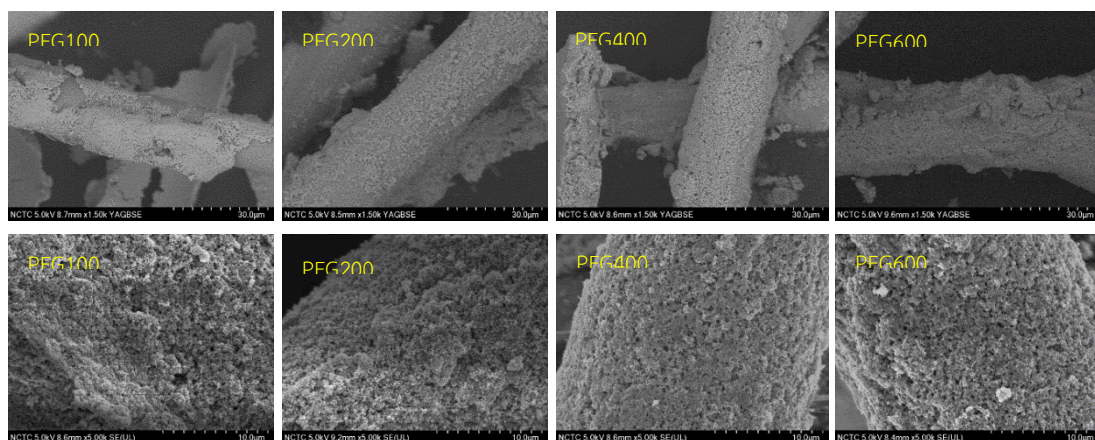
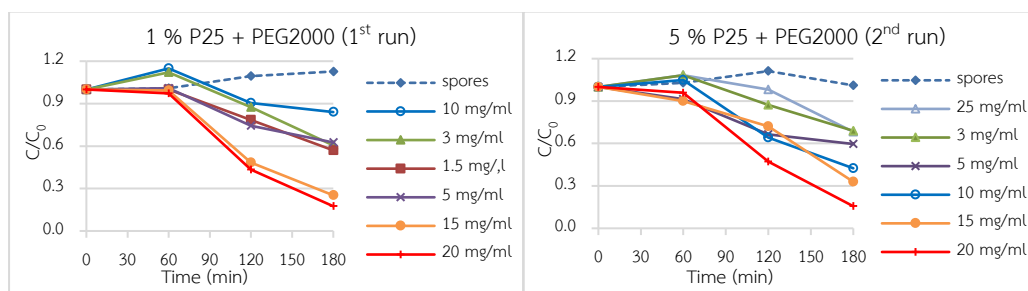


Figure 4 Morphologies of Degussa P25-coated filters using different binders.



1st run: UVA 0.7-1.25 mW/cm², UVB 0.61-1.25 mW/cm², UVC 0.04-0.09 mW/cm², water temp. 26-34 °C;

2nd run: UVA 0.51-1.67 mW/cm², UVB 0.41-1.51 mW/cm², UVC 0.03-0.12 mW/cm², water temp. 23-31 °C.

Figure 5 Inactivating *B. subtilis* spores with Degussa P25-coated filters using different binder concentrations.

รูปที่ 5 พบว่าปริมาณ PEG2000 ที่เหมาะสม คือ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สอดคล้องกันทั้ง 2 ครั้งของการทดลอง ไม่ว่าจะใช้ Degussa P25 1 % โดยน้ำหนัก (กำจัดสปอร์ได้ 80.2 % เมื่อครบ 180 นาที) หรือ 5 % โดยน้ำหนัก (กำจัดสปอร์ได้ 84 %) แม้ว่าในเชิงสถิติแล้ว ความแตกต่างระหว่างการใช้ PEG 15 และ 20 มิลลิกรัม/ลิตร จะไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ก็ตาม ($p = 0.06-0.15$) ซึ่งความเข้มข้นของสารยึดติดที่น้อยเกินไป (3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) หรือมากเกินไป (25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ล้วนแต่ให้ประสิทธิภาพที่ต่ำทั้งสิ้น จำเป็นต้องมีความเข้มข้นที่เหมาะสมจึงจะให้ประสิทธิภาพสูงสุด และเมื่อนำแผ่นกรองเคลือบ Degussa P25 5 % โดยน้ำหนัก ไปวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ได้ผลดังรูปที่ 6

รูปที่ 6 เห็นได้ชัดเลยว่าความเข้มข้นของ PEG 3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นปริมาณสารยึดติดที่น้อยเกินไป การเคลือบเส้นใยจึงมีไทเทเนียมไดออกไซด์ปกคลุมไม่ทั่วถึงหากเทียบกับความเข้มข้นอื่น ๆ ซึ่งเห็นได้ชัดจนเมื่อกำลัษขยาย 1,500 เท่า (รูปซ้ายสุด) เมื่อเพิ่มปริมาณสารยึดติดให้มากขึ้น การปกคลุมทั่วถึงจึงเพิ่มขึ้น โดยที่กำลัษขยาย 20,000 เท่า (รูปขวาสุด)

พบว่าตั้งแต่ความเข้มข้น PEG 15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขึ้นไป พื้นผิวของเส้นใยที่เคลือบไทเทเนียมไดออกไซด์ มีความขรุขระชัดเจนกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ จึงน่าจะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นที่เกินจุดพอดี หรือที่ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร กลับมีประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์ลดลง เป็นไปได้ว่า การเกาะติดของไทเทเนียมไดออกไซด์มีมากจนเกินไปทำให้หลุดร่วงได้ง่าย และแสงแดดไม่สามารถทะลุไปถึงพื้นผิวชั้นในปฏิกิริยาจึงไม่ดีเท่าที่ควร

3.3 ความเข้มข้นของ Degussa P25 ในการเคลือบแผ่นกรอง

การศึกษาใช้ผง Degussa P25 ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 % โดยน้ำหนักผสมกับสารยึดติด PEG2000 ในปริมาณ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เคลือบแผ่นกรองสำหรับกำจัดสปอร์ของ *B. subtilis* ผลการศึกษาแสดงได้ดังรูปที่ 7

รูปที่ 7 ครั้งที่ 1 พบว่า Degussa P25 ความเข้มข้น 1 % โดยน้ำหนักให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์สูงสุด (87 %) อย่างชัดเจน สอดคล้องกับการวิเคราะห์ทางสถิติที่ความแตกต่างนั้นนัยสำคัญ ($p = 0.001$) ขณะที่ครั้งที่ 2 ประสิทธิภาพระหว่างความเข้มข้น 1 และ 3 % แทบไม่แตกต่างกัน (73 และ 69 %

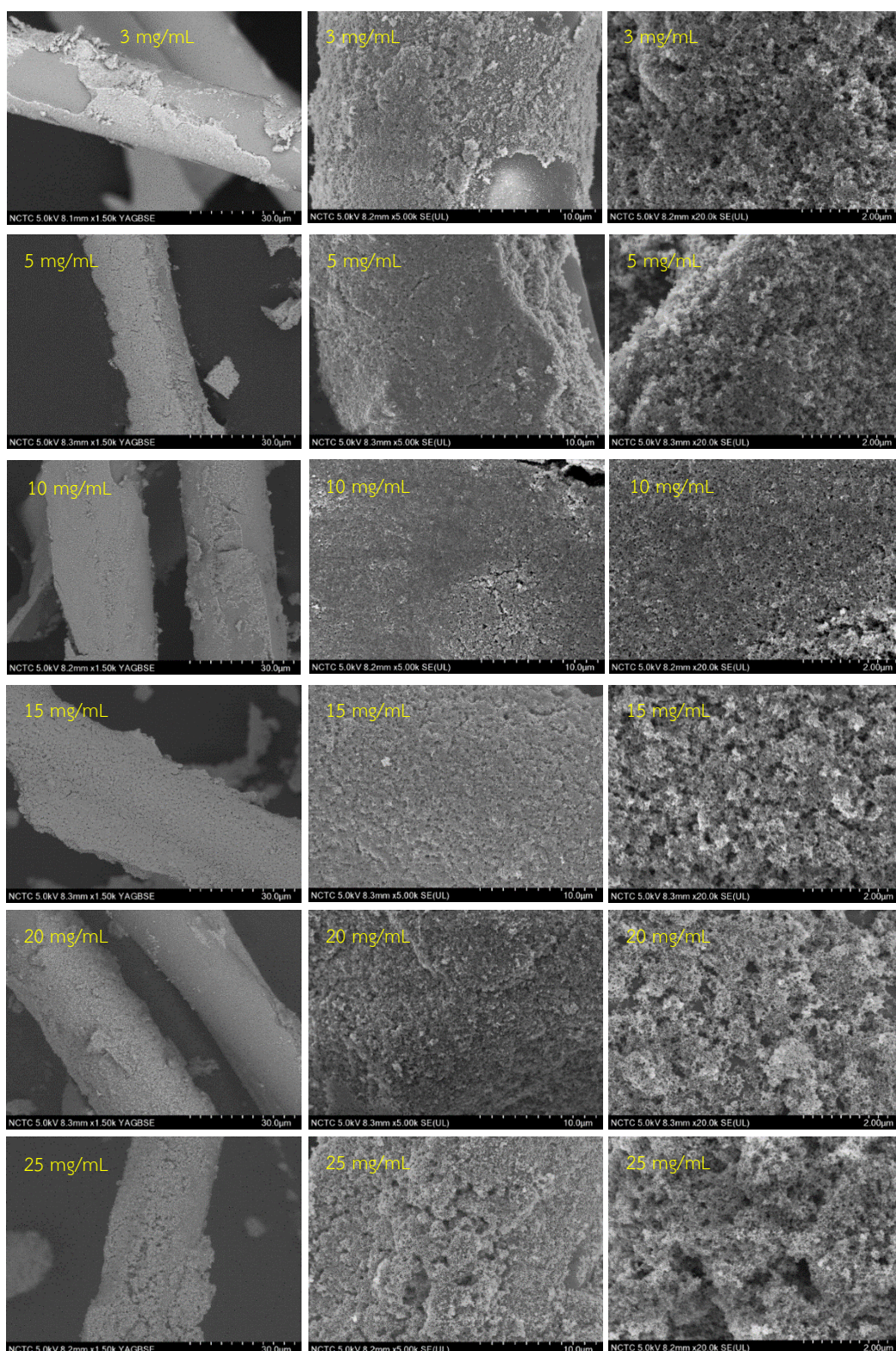


Figure 6 Morphologies of Degussa P25-coated filters using different binder concentrations.

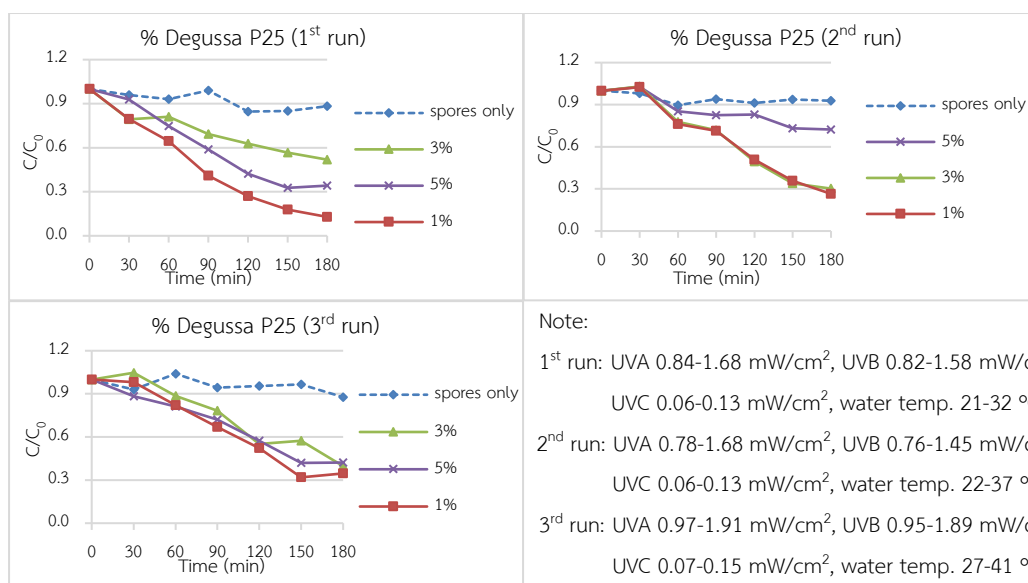


Figure 7 Inactivating *B. subtilis* spores with Degussa P25-coated filters using different Degussa P25 concentrations.

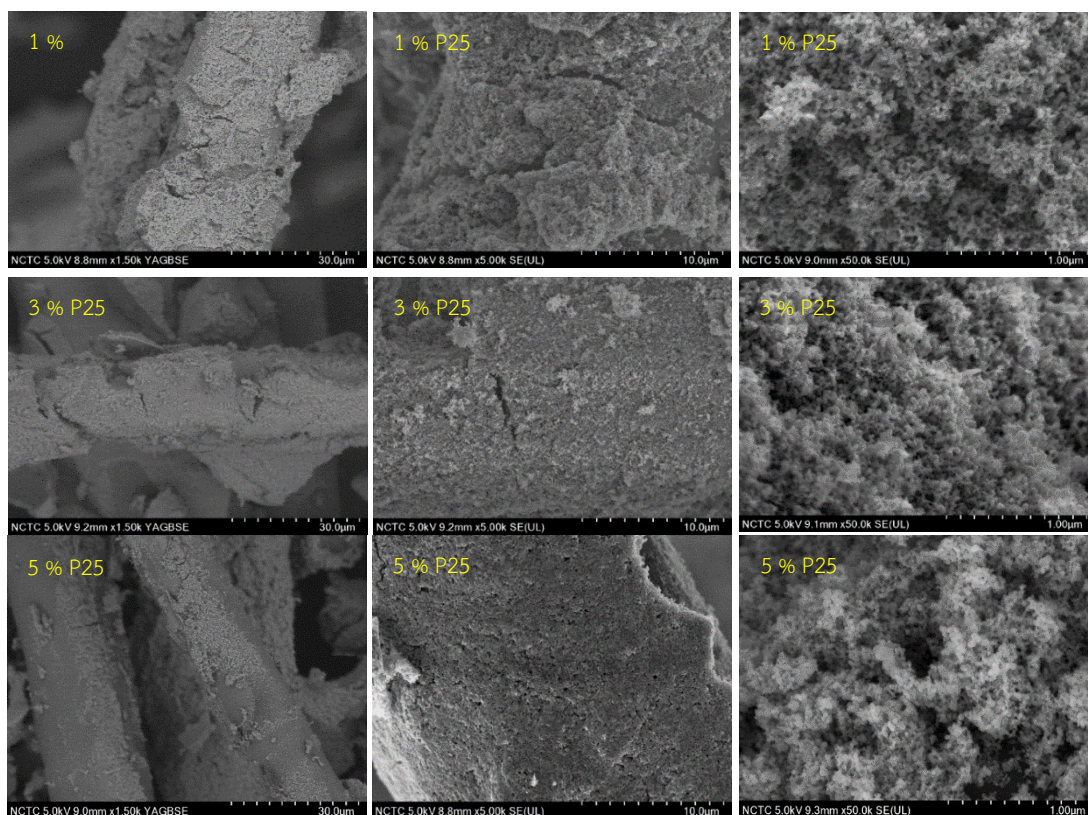


Figure 8 Morphologies of Degussa P25-coated filters using different Degussa P25 concentrations.

ตามลำดับ) ส่วนครั้งที่ 3 ทั้ง 3 ความเข้มข้นให้ผลใกล้เคียงกันแม้ว่าความเข้มข้น 1 % นั้นกำจัดสปอร์ได้มากที่สุด (65 %) ก็ตาม ซึ่งในเชิงสถิติแล้ว ความแตกต่างนั้นก็ไม่มีความสำคัญเช่นกัน ($p = 0.26-0.82$) ทั้งนี้ น้ำหนักของไทเทเนียมไดออกไซด์บนแผ่นกรองต่อน้ำในทุกบีกเกอร์ทั้ง 3 ครั้งที่ทดลอง กำหนดให้มีความเข้มข้น 1 กรัม/ลิตร และเมื่อนำแผ่นกรองเคลือบไปวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด สามารถแสดงผลได้ดังรูปที่ 8

รูปที่ 8 พบว่าการเคลือบ Degussa P25 ความเข้มข้น 1, 3 และ 5 % โดยน้ำหนักบนแผ่นกรองนั้นแทบไม่ต่างกันที่ค่าลยขยาย 50,000 เท่า (รูปขาวสุด) แต่พอจะเห็นความแตกต่างได้บ้างที่ค่าลยขยาย 5,000 เท่า (รูปกลาง) ที่พบว่าความเข้มข้น 1 % มีความขรุขระและความพรุนมากกว่าความเข้มข้น 3 และ 5 % ตามลำดับ ซึ่งที่ค่าลยขยาย 1,500 เท่า (รูปซ้ายสุด) พบว่าการเกาะติดของไทเทเนียมไดออกไซด์ความเข้มข้น 1 % นั้นทั่วถึงและแน่นหนามากกว่าความเข้มข้น 5 % ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุให้ความเข้มข้น

1 % ผลิตอนุผลิธระได้มากกว่าและมีประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์ที่เหนือกว่าความเข้มข้น 5 %

3.4 การเปรียบเทียบระหว่างผงและแผ่นกรองเคลือบ Degussa P25

ลำดับสุดท้ายเป็นการเปรียบเทียบการกำจัดสปอร์ของ *Bacillus subtilis* ระหว่างการใช้ผง Degussa P25 ความเข้มข้นที่ดีที่สุด คือ 0.005 กรัม/ลิตร กับแผ่นกรองจุ่มเคลือบ Degussa P25 ความเข้มข้น 1 % ที่ผสมสารยึดติด PEG2000 ในปริมาณ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยครั้งที่ 1 และ 2 เปรียบเทียบระหว่างการใช้แผ่นกรอง 1, 3 และ 5 แผ่น ซึ่งครั้งที่ 1 มีความเข้มข้นของไทเทเนียมไดออกไซด์ต่อน้ำ 1, 4.2 และ 7.5 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ขณะที่ครั้งที่ 2 มีความเข้มข้นของไทเทเนียมไดออกไซด์ต่อน้ำ 0.9, 3.1 และ 7.2 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ส่วนครั้งที่ 3 ใช้จำนวนแผ่นกรอง 1, 2 และ 3 แผ่น มีความเข้มข้นของไทเทเนียมไดออกไซด์ต่อน้ำ 0.6, 3 และ 5.1 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 9

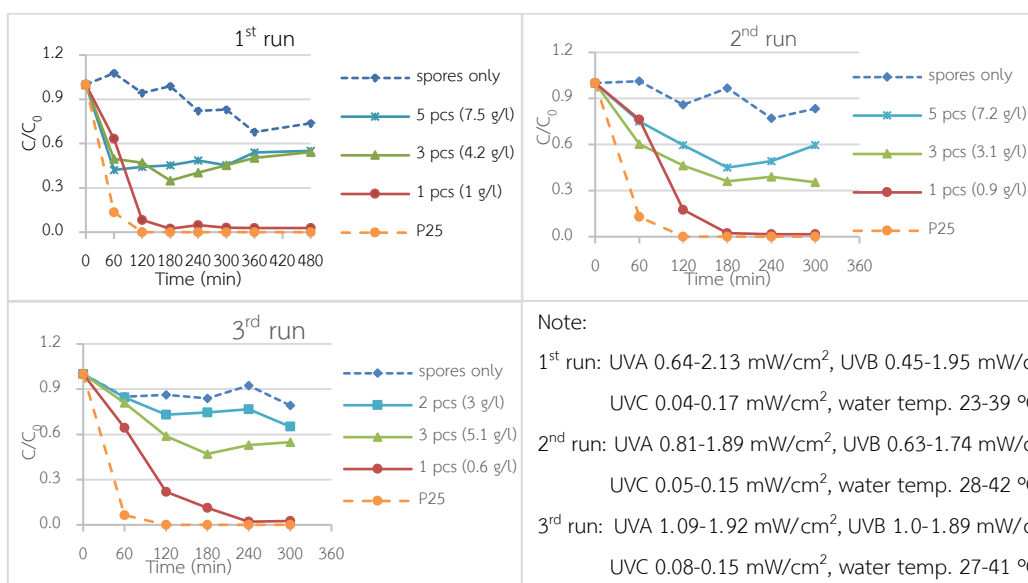


Figure 9 Inactivating *B. subtilis* spores with Degussa P25 and Degussa P25-coated filters.

รูปที่ 9 พบว่าการใช้แผ่นกรองเคลือบ 1 แผ่น ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์มากกว่าการใช้แผ่นกรองเคลือบหลายแผ่น โดยความเข้มข้นของ Degussa P25 ในน้ำจากการใช้แผ่นกรอง 1 แผ่นนั้น มีตั้งแต่ 0.6 ไปจนถึง 1 กรัม/ลิตร สามารถกำจัดสปอร์ได้จนหมดภายในเวลา 180 ถึง 240 นาที ขณะที่ผง Degussa P25 กำจัดสปอร์จนหมดภายในเวลา 120 นาที สาเหตุที่แผ่นกรองเคลือบหลายแผ่นให้ประสิทธิภาพที่ต่ำกว่า อาจเป็นเพราะแผ่นกรองแต่ละแผ่นนั้นมีความหนา (รูปที่ 10) แสงจากดวงอาทิตย์จึงไม่สามารถทะลุผ่านมายังด้านในหรือด้านล่างได้ แผ่นกรองได้อย่างเต็มที่ การผลิตอนุโมลิสระข้างในหรือทางด้านล่างจึงเกิดขึ้นน้อย ทำให้จุลินทรีย์ที่อาจหลบซ่อนอยู่ในบริเวณนั้นสัมผัสกับอนุโมลิสระไม่เต็มที่เช่นเดียวกัน ทั้งนี้ อนุโมลิสระจะเกิดอยู่เฉพาะที่ผิวของไทเทเนียมไดออกไซด์ในระยะเวลาเพียง 5 มิลลิเมตร และมีอายุเพียง 350-400 μ s หรือ 0.0004 วินาทีเท่านั้น [10] ในการทดลองนี้แม้ว่าจะมีการกวนน้ำตัวอย่างก่อนดูดไปบ่มเพาะเชื้อแล้วก็ตาม อนุโมลิสระที่มีเป็นจำนวนมากบริเวณพื้นผิวด้านบนของแผ่นกรองเคลือบที่ได้รับแสงอาทิตย์ อาจสัมผัสกับจุลินทรีย์ที่หลบซ่อนอยู่ในแผ่นกรองด้านล่างในระยะเวลาที่สั้นเกินไปจนไม่สามารถกำจัดสปอร์ ดังนั้นจำนวนแผ่นกรองยิ่งมาก ยิ่งทำให้จุลินทรีย์มีพื้นที่ในการหลบซ่อนตัว ประสิทธิภาพในการกำจัดจึงลดลง ซึ่งหากใช้แผ่นกรองที่บางกว่านี้หรือแสงจากดวงอาทิตย์สามารถส่องทะลุจนเกิดอนุโมลิสระอย่างเต็มที่ ประสิทธิภาพของการกำจัดสปอร์ระหว่างการใช้ผง Degussa P25 และแผ่นกรองเคลือบน่าจะใกล้เคียงกัน โดยความเข้มข้นน้ำจากการใช้แผ่นกรอง 1-5 แผ่น และผง Degussa P25 แสดงดังรูปที่ 10

รูปที่ 10 พบว่าความเข้มข้นน้ำจากการใช้แผ่นกรอง 1-5 แผ่นนั้นน้อยมากและค่อนข้างใกล้เคียงกัน

(223-278 NTU) โดยความเข้มข้นจากการเติมผง Degussa P25 ยังมีมากกว่า (322 NTU) ดังนั้นความเข้มข้นของน้ำจึงไม่น่าจะใช่ปัจจัยที่ทำให้ประสิทธิภาพของการกำจัดสปอร์ต่างกันจากการใช้จำนวนแผ่นกรองเคลือบที่ต่างกัน โดยความเข้มข้นที่น้อยมากแสดงให้เห็นว่าการหลุดของผง Degussa P25 ที่เคลือบอยู่บนแผ่นกรองโดยใช้สารยึดติด PEG2000 นั้นมีน้อยมากเช่นเดียวกัน

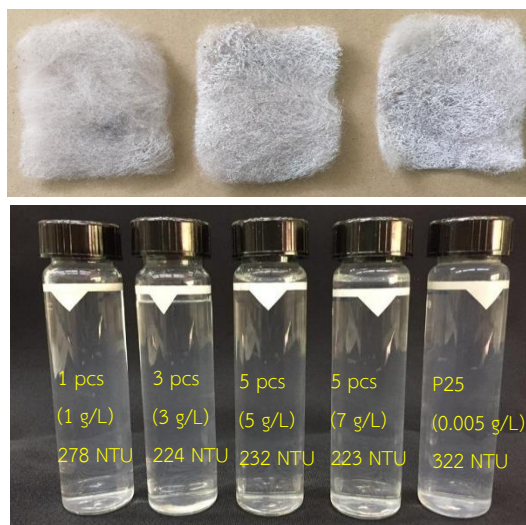


Figure 10 Degussa P25-coated filters and water turbidity from reactors.

4. สรุป

ผง Degussa P25 ความเข้มข้น 0.005 กรัม/ลิตร ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดสปอร์ของ *B. subtilis* ในน้ำ โดยความเข้มข้นที่น้อยไปทำให้การผลิตอนุโมลิสระไม่มากพอที่จะกำจัดสปอร์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วนความเข้มข้นที่มากไปทำให้น้ำมีความขุ่น การผลิตอนุโมลิสระจึงเกิดได้ไม่เต็มที่เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม การแยกผงออกจากน้ำที่บำบัดแล้วกระทำได้อย่างวิธีที่เหมาะสมกว่า คือ การเคลือบ Degussa P25 บนแผ่นกรองโดยใช้สารยึดติด

เป็นตัวช่วย ซึ่งการใช้สารยีสิตัด PEG2000 ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับ Degussa P25 1 % โดยน้ำหนัก ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์สูงสุด และเมื่อเปรียบเทียบการใช้แผ่นกรองเคลือบกับผง Degussa P25 พบว่าผง Degussa P25 0.005 กรัม/ลิตร สามารถกำจัดสปอร์จนหมดภายในระยะเวลาที่สั้นกว่า (120 นาที) ส่วนการใช้แผ่นกรองเคลือบ 1 แผ่น ในความเข้มข้นไทเทเนียมไดออกไซด์ 0.6-1 กรัม/ลิตร สามารถกำจัดสปอร์จนหมดภายในเวลา 180-240 นาที โดยจำนวนแผ่นกรองเคลือบที่เพิ่มขึ้นไม่ได้ช่วยให้ความสามารถในการกำจัดสปอร์เพิ่มขึ้น เนื่องจากแผ่นกรองที่ใช้มีความหนาและน่าจะเป็นที่หลบซ่อนตัวของจุลินทรีย์ แสงอาทิตย์ที่ทะลุผ่านได้น้อยส่งผลให้การผลิตอนุมูลอิสระเกิดขึ้นน้อยจนไม่เพียงพอต่อการกำจัดสปอร์ที่หลบซ่อนดังกล่าว

5. กิตติกรรมประกาศ

เงินวิจัยส่วนหนึ่งที่ใช้ในการศึกษานี้มาจากการสนับสนุนของกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2555 ตามสัญญาเลขที่ ทป. 22/2555 ส่วนการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ สวทช. คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

6. References

- [1] Thairath Online, Illness from Contaminated Water all over the World 1.7 Million Cases per Year, Available Source: <https://www.thairath.co.th/content/411678>, June 6, 2018. (in Thai)
- [2] Wang, L.S., Wei, D.B., Wei, J. and Hu, H.Y., 2007, Screening and estimating of toxicity formation with photobacterium bioassay during chlorine disinfection of waste water, J. Hazard. Mater. 141: 289-294.
- [3] Macauley, J. J., Qiang, Z., Adams, C. D., Surampalli, R. and Mormile, M.R., 2006, Disinfection of swine wastewater using chlorine, ultraviolet light and ozone, Water Res. 40: 2017-26.
- [4] Betancourt, W. and Rose, J. B., 2004, Drinking water treatment processes for removal of *Cryptosporidium* and *Giardia*, Vet. Parasitol. 126: 219-34.
- [5] EPA Victoria 2002, Guidelines for Environmental Management: Disinfection of Treated Wastewater, Available Source: www.epa.vic.gov.au/~media/Publications/730.pdf, January 4, 2017.
- [6] Shon, H. K., Phuntsho, S., Okour, Y., Cho, D. L., Kim, J. B., Na, S., et al., 2008, Visible light responsive titanium dioxide (TiO₂): A review, Appl. Chem. Eng. 19: 1-16.
- [7] Sunada, K., Kikuchi, Y., Hashimoto, K. and Fujishima, A., 1998, Bactericidal and detoxification effects of TiO₂ thin film photocatalysts, Environ. Sci. Technol. 32: 726-728.
- [8] Nawarat, S., Supothina, S. and Chuaybamroong, P., 2010, Removal of *Bacillus subtilis* from wastewater using photocatalysis and ultraviolet- C, Thai Environ. Eng. J. 24(3): 33-42. (in Thai)
- [9] Pelizzetti, E., Pramauro, E., Minero, C. and Serpone, N., 1990, Sunlight photocatalytic

- degradation of organic pollutants in aquatic systems, *Waste Manag.* 10: 65-71.
- [10] Murakami, Y., Endo, K., Ohta, I., Nosaka, A.Y. and Nosaka, Y., 2007, Can OH radicals diffuse from the UV- irradiated photocatalytic TiO_2 surface? Laser-induced- fluorescence study, *J. Phys. Chem. C* 111: 11339-11346.