



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

วิทยาลัยสิ่งแวดล้อม

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การลดความเข้มข้นสารละลายสีของรีแอคทีฟไดเอทิงโดยเชื้อราเส้นใยสีขาว *Datronia* sp. KAPI0039

Decolorization of Reactive Dye Solution by White-Rot Fungus *Datronia* sp. KAPI0039

นามผู้วิจัย นางสาวอรชिरา เพ็ชรชัย

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศวพร สุขผล, ประ.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์นิพนธ์ ดังคนานุรักษ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์พิลาณี ไวกนอมสัจย์, Ph.D.)

ประธานสาขาวิชา

(ศาสตราจารย์เกษม จันทร์แก้ว, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การลดความเข้มข้นสารละลายสีย้อมรีแอคทีฟโดยเชื้อราเส้นใยสีขาว *Datronia* sp. KAPI0039

Decolorization of Reactive Dye Solution by White-Rot Fungus *Datronia* sp. KAPI0039

โดย

นางสาวอรชिरา เพ็ชรช้อย

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อขอความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรบัณฑิตสิ่งแวดล้อม)

พ.ศ. 2552

อรชรา เพ็ชรชัย 2552: การลดความเข้มข้นสารละลายสีย้อมรีแอคทีฟโดยเชื้อราเส้นใย
สีขาว *Datronia* sp. KAPI0039 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
(วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม) สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม วิทยาลัยสิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศพร ศุภผล, ประ.ค. 90 หน้า

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการลดความเข้มข้นสารละลายสีย้อมรีแอคทีฟสีน้ำเงิน
โครงสร้างแอนทราควิโนน คือ Remazol Brilliant Blue R (RBBR) และโครงสร้างอะโซ คือ
Reactive Black 5 (RB5) โดยเชื้อราเส้นใยสีขาว *Datronia* sp. KAPI0039 ทำการศึกษาปัจจัยที่
เหมาะสมต่อการลดความเข้มข้นของสารละลายสีย้อม ดังนี้ ความเข้มข้นสารละลายสีย้อม 200, 400,
600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹ ปริมาณเชื้อราที่ใช้ 1, 2 และ 3 กรัมเปียก และค่า pH เริ่มต้น 3, 5, 7
และ 9 ทำการศึกษาเป็นเวลา 168 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างสารละลายสีย้อมชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 6, 8, 12,
18, 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 นำมาวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นสีย้อม ปริมาณเอนไซม์แลค
เคสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส จากการทดลองพบว่าเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ปริมาณ 2
กรัมเปียก ให้ประสิทธิภาพดีที่สุดในการลดความเข้มข้นสีย้อม RBBR ที่ความเข้มข้นสีย้อม 1,000
mgL⁻¹ ในสภาวะ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5 พบว่าในชั่วโมงที่ 24 สามารถลดความเข้มข้นสีย้อม RBBR ได้
สูงสุดร้อยละ 96.05 ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์แลคเคส เท่ากับ 195.45 UL⁻¹ และมีกิจกรรมเอนไซม์
แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเท่ากับ 38.27 UL⁻¹ ในขณะที่เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ปริมาณ 2
กรัมเปียกให้ประสิทธิภาพดีที่สุดในการลดความเข้มข้นสีย้อม RB5 ที่ความเข้มข้นสี 600 mgL⁻¹ ใน
สภาวะ pH เริ่มต้นเท่ากับ 5 ใช้เวลา 48 ชั่วโมง ลดความเข้มข้นสีย้อมได้สูงสุดร้อยละ 88.01 ซึ่งมี
กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส เท่ากับ 123.69 UL⁻¹ แต่ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์
ออกซิเดส ดังนั้นเชื้อราเส้นใยสีขาว *Datronia* sp. KAPI0039 มีความสามารถในการลดความเข้มข้นสี
ย้อม RBBR ได้ดีกว่า RB5 และคาดว่าเอนไซม์แลคเคสเป็นเอนไซม์หลักที่เชื้อราเส้นใยสีขาว
Datronia sp. KAPI0039 ผลิตขึ้นในช่วงที่มีการลดความเข้มข้นสีย้อมทั้ง 2 ชนิด

Oncheera Petchoy 2009: Decolorization of Reactive Dye Solution by White-Rot Fungus *Datronia* sp. KAPI0039. Master of Science (Environmental Science), Major Field: Environmental Science, College of Environment. Thesis Advisor: Assisant Professor Savaporn Supaphol, Ph.D. 90 pages.

This study focused on the color removal of two types of reactive dyes; Remazol Brilliant Blue R (RBBR) and Reactive Black 5 (RB5) by white-rot fungus *Datronia* sp. KAPI0039. The concentration of reactive dye (200, 400, 600, 800 and 1,000 mgL⁻¹), fungal inoculum size (1, 2, 3% (w/v)) as well as reaction pH (3, 5, 7, 9) were optimized within the reaction time 168 hours. Samples were periodically collected at 0, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 48, 72, 96, 120, 144 and 168 hours for the measurement of color unit, Laccase activity and Manganese Peroxidase (MnP) activity. The results showed that 2% (w/v) *Datronia* sp. KAPI0039 was most effective for the reduction of 1,000 mgL⁻¹ RBBR at pH 5 with %color removal at 96.05%. The highest laccase (195.45 UL⁻¹) and manganese peroxidase (38.27 UL⁻¹) activities were also detected in the optimal condition. For RB5, *Datronia* sp. KAPI0039 efficiently performed at 2% (w/v) fungal inoculum size for the reduction of 600 mgL⁻¹ RB5 under pH 5 with %decolorization 88.01 %. The highest laccase activities (123.69 UL⁻¹) was detected whereas an activity of manganese peroxidase was absent during this hour. The result, therefore, indicated that *Datronia* sp. KAPI0039 was obviously able to breakdown both reactive dyes and laccase was considered as a major lignin-degradation enzyme in this case.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

____ / ____ / ____

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศวพร สุขผล ประธานกรรมการที่ปรึกษารองศาสตราจารย์ ดร. นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์ กรรมการสาขาวิชาเอก และ ดร.พิลาณี ไวณนอมสัตย์ กรรมการสาขาวิชารอง ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและความเอาใจใส่ในการตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องเพื่อความสมบูรณ์ของวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ดร.สมชาย เอื้อพัฒนกุล ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่กรุณาเอื้อเพื่อเชื้อรา *Datroia* sp. KAPI0039 และทุนสนับสนุนตลอดการวิจัย ตลอดจนเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการหน่วยเทคโนโลยีเอนไซม์และการจัดการของเสีย ฝ่ายนาโนเทคโนโลยีและเทคโนโลยีชีวภาพ ขอขอบพระคุณบริษัท Dystar Thai จำกัด ที่สนับสนุนสีย้อมรีแอคทีฟสำหรับการวิจัย

ขอขอบคุณสมาชิกร่วมห้องปฏิบัติการทุกๆ คนสำหรับมิตรภาพที่ดี การให้ความช่วยเหลือและกำลังใจในการทำวิจัย ขอขอบคุณเพื่อนวิทยาลัยสิ่งแวดล้อมรุ่น 30 รุ่นพี่ รุ่นน้องที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจแก่ข้าพเจ้ามาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อพลชัย คุณแม่วิภา น้องจิตาภรณ์ พี่ชรัชชัย และเครือญาติของข้าพเจ้าที่เป็นกำลังใจและสนับสนุน ทำให้ข้าพเจ้าได้มีกำลังใจ อดทน และมุ่งมั่น จนทำให้การทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี หากวิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความดีและก่อให้เกิดประโยชน์แก่ส่วนรวม ผู้วิจัยขอมอบความดีนี้ให้ผู้มีพระคุณทุกท่านไว้ ณ ที่นี้

อรชिरา เพ็ชรชัย

พฤษภาคม 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	22
อุปกรณ์	22
วิธีการ	24
ผลและวิจารณ์	31
ผล	31
วิจารณ์	53
สรุปและข้อเสนอแนะ	56
สรุป	56
ข้อเสนอแนะ	57
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	58
ภาคผนวก	64
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	90

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ความสามารถในการพ่นกับเส้นใยของสีย้อมชนิดต่างๆ	12
2	ค่า LD ₅₀ ของสีย้อมสิ่งทอเมื่อเปรียบเทียบกับโซเดียมไฮยาไนด์	13
ตารางผนวกที่		
1	ข้อมูลการเทียบมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสีย้อม Remazol Brilliant Blue R (RBBR)	69
2	ข้อมูลการเทียบมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสีย้อม Reactive Black 5 (RB5)	70
3	ร้อยละการลดความเข้มสีย้อม RBBR 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL ⁻¹	72
4	กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสจากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มสีย้อม RBBR 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL ⁻¹	73
5	กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส จากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มสีย้อม RBBR 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL ⁻¹	74
6	ร้อยละการลดความเข้มสีย้อม RBBR 1,000 mgL ⁻¹ โดยใช้เชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 1, 2 และ 3 กรัมต่อสารละลายสีย้อม 100 มิลลิลิตร	75
7	กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส จากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 1, 2 และ 3 กรัมต่อสารละลายสีย้อม 100 มิลลิลิตร	76
8	กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส จากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 1, 2 และ 3 กรัมต่อสารละลายสีย้อม 100 มิลลิลิตร	77
9	ร้อยละการลดความเข้มสีย้อม RBBR 1,000 mgL ⁻¹ โดยใช้เชื้อรา 2 กรัมต่อสารละลายสีย้อม 100 มิลลิลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9	78
10	กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสจากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มสีย้อม RBBR 1,000 mgL ⁻¹ โดยใช้เชื้อรา 2 กรัมต่อสารละลายสีย้อม 100 มิลลิลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9	79

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
11 กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสจากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 1,000 mgL ⁻¹ โดยใช้เชื้อรา 2 กรัมต่อสารละลายสี 100 มิลลิลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9	80
12 ร้อยละการลดความเข้มข้นสีของ RB5 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL ⁻¹	81
13 กิจกรรมเอนไซม์แลคเตสจากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL ⁻¹	82
14 กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสจากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL ⁻¹	83
15 ร้อยละการลดความเข้มข้นสีของ RB5 600 mgL ⁻¹ โดยใช้เชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 1, 2 และ 3 กรัมต่อสารละลายสี 100 มิลลิลิตร	84
16 กิจกรรมเอนไซม์แลคเตสจากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 1, 2 และ 3 กรัมต่อสารละลายสี 100 มิลลิลิตร	85
17 กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสจากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 1, 2 และ 3 กรัมต่อสารละลายสี 100 มิลลิลิตร	86
18 ร้อยละการลดความเข้มข้นสีของ RB5 600 mgL ⁻¹ โดยใช้เชื้อรา 2 กรัมต่อสารละลายสี 100 มิลลิลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9	87
19 กิจกรรมเอนไซม์แลคเตสจากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 600 mgL ⁻¹ โดยใช้เชื้อรา 2 กรัมต่อสารละลายสี 100 มิลลิลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9	88
20 กิจกรรมของเอนไซม์กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส จากเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 600 mgL ⁻¹ โดยใช้เชื้อรา 2 กรัมต่อสารละลายสีโดยย้อม 100 มิลลิลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9	89

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมฟอกย้อม	4
2	โครโมฟอร์และออกโซโครมของสีย้อม	7
3	โครงสร้างอะโซ	8
4	โครงสร้างของสีย้อมแอนทราควิโนน	8
5	โครงสร้างของสีย้อม Remazol Brilliant Blue R (RBBR)	10
6	โครงสร้างของสีย้อม Reactive Black 5 (RB5)	10
7	การทำลายพันธะอะโซในกลุ่มโครโมฟอร์	11
8	กลไกทั่วไปในการย่อยสลายสาร PAHs โดยใช้เอนไซม์จากเชื้อรา	16
9	ลักษณะของรา <i>Datronia</i> sp.KAPI0039 อายุ 7 วัน บนอาหาร PDA	31
10	กราฟแสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 ในอาหาร PDB เป็นระยะเวลา 14 วัน	32
11	ร้อยละการลดความเข้มสีย้อม RBBR (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (b) และ กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายสีย้อม RBBR 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL ⁻¹ เป็นเวลา 168 ชั่วโมง	34
12	ร้อยละการลดความเข้มสีย้อม RBBR (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (b) และ กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายสีย้อม RBBR 1,000 mgL ⁻¹ โดยใช้เชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 ปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัมเปียก เป็นเวลา 168 ชั่วโมง	37
13	ร้อยละการลดความเข้มสีย้อม RBBR (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (b) และ กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายสีย้อม RBBR 1,000 mgL ⁻¹ pH เริ่มต้น เท่ากับ 3, 5, 7 และ 9 เป็นเวลา 168 ชั่วโมง	40
14	ร้อยละการลดความเข้มสีย้อม RB5 (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (b) และกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายสีย้อม RB5 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL ⁻¹ เป็นเวลา 168 ชั่วโมง	43

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
15	ร้อยละการลดความเข้มข้นสีของ RB5 (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเตส (b) และกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายสีของ RB5 600 mgL ⁻¹ โดยใช้เชื้อรา <i>Datronia</i> sp. KAPI0039 ปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัมเปียก เป็นเวลา 168 ชั่วโมง	46
16	ร้อยละการลดความเข้มข้นสีของ RB5 (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเตส (b) และกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายสีของ RB5 600 mgL ⁻¹ ที่ pH เริ่มต้น เท่ากับ 3, 5, 7 และ 9 เป็นเวลา 168 ชั่วโมง	50
ภาพผนวกที่		
1	กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสีของ RBBR	70
2	กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสีของ RB5	71

การลดความเข้มข้นสารละลายสีย้อมรีแอคทีฟโดยเชื้อราเส้นใยสีขาว

Datronia sp. KAPI0039

Decolorization of Reactive Dye Solution by White-Rot Fungus

Datronia sp. KAPI0039

คำนำ

สีย้อมเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ย่อยสลายตามธรรมชาติได้ยาก มักพบในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมฟอกย้อม น้ำทิ้งที่มีความเข้มข้นสีสูงในแหล่งน้ำสามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า จึงเป็น การทำลายทัศนียภาพและเป็นที่น่ารังเกียจ แก่ผู้ใช้น้ำในการอุปโภคบริโภค ประกอบกับโครงสร้าง สีย้อมมีองค์ประกอบจำพวกอะโรมาติกเอมีน (aromatic amine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง จึงส่งผล กระทบต่อระบบนิเวศทางน้ำ เนื่องจากน้ำทิ้งที่มีความเข้มข้นสีสูงบดบังแสงแดดที่ส่องผ่านผิวน้ำลง มา ทำให้เกิดปัญหาต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำและสาหร่ายเป็นเหตุให้ปริมาณ ออกซิเจนในแหล่งน้ำลดลง เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำ ทำให้กิจกรรมการย่อยสลาย สารอินทรีย์ลดลง ส่งผลให้สัตว์และพืชน้ำตายมากขึ้น จึงเป็นเหตุให้แหล่งน้ำเน่าเสียในเวลาต่อมา ตลอดจนห่วงโซ่อาหารมีการสะสมสารพิษในระบบสูงขึ้นอีกด้วย

โดยทั่วไปการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมสิ่งทอนิยมใช้ระบบบำบัดทางชีววิทยาหรือ ระบบเติมสารเคมีอย่างใดอย่างหนึ่งหรือควบคู่กันไป สามารถบำบัดตะกอนแขวนลอย และบีโอดี ได้ในระดับดี แต่ในการบำบัดสีและสารอื่นๆ ที่ไม่สามารถบำบัดได้ ก็ยังคงตกค้างอยู่ในน้ำทิ้งที่ผ่าน การบำบัดแล้ว มีผู้สนใจและศึกษาวิธีการบำบัดสีย้อมในน้ำเสียอย่างกว้างขวาง เช่น การกรอง (Filtration) การดูดซับ (Adsorption) กระบวนการออกซิเดชันด้วยโอโซน (Ozone Oxidation) การรีเวอร์สออสโมซิส (Reverse Osmosis, RO) การตกตะกอนด้วยสารเคมี (Chemical Coagulation) เป็นต้น ปัจจุบันมีการศึกษาการลดสีย้อมโดยอาศัยวิธีทางชีวภาพ เนื่องจากเป็นวิธีที่ สามารถลดการใช้สารเคมี ลดค่าใช้จ่ายและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม มีรายงานว่าสีย้อมสามารถถูก ย่อยสลายได้โดยเอนไซม์จากเชื้อรากลุ่มเส้นใยสีขาว (White rot fungi) เป็นกลุ่มเดียวกับเชื้อราที่มี ความสามารถในการย่อยสลายลิกนิน ซึ่งมีโครงสร้างที่ซับซ้อนกว่าสีย้อม

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตเอนไซม์จากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ต่อประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสีของรีแอคทีฟ 2 ชนิด คือ Remazol Brilliant Blue R (RBBR) และ Reactive Black 5 (RB5) ในสภาวะควบคุม

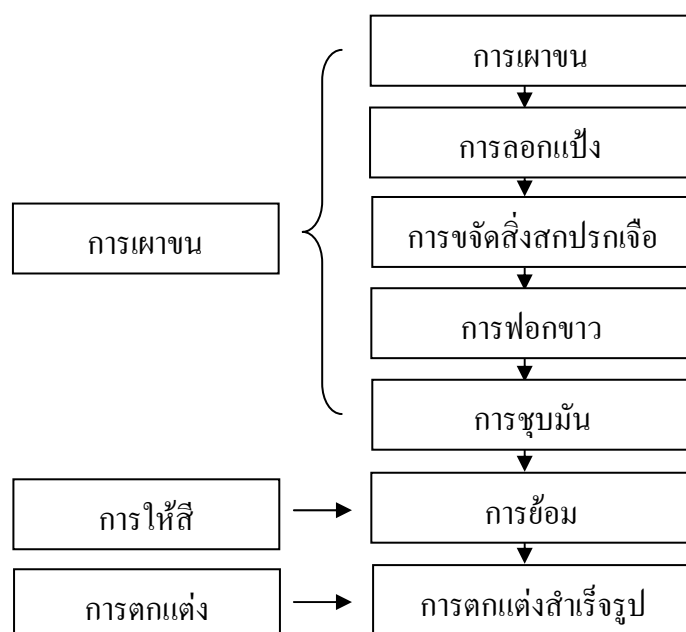
2. เปรียบเทียบปริมาณของเอนไซม์ Laccase (Lac), Lignin Peroxidase (LiP) และ Manganese Peroxidase (MnP) ที่ผลิตในสภาวะที่มีสีของรีแอคทีฟ 2 ชนิด คือ RBBR และ RB5

การตรวจเอกสาร

1. อุตสาหกรรมฟอกย้อม

จากการขยายตัวของอุตสาหกรรมฟอกย้อมในประเทศไทย การพัฒนากระบวนการผลิตมีความสำคัญเพื่อตอบรับกับการแข่งขันที่สูงขึ้น เช่น การเพิ่มกำลังการผลิต การสร้างผลิตภัณฑ์ให้เกิดความแตกต่างและหลากหลาย เพื่อให้สอดคล้องกับสถานการณ์ปัจจุบัน โรงงานฟอกย้อมส่วนใหญ่จึงใช้สีสังเคราะห์ในกระบวนการผลิต เช่น กระบวนการฟอกย้อมเส้นด้าย กระบวนการฟอกย้อมผ้าทอ และกระบวนการฟอกย้อมผ้าถัก เป็นต้น ในแต่ละกระบวนการมีการใช้วัตถุดิบ สารเคมี และสีย้อมที่ต่างกันไป สำหรับกระบวนการฟอกย้อม “น้ำ” นับได้ว่ามีความสำคัญที่สุด เนื่องจากเป็นตัวทำละลายสีย้อมที่ราคาถูก ส่วนวัตถุดิบสำคัญในกระบวนการฟอกย้อม คือ สีย้อม และสารเคมีช่วยย้อม

1.1 กระบวนการฟอกย้อม



ภาพที่ 1 กระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมฟอกย้อม

ที่มา: กรมโรงงานอุตสาหกรรม (2542)

1.2 แหล่งที่มาของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมฟอกย้อม

1.2.1 น้ำที่ใช้ในกระบวนการ ได้แก่ น้ำที่ใช้ในขั้นตอนการทำความสะอาดเส้นใย เพื่อให้พร้อมสำหรับการย้อมพิมพ์ ขั้นตอนการฟอกย้อม และตกแต่งสำเร็จ ถือได้ว่าขั้นตอนนี้ต้องใช้น้ำปริมาณมาก น้ำที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวประกอบด้วยแป้ง เส้นใยหรือเส้นด้าย สิ่งสกปรกที่ติดอยู่กับเส้นใย เป็นเหตุให้น้ำเสียมีปริมาณสารอินทรีย์ อีกทั้งอาจมีการใช้สารเคมีร่วมด้วย

1.2.2 น้ำที่ใช้ในหม้อไอน้ำ ในอุตสาหกรรมฟอกย้อมมักใช้ไอน้ำเป็นตัวให้ความร้อน แก่น้ำที่ใช้ในกระบวนการผลิต หรือให้ความร้อนแก่ตู้อบไอน้ำ ไอน้ำนี้ถ้าปล่อยให้เย็นตัวลงและทำให้เกิดการกลั่นตัวในท่อน้ำก็จะได้น้ำสะอาดซึ่งสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ แต่ถ้านำไอน้ำนี้ไปให้ความร้อนแก่สารละลายสีย้อมโดยตรงจะเป็นการเพิ่มปริมาณน้ำเสียให้มากขึ้น

1.2.3 น้ำหล่อเย็น ในอุตสาหกรรมฟอกย้อมจำเป็นต้องมีการลดอุณหภูมิของน้ำย้อมให้ลดลงในระยะเวลาอันสั้นโดยการใช้น้ำหล่อเย็น ซึ่งน้ำหล่อเย็นเป็นน้ำสะอาดสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้

1.2.4 น้ำที่ใช้ในกระบวนการล้างเครื่องจักรและทำความสะอาดโรงงาน ในบางกรณี น้ำเสียชนิดนี้อาจมีความเข้มข้นของสารมลพิษต่างๆ สูง ยกตัวอย่าง เช่น น้ำจากการล้างถังเตรียมสี เป็นต้น

1.2.5 น้ำจากแหล่งอื่นๆ เช่น น้ำจากโรงอาหารและห้องน้ำในโรงงาน ประกอบด้วยสารทำความสะอาด ไขมัน น้ำมัน เป็นต้น

น้ำเสียจากโรงงานงานฟอกย้อม มีค่าบีโอดีประมาณ 100 - 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร จากขั้นตอนการทำความสะอาดเส้นใย มีค่าซีโอดีประมาณ 500 - 1,200 มิลลิกรัม/ลิตร เกิดจากสารช่วยย้อม สีย้อม สารตกแต่ง และสารฟอกขาว และมีความเข้มข้นสีประมาณ 5 - 1,500 มิลลิกรัม/ลิตร จากกระบวนการย้อม เนื่องจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสีย้อมกับเส้นใยอาจเกิดได้ไม่สมบูรณ์ ดังแสดงในตารางที่ 1 ทำให้สีย้อมยังคงเหลืออยู่ในสารละลายสีย้อม และถูกปล่อยออกมาเป็นน้ำเสีย ทั้งนี้ความแตกต่างของความเข้มข้นสีขึ้นอยู่กับกำลังการผลิตของโรงงาน ชนิดของสารสีย้อมที่ใช้ เป็นต้น อย่างไรก็ตามมาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานประเภทนี้ต้องมีค่าบีโอดีไม่เกิน 60 มิลลิกรัมต่อ

ลิตร และค่าซีไอดีไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนสีของน้ำทิ้งนั้นต้องไม่เป็นที่รังเกียจ ตามประกาศวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 พ.ศ. 2539

2. สีย้อม (Dyestuffs)

สีย้อม หมายถึง สารมีสีที่ละลายน้ำได้ มีลักษณะเป็นผลึกหรือผงละเอียด อาจเป็นสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ โดยประโยชน์ที่สำคัญที่สุดของสีย้อม คือ การให้สีแก่วัสดุสิ่งทอ โดยสีย้อมจะซึมผ่านเข้าไปในโมเลกุลของเส้นใย และทำลายโครงสร้างผลึกของวัตถุนั้นชั่วคราว ซึ่งอาจเกิดพันธะไอออนิก (ionic bond) หรือพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) กับวัตถุที่ต้องการย้อมโดยตรง

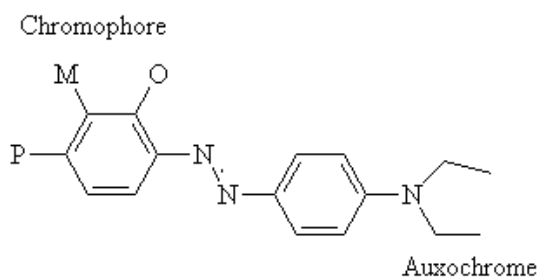
สีที่ปรากฏนั้นเกิดจากอิเล็กตรอนในพันธะคู่ซึ่งอยู่ในโมเลกุลของสีย้อมนั้นมีความสามารถดูดกลืนพลังงานในช่วงสเปกตรัมต่างกัน พลังงานแสงที่สายตามองเห็นจะมีความยาวคลื่นช่วง 400 – 700 นาโนเมตร สีย้อมที่มีโครงสร้างทางโมเลกุลต่างกันจะมีความสามารถในการดูดกลืนพลังงานแสงในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ กันไป ซึ่งสายตาสารภาพได้ จึงทำให้โมเลกุลสีย้อมต่างโทนสีกันแสดงสีให้เราเห็นด้วยสายตาต่างกันไป

2.1 สีย้อมแบ่งเป็น 2 ประเภท (กาวิ, 2545) ดังนี้

2.1.1 สีย้อมธรรมชาติ (Natural dyestuff) เป็นสีย้อมที่มาจากแหล่งธรรมชาติจากพืชและสัตว์ สีย้อมที่มาจากส่วนของพืช เช่น ส่วนลำต้น ดอก เปลือก ใบ เป็นต้น ตัวอย่างเช่น สีดำจากลูกมะเกลือ สีนํ้าเงินจากต้นคราม สีเหลืองจากเนื้อไม้ไผ่ สีแดงจากดอกกระถิน สีแดงจากรากต้นเข็ม ส่วนสีย้อมที่มาจากสัตว์ เช่น สีม่วงแดงของครั่ง สีม่วงจากหอยสังข์หาม เป็นต้น

2.1.2 สีย้อมสังเคราะห์ (Synthetic dyestuff) สีย้อมประเภทนี้เป็นผลิตภัณฑ์จากน้ำมันปิโตรเลียม เมื่อน้ำมันปิโตรเลียมผ่านการสกัดแล้วจะได้สารไฮโดรคาร์บอน ได้แก่ เบนซีน และไซลีน ซึ่งเป็นสารไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว สารเหล่านี้จะถูกนำไปทำปฏิกิริยากับกระบวนการในเตาชั้นแอมมิเนชัน เพื่อที่จะเปลี่ยนสภาพให้เป็นสารตัวกลาง และจากสารตัวกลางจะเปลี่ยนเป็นสีย้อมด้วยเทคนิคต่าง ๆ

สีของสีย้อมสังเคราะห์ที่ปรากฏออกมาทำให้ตามนุษย์ปกติมองเห็นได้นั้นเกิดจากองค์ประกอบ 2 ส่วน ด้วยกัน คือ โครโมฟอร์ (chromophores) เป็นกลุ่มอะตอมของสารประกอบอินทรีย์ที่มีสีสามารถดูดกลืนแสงในช่วงที่มองเห็นได้ เนื่องจากความแตกต่างของกลุ่มโครโมฟอร์นี้ทำให้สีย้อมสังเคราะห์จึงถูกแบ่งตามกลุ่มโครโมฟอร์ มีอยู่ด้วยกันหลายกลุ่ม คือ กลุ่มอะโซ (azo group) กลุ่มแอนทราควิโนน (anthraquinone group) เป็นสารกลุ่มที่นิยมใช้ในมากที่สุด และกลุ่มอื่น ๆ เช่น กลุ่มอินดิโก (indigo group) กลุ่มเบนโซดิฟูแรนโนน (benzodifuranone group) กลุ่มไนโตรโซ (nitroso group) กลุ่มไนโตร (nitro group) กลุ่มเอทิลีน (ethylene group) กลุ่มคาร์บอนิล (carbonyl group) กลุ่มคาร์บอนิล-ไนโตรเจน (carbonyl-nitrogen group) กลุ่มซัลเฟอร์ (sulphur group) และกลุ่มฟอร์มาซาน (formazan group) แต่หากสีย้อมประกอบด้วยโครโมฟอร์เพียงอย่างเดียวจะให้เพียงสีอ่อนๆ เท่านั้น หากต้องการสีเข้มขึ้นจึงต้องมีการเพิ่มเติมโครงสร้างทางเคมีของสารเคมีกลุ่มอื่นด้วย เรียกสารกลุ่มนี้ว่า ออกโซโครม (Auxochromes) เป็นกลุ่มที่สร้างความเข้ม (Intensity) และความสว่างของสี มีคุณสมบัติการละลายน้ำ และ/หรือปรับปรุงคุณสมบัติในการดูดติดกับเส้นใยให้กับสีย้อม หมู่ที่ละลายน้ำ เช่น $-\text{SO}_3\text{Na}$, $-\text{COONa}$, $-\text{OH}$ เป็นต้น

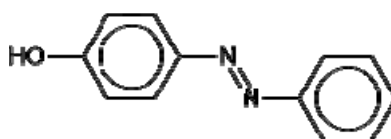


ภาพที่ 2 โครโมฟอร์และออกโซโครมของสีย้อม

2.2 โครงสร้างสีย้อม

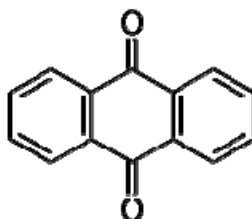
สีย้อมที่ใช้ในโรงงานประกอบด้วยสารหลายชนิด และมีโครงสร้างทางเคมีหลากหลาย เนื่องจากสีย้อมจำเป็นต้องมีความคงทนต่อการใช้งาน เช่น คงทนต่อการซักฟอก การเสียดสี ความสกปรกที่เกิดจากเหงื่อและน้ำมันจากร่างกาย แสง และความร้อน ดังนั้นสีย้อมที่ใช้ต้องมีลักษณะที่ไม่ถูกย่อยสลายง่ายตามธรรมชาติ จึงเกิดสารตกค้างและปัญหาสิ่งแวดล้อมตามมา ในที่นี้จะขอกล่าวรายละเอียดของของโครโมฟอร์ของสีย้อมบางกลุ่มที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ดังนี้

2.2.1 สีย้อมอะโซ (azo dyes) เป็นสีย้อมที่มีกลุ่มอะโซ ($-N=N-$) หนึ่งกลุ่มหรือมากกว่าทำหน้าที่เป็นโครโมฟอร์ และมีออกโซโครมได้หลายกลุ่ม จัดเป็นสีกลุ่มที่ใช้มากในอุตสาหกรรมโดยเฉพาะในการย้อมเส้นใยเซลลูโลส เพราะเป็นสีที่สังเคราะห์ง่าย ละลายน้ำได้ดี มีความสว่างสดใสและความคงทนต่อแสงอยู่ในเกณฑ์ปานกลางถึงดี ที่สำคัญคือ ราคาไม่แพง และลักษณะที่สำคัญของสีย้อมกลุ่มนี้ คือ มีสีให้เลือกครบทุกเฉดสี แต่โดยทั่วไปช่วงสีที่มีความสำคัญอยู่ในช่วงสีเหลือง สีแสด สีแดง สีนํ้าตาล และสีดำ



ภาพที่ 3 โครงสร้างอะโซ

2.2.2 สีย้อมแอนทราควิโนน (anthraquinone dyes) เป็นสีย้อมที่มีโครงสร้างของแอนทราควิโนนเป็นหลักในโมเลกุล สีย้อมกลุ่มนี้มีความสำคัญรองจากสีย้อมอะโซ ส่วนใหญ่เป็นสีนํ้าเงิน มีความสว่าง สดใส มีความคงทนต่อแสงอยู่ในเกณฑ์ดี แต่ความเข้มของสีจะไม่เท่ากับสีย้อมอะโซ และมีราคาแพงกว่าสีย้อมอะโซ



ภาพที่ 4 โครงสร้างของสีย้อมแอนทราควิโนน

2.2.3 สีย้อมซัลเฟอร์ (sulphur dyes) เป็นสีย้อมที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของโมเลกุล ($C=S$ และ $C-S-S-C$) สีกลุ่มนี้มีปริมาณการใช้มากที่สุด เพราะมีราคาถูก นิยมใช้ย้อมสีทึบๆ ที่ต้องการความเข้มสูง เช่น สีดำ สีนํ้าตาล สีนํ้าเงิน เป็นต้น สีกลุ่มนี้มีให้เลือกไม่มาก ส่วนมากจะเป็นสีทึบ ไม่สดใส

2.2.4 สีย้อมไนโตรโซ (nitroso dyes) สีกลุ่มนี้มีโครงสร้างทางเคมีเป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีหมูไนโตรโซ ($-NO$) และหมูไฮดรอกไซด์ในตำแหน่งที่ติดกันบนวง

แหวนเบนซีน ซึ่งในการย้อมจะทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโลหะต่างๆ เช่น เหล็ก โครเมียม โคบอลต์ และนิกเกิล เป็นต้น

2.2.5 สีย้อมไนโตร (nitro dyes) กลุ่มนี้มีโครงสร้างทางเคมีเป็นสารประกอบอะโรมาติก ที่มีหมู่ไนโตร ($-\text{NO}_2$) และหมู่ไฮดรอกไซด์ ($-\text{OH}$) หรือหมู่อะมิโน ($-\text{NH}_2$) ในตำแหน่งที่ติดกันหรือตรงข้ามบนวงแหวนเบนซีน

2.2.6 สีย้อมฟอร์มาซาน (formazan dyes) เป็นสีที่มีโครงสร้างของกลุ่มไตรไซคลิก เกิดอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนกับทองแดง ส่วนใหญ่พบในสีย้อมเอซิด และสีย้อมรีแอกทีฟ โดยที่เจดสีส่วนใหญ่เป็นสีน้ำเงิน

3. สีย้อมรีแอกทีฟ (Reactive Dye)

สีย้อมรีแอกทีฟเป็นสีที่ละลายน้ำได้ดี และย้อมเส้นใยเซลลูโลสได้ดีที่สุด โมเลกุลของสีสามารถทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซี ($\text{OH}-$) ของเซลลูโลสได้เมื่ออยู่ในสภาพด่าง และเกิดการเชื่อมโยงกันโดยพันธะโควาเลนต์ทำให้สีติดได้ดี และจะติดได้มากกว่าสีที่ติดโดยแรงทางกายภาพเคมี (physical-chemical forces) ซึ่งสามารถสลายตัวได้ สีย้อมรีแอกทีฟมีความคงทนต่อแสง และการซักล้างดี แต่ไม่คงทนต่อสารคลอรีนที่ใช้ในการฟอกขาว (โกมล, 2541)

3.1 โครงสร้างทางเคมีของสีย้อมรีแอกทีฟ

สีย้อมรีแอกทีฟมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับพวกสีแอซิด แต่สีย้อมรีแอกทีฟมีหมู่ labile ที่ไม่เสถียรได้แก่ หมู่ $-\text{Cl}$ หรือ $-\text{SO}_3\text{Na}$ ซึ่งเป็นตัวทำให้สีย้อมรีแอกทีฟสร้างพันธะโควาเลนต์กับเส้นใยผ้าเซลลูโลสได้ โครงสร้างทางเคมีของสีย้อมรีแอกทีฟประกอบด้วยกลุ่มพื้นฐาน 4 กลุ่ม สัญลักษณ์แสดงเป็นโครงสร้างทั่วไปอย่างง่ายได้ คือ

S-D-T-X

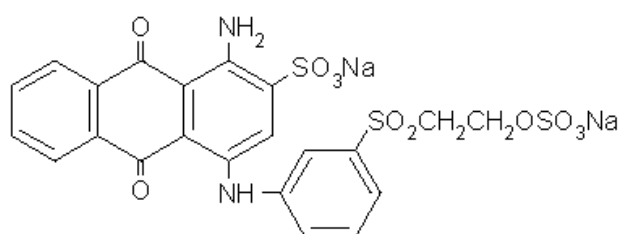
เมื่อ S (solubilising group) คือ กลุ่มที่มีความสามารถในการละลายน้ำสูง โดยทั่วไปจะเป็นพวกกรดซัลโฟนิก ($-\text{SO}_3\text{Na}$) ซึ่งจะอยู่ติดกับกลุ่มโครโมฟอร์

D (chromophoric group) คือ กลุ่มของเคมีที่ทำให้เกิดสี เรียกว่า กลุ่มโครโมฟอร์ (chromophore) และสร้างการยึดเกาะ (substantivity) กับเส้นใยเซลลูโลส

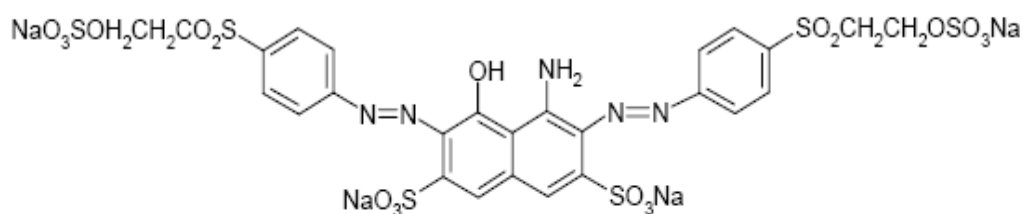
T (bridging group) คือ กลุ่มอะตอมที่ทำหน้าที่เชื่อมระหว่างกลุ่มรีแอคทีฟกับกลุ่มโครโมฟอร์ เช่น กลุ่ม $-NH-$, $-NHCO-$, $-SO_2-$, $-NHSO_2-$ และ $-NCH_3-$ เป็นต้น

X (reactive system) คือ กลุ่มรีแอคทีฟ (reactive group) ซึ่งจะเป็นกลุ่มที่ทำให้สีย้อมทำปฏิกิริยากับกลุ่มไฮดรอกซี (OH-) ในเส้นใย

ในบางกรณีกลุ่มรีแอคทีฟก็จะติดกับกลุ่มโครโมฟอร์โดยตรง ไม่มีตัวเชื่อมก็ได้ และกลุ่มรีแอคทีฟส่วนใหญ่จะเป็นสาร heterocyclic ring ลักษณะของกลุ่มตัวเชื่อมและส่วนประกอบของกลุ่ม heterocyclic ring มีอิทธิพลอย่างมากต่อการทำปฏิกิริยาและสมบัติอื่นๆ ของสี จากส่วนประกอบดังที่กล่าวมานี้จะพบว่ามีส่วนที่สำคัญ คือ สารที่ทำให้เกิดสี (chromophore) และกลุ่มรีแอคทีฟ โดยสีรีแอคทีฟที่เป็นสีเหลือง สีส้ม สีแดง สีม่วง สีนํ้าตาล และสีดำ โดยส่วนใหญ่จะเป็นโครงสร้างอะโซ แต่ถ้าเป็นสีรีแอคทีฟสีฟ้า หรือสีนํ้าเงินจะมีทั้งที่เป็นโครงสร้างอะโซ แอนทราควิโนน สีย้อมอะโซบางตัวมีโครงสร้างเป็นคอปเปอร์ นอกจากนี้สีดำ สีนํ้าตาลบางตัว และสีรีแอคทีฟสำหรับย้อมผ้าขนสัตว์ มักจะมีโครงสร้างเป็นโครเมียมหรือโคบอลต์คอมเพล็กซ์ สีรีแอคทีฟส่วนใหญ่จะประกอบด้วยกลุ่มโครโมฟอร์ ชนิดอะโซซึ่ง ได้แก่ Unmetallised azo และ Metal-complex azo เป็นส่วนมากถึงร้อยละ 81

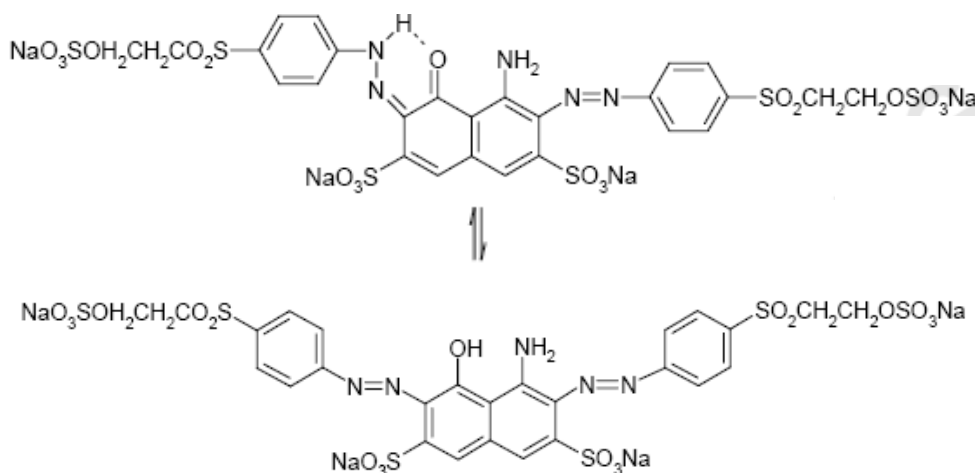


ภาพที่ 5 โครงสร้างของสี Remazol Brilliant Blue R (RBBR)



ภาพที่ 6 โครงสร้างของสี Reactive Black 5 (RB5)

กล่าวได้ว่าการบำบัดน้ำเสียที่มีสีย้อมประเภทรีแอคทีฟต้องทำลายพันธะอะโซใน กลุ่มโครโมฟอร์ให้ได้ก็จะลดสีในน้ำเสียลงได้



ภาพที่ 7 การทำลายพันธะอะโซในกลุ่มโครโมฟอร์ของสี Reactive Black 5 (RB5)

3.2 ทฤษฎีการย้อมสี (อภิชาติ, 2545)

เนื่องจากสีย้อมรีแอคทีฟมีประจุลบเช่นเดียวกับเส้นใยเซลลูโลส ทำให้การแทรกซึมสีรีแอคทีฟกับเส้นใยเซลลูโลสเกิดขึ้นน้อย จึงต้องเติมอิเล็กโทรไลต์ (เกลือ) ประจุบวกของเกลือจะรวมตัวกับประจุลบของเส้นใย ขณะเดียวกันเกลือจะเพิ่มประจุลบน้ำย้อม จึงทำให้สีที่มีประจุลบสามารถแทรกซึมเข้าไปในเส้นใยได้มากขึ้น เมื่อสีเข้าไปในเส้นใยแล้วให้เพิ่มค่าความเป็นกรด-เบสประมาณ 10.5-11.0 ซึ่งจะทำให้เกิดพันธะโควาเลนต์ระหว่างเส้นใยและสีย้อมในเส้นใย แต่ปัญหาของสีรีแอคทีฟ คือ การแตกตัวในน้ำของสีรีแอคทีฟ เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลของเส้นใยมีลักษณะคล้ายคลึงกับหมู่ที่มีอยู่ในน้ำ ดังนั้น สีที่ทำปฏิกิริยากับน้ำแล้วจะไม่สามารถทำปฏิกิริยากับเส้นใย สีรีแอคทีฟที่มีหมู่ฟังก์ชันไวต่อปฏิกิริยาเคมีกับเส้นใยหนึ่งหมู่ จะมีอัตราการติดสีบนเส้นใยประมาณ 60% จึงมีสีเหลือในน้ำ 40% ทำให้น้ำเสียน้ำย้อมปะปนอยู่ด้วย ซึ่งเป็นการเพิ่มภาระในการบำบัดน้ำเสีย และเป็นการสิ้นเปลืองสีย้อม แต่หากใช้สีรีแอคทีฟที่มีหมู่ฟังก์ชันไวต่อปฏิกิริยาเคมีกับเส้นใย 2 หมู่ จะทำให้มีอัตราการติดสีบนเส้นใยประมาณ 80% จึงมีสีเหลือในน้ำเพียง 20% อย่างไรก็ตามการเพิ่มหมู่ที่ไวต่อปฏิกิริยาเคมีกับเส้นใยจะเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิตสีย้อมเช่นกัน

ตารางที่ 1 ความสามารถในการพ่นสีกับเส้นใยของสีย้อมชนิดต่างๆ

ชนิดของสีย้อม	ความสามารถในการพ่นสีกับเส้นใย	สีในน้ำเสีย
Direct dyes	70-95%	5-30%
Sulfur dyes	60-70%	30-40%
Vat dyes	80-95%	5-20%
Azoic dyes	90-95%	5-10%
Reactive dyes	50-80%	20-50%
Acid dyes	80-93%	7-20%
Metal complex dyes	95-98%	2-5%
Disperse dyes	97-98%	2-3%
Basic dyes	80-92%	8-20%

ที่มา: กรมโรงงานอุตสาหกรรม (2542)

3.3 ความเป็นพิษของสีรีแอคทีฟ

โดยทั่วไปสีย้อมถือได้ว่าเป็นสารที่มีความเป็นพิษต่ำ สำหรับสีรีแอคทีฟที่มีจำหน่ายอยู่ในรูปของเหลว เป็นผง และเป็นเม็ดละเอียด ดังนั้น สีย้อมสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ 3 ทาง คือ ทางจมูกด้วยการสูดดมสีที่ฟุ้งกระจายในอากาศ ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อระบบทางเดินหายใจ ทางผิวหนังโดยการสัมผัสทำให้ระคายเคืองต่อเยื่อเมือก และทางปากโดยปะปนไปกับอาหารที่รับประทานเข้าไป เนื่องจากสีชนิดนี้จะรวมตัวกับโปรตีนในร่างกายมนุษย์ที่อุณหภูมิปกติของร่างกาย ซึ่งไปกระตุ้นความสามารถในการรับรู้ของระบบทางเดินหายใจ (respiratory sensitisation) จนทำให้เกิดการระคายเคือง ในปี 1991 องค์กร ETAD (Ecological and Toxicology Association of Dyes and Organic Pigment Manufacturers) ได้ออกประกาศเกี่ยวกับความเป็นพิษของสีรีแอคทีฟเมื่อสัมผัสโดยผิวหนังหรือสูดดมเข้าไป ตลอดจนแนวทางปฏิบัติในการใช้สีรีแอคทีฟอย่างถูกวิธีเพื่อสุขภาพที่ดีของผู้ปฏิบัติงาน (อังคณา, 2544) ความเป็นพิษของสีย้อมจากการรับประทานเข้าไปเห็นได้จากค่า LD_{50} แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า LD_{50} ของสีย้อมสิ่งทอเมื่อเปรียบเทียบกับโซเดียมไฮยาไนด์

ค่าแอลดี 50 (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ร้อยละของสีย้อม
> 5000	82
2000 - 5000	10
> 250	>1
15	โซเดียมไฮยาไนด์

หมายเหตุ ค่าแอลดี 50 (Lethal dose 50, LD_{50}) คือ ค่าความเป็นพิษจากการทดลองหาปริมาณสารเคมีที่ทำให้สัตว์ที่นำมาทดลองตายไปครึ่งหนึ่งของจำนวนทั้งหมด เพราะฉะนั้น ถ้าค่า LD_{50} ยิ่งต่ำมากความเป็นพิษยิ่งมีมาก

ที่มา: กรมโรงงานอุตสาหกรรม (2542)

แม้ว่าสีย้อมจัดได้ว่ามีค่าความเป็นพิษต่ำ แต่วัตถุติดที่ใช้ในการสังเคราะห์สีย้อมมีความเป็นพิษสูงมาก เช่น 2-แนฟธิลลามีน (2-naphthylamine) และเบนซิดีน (Benzidine) ซึ่งประเทศเยอรมันได้ออกกฎข้อบังคับห้ามนำเข้าสารทั้งสองตัวนี้ เนื่องจากสารดังกล่าว สามารถแตกตัวให้สารเอมีน 20 ตัว ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogen) และทำให้เกิดการระคายเคือง

4. เทคโนโลยีกำจัดสีย้อมจากอุตสาหกรรมฟอกย้อม

น้ำทิ้งที่มีสีย้อมปนเปื้อนได้ส่งผลกระทบทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก เมื่อมีการปล่อยน้ำทิ้งสีย้อมลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ จะทำให้สีตกกลืนแสงที่ส่องลงมาเป็นเหตุให้พืชใต้น้ำสังเคราะห์แสงได้น้อยลง ทำให้ออกซิเจนในแหล่งน้ำลดลง สัตว์น้ำตลอดจนสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ไม่สามารถดำรงชีวิตได้ การทำงานของจุลินทรีย์ในกระบวนการบำบัดทางชีวภาพถูกยับยั้ง ประกอบกับเกิดการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน แหล่งน้ำจึงมีกลิ่นเหม็น และเป็นที่น่ารังเกียจ ทำให้ไม่สามารถใช้ทรัพยากรจากแหล่งน้ำนั้นให้เป็นประโยชน์ทางเศรษฐกิจต่อไปได้ ก่อให้เกิดการสูญเสียรายได้ของประชาชนและประเทศชาติ ตลอดจนเกิดอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์ เนื่องจากสีย้อมบางชนิดมีองค์ประกอบที่เป็นพิษต่อสัตว์ และหากเป็นสารที่สลายตัวได้ยากจะทำให้เกิดการสะสมอยู่ในระบบนิเวศ (Bioaccumulation)

อย่างไรก็ตามหากมนุษย์รับสารพิษนั้นโดยตรงย่อมเป็นอันตรายต่อชีวิต หรือการได้รับสารพิษทางอ้อม เช่น การบริโภคสัตว์น้ำที่มีสารพิษสะสมอยู่ในห่วงโซ่อาหารอีกด้วย

สีย้อมในน้ำเสียสามารถกำจัดได้บางส่วนจากระบบบำบัดน้ำเสียขั้นทุติยภูมิ ไม่ว่าจะเป็นกระบวนการบำบัดด้วยวิธีกายภาพ เคมี หรือทั้งสองวิธีร่วมกัน และกระบวนการบำบัดทางชีวภาพ ดังนั้นผู้วิจัยในหลายสาขามีการศึกษาวิจัยเพื่อกำจัดสีย้อมที่เหลืออยู่ในน้ำทิ้งให้หมดไป หรือให้มีเหลืออยู่น้อยที่สุด เช่น

4.1 กระบวนการทางกายภาพ-เคมี (Physical-Chemical Treatment) ได้แก่

4.1.1 การดูดซับ (Adsorption) เป็นวิธีที่ใช้ในการบำบัดสารอินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่ำ ตัวดูดซับที่นิยมใช้ คือ แอติเวเตดคาร์บอนหรือถ่านกัมมันต์ วุฑธินันท์ (2544) กล่าวว่าวิธีบำบัดนี้ต้องคำนึงถึงพีเอช อุณหภูมิ ปริมาณตัวดูดซับที่ใช้ และระยะเวลาการสัมผัส เป็นต้น ซึ่งเหมาะกับสีที่ละลายน้ำได้น้อย เช่น สีย้อมเม้นต์ สีย้อมเพอร์ส เป็นต้น อติศักดิ์ (2546) ได้ศึกษาการใช้การกรองทรายร่วมกับการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมสิ่งทอ โดยกรองผ่านคอลัมน์ พบว่าการกรองด้วยทรายทำให้ระบบบำบัดมีประสิทธิภาพสูงขึ้น สามารถบำบัดน้ำทิ้งได้ดีที่สุดที่อัตราการน้ำล้นผิว 0.1 ลูกบาศก์เมตร/ตารางเมตร - เซนติเมตร สามารถลดสีและซีไอได้ 5.21-8.36% และ 30.62-34.20% ตามลำดับ และเมื่อผ่านน้ำทิ้งเข้าสู่คอลัมน์ถ่านกัมมันต์ด้วยอัตราการน้ำล้นผิว 0.1 ลูกบาศก์เมตร/ตารางเมตร - เซนติเมตร ใช้ความสูงของถ่านกัมมันต์ 80 ซม. สามารถลดสีและซีไอได้ 99.15-99.84% และ 70.85-96.66% ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่าการกรองด้วยทรายเพียงอย่างเดียว

ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและวัชพืชเป็นตัวดูดซับ เช่น กากแอปเปิ้ล ฟางข้าวสาลี (Robison *et al.*, 2001) ปาล์มน้ำมัน ใบหญ้าแฝก ใบสับปะรด และผักตบชวา โดยทดลองใช้ผักตบชวาที่มีลักษณะเป็นผงในการดูดซับสีไคเรทจากน้ำทิ้งโรงงานฟอกย้อมสิ่งทอ พบว่า ตัวดูดซับที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุด คือ ตัวดูดซับที่ถูกปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20% น้ำทิ้งมีค่าพีเอชเท่ากับ 5 ปริมาณตัวดูดซับ 4 กรัม ระยะเวลาปั่นกววน 240 นาที และระยะเวลาสัมผัส 90 นาที สามารถกำจัดสีได้ 76.80% (จินตนา, 2550) อย่างไรก็ตามวิธีการลดสีข้างต้นยังคงมีข้อจำกัดเกี่ยวกับการจัดการตัวดูดซับหลังการใช้งาน

4.1.2 การตกตะกอนด้วยสารเคมี (Chemical Coagulation) เป็นวิธีที่ใช้อย่างกว้างขวาง โดยการเติมสารโคแอกกูแลนต์ (coagulant) เช่น สารส้มลงไปใต้น้ำเสีย เพื่อให้อนุภาคคอลลอยด์จับตัวกันจนมีน้ำหนักมากและจมตัวลง วิธีนี้ใช้ได้ดีกับสีกกลุ่มที่มีซัลเฟตเป็นองค์ประกอบ และ สีดิสเพอร์ส แต่มีข้อเสีย คือ จำเป็นต้องกำจัดตะกอนแขวนลอยที่เปลี่ยนรูปมาเป็นของแข็งจมตัว และยังทำให้ปริมาณสารพิษในตะกอนมีค่าสูงขึ้น จึงต้องมีวิธีการนำตะกอนไปบำบัดอีกครั้งหนึ่ง (Prieto *et al.*, 2005) อีกทั้งต้องปรับสภาพน้ำทิ้งให้เป็นกลางก่อนปล่อยออกสู่แหล่งน้ำ จึงทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการบำบัดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามน้ำเสียที่มีสีข้มละลายปนอยู่ การบำบัดน้ำเสียที่มีสีข้มละลายปนอยู่ด้วยวิธีโคแอกกูเลชันไม่สามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากกลไกของโคแอกกูเลชันไม่สามารถใช้ในการกำจัดสารที่ละลายอยู่ในน้ำ วิธีนี้จึงไม่เหมาะสมกับสีที่ละลายน้ำ เช่น สีรีแอคทีฟ สีแอซิด สีไคเร็ก จึงต้องใช้กลไกอื่นที่สามารถทำปฏิกิริยากับสีในน้ำได้โดยตรง

4.1.3 การใช้คลอรีน วิธีนี้สามารถกำจัดสีได้ดีในน้ำเสียที่พีเอชเป็น 3.5 ซึ่งใช้ได้ผลดีกับ สีรีแอคทีฟ และแอซิด แต่สีดิสเพอร์สและสีไคเร็กไม่สามารถใช้ในการย่อยสลายได้ วิธีนี้ยังทำให้เกิดคลอรีนตกค้างในน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้ว (Joshi and Purwar, 2004) ซึ่งส่วนใหญ่มักประกอบด้วยไนโตรเจนคลอรีน หรือซัลเฟตจะเกิดเป็นสารประกอบชนิดใหม่ที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าสารเริ่มต้นเดิม

4.1.4 การใช้โอโซน (Ozone Treatment) วิธีนี้จะใช้ความสามารถของโอโซนในการย่อยสลายสี ซึ่งสามารถกำจัดสีได้ดีที่พีเอชมากกว่า 8 และใช้ได้กับสีหลายชนิด เช่น สีรีแอคทีฟ สีแอซิด สีเบสิก แต่กำจัดสีดิสเพอร์สได้ประสิทธิภาพไม่ดี วิธีนี้มีข้อเสียเช่นเดียวกับวิธีการใช้คลอรีนกล่าวคือ อาจมีโอโซนตกค้างอยู่ในน้ำหลังการบำบัด (กาญจนา, 2539)

4.1.5 วิธีออกซิเดชันขั้นสูง (Advanced Oxidation Process) ได้แก่ กระบวนการเพนตันและกระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสง

4.2 การบำบัดทางชีวภาพ (Biological Treatment)

การบำบัดทางชีวภาพ แบ่งเป็นกระบวนการบำบัดแบบใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจน กระบวนการบำบัดทางชีวภาพแบบใช้ออกซิเจน เช่น ระบบตกตะกอนเร่ง (Activated Sludge) วิธีนี้สามารถกำจัดสีได้เพียงร้อยละ 8.36 - 13.02 (ขนิษฐา และพริยะ,

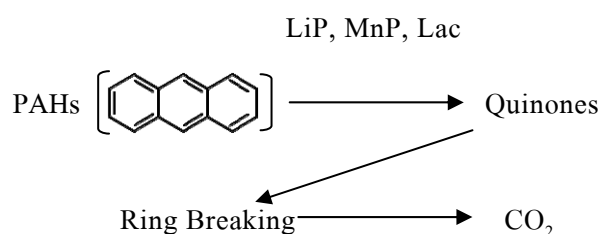
2546) แต่ไม่สามารถใช้ได้กับสีย้อมอะโซ ส่วนกระบวนการชีวภาพแบบไม่ใช้ออกซิเจนสามารถบำบัดสีย้อมได้ดี แต่เกิดสารประกอบจำพวกอะโรมาติกเอมีนซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง

D'Souza *et.al* (2005) ศึกษาการนำเชื้อรา *Flavodon flavus* ซึ่งแยกได้จากป่าโกงกางชายฝั่งทะเลนำมาใช้ทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสีจากอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ สิ่งทอ ผลิตภัณฑ์ และเครื่องสำอางค์ พบว่าเชื้อรามีความสามารถในการย่อยสลายสีน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมข้างต้นได้ ดังนั้นจึงมีการนำราชนิดนี้เข้ามาใช้ประโยชน์ในการลดความเข้มข้นสีน้ำทิ้งก่อนที่จะปล่อยลงสู่ทะเล

5. การกำจัดสีย้อมด้วยเชื้อราเส้นใยสีขาว

เชื้อราเส้นใยสีขาว (White rot fungi) พบได้ทั่วไปตามพื้นดินในป่า เชื้อราชนิดนี้จะย่อยสลายลิกนินในเนื้อไม้ให้เป็นสารสีขาว มีรายงานว่าเอนไซม์จากเชื้อราเส้นใยสีขาวสามารถย่อยสลายสารที่มีโครงสร้างซับซ้อนก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม เชื้อราเส้นใยสีขาวที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสี ได้แก่ *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* และ *Trametes versicolor* ซึ่งกลไกที่น่าจะเป็นการย่อยสลายแบบออกซิเดทีฟ (Oxidative degradation) เหมือนกับกลไกที่ใช้ในการย่อยสลายลิกนิน (Hardin *et al.*, 2000)

มีการศึกษาการสร้างเอนไซม์ในระหว่างการเจริญเติบโตเพื่อให้เข้าใจคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์กลุ่มย่อยสลายลิกนิน และนำไปใช้ศึกษาการย่อยสลายสารมลพิษในดิน (Eggen and Majcherezyk, 1998) สารประกอบที่เป็นพิษ เช่น Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), Polychlorinated Biphenyls (PCBs) และสีย้อม เป็นต้น



ภาพที่ 8 กลไกทั่วไปในการย่อยสลายสาร PAHs โดยใช้เอนไซม์จากเชื้อรา

จากภาพที่ 8 แสดงกลไกการย่อยสลายสาร PAHs โดยใช้เอนไซม์ Lignin Peroxidase (LiP), Laccase (Lac) และ Manganese Peroxidase (MnP) จากเชื้อราเส้นใยสีขาว กลายเป็นสาร Quinones และมีการแตกสลายวงแหวนอะโรมาติกและเกิดการย่อยสลายจน กลายเป็น CO₂ เป็นผลผลิตสุดท้ายในกระบวนการ ดังนั้นกระบวนการย่อยสลายโดยอาศัยวิธีทางชีวภาพจึงมีข้อได้เปรียบ คือ ไม่ก่อให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในสภาพแวดล้อม และปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิต น้ำทิ้งที่ผ่านกระบวนการนี้จะไม่กลิ่นเหม็น เพราะผลของปฏิกิริยาสุดท้ายจะได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ

Dirk *et al.* (2003) กล่าวว่า เชื้อราเส้นใยสีขาวผลิตเอนไซม์ออกซิเดสออกมานอกเซลล์ เช่น Lignin Peroxidase (LiP), Laccase (Lac) และ Manganese Peroxidase (MnP) เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่มย่อยสลายลิกนินในธรรมชาติ จึงมีการประยุกต์ใช้เอนไซม์ Lignin-Modifying Enzymes (LME) สำหรับการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมที่มีสีขุ่นปนเปื้อนอยู่ด้วย พบว่าเอนไซม์ที่เชื้อผลิตขึ้นมามีความสามารถในการกำจัดสีขุ่นจากน้ำเสียโรงงานสิ่งทอได้ดี โดยกำจัดสีขุ่นได้มากกว่า 80%

Eicheroova *et al.* (2005) ศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดสีขุ่นประเภทอะโซ คือ สีขุ่น Orange G และประเภทแอนทราควิโนน คือ สีขุ่น Remazol Brilliant Blue (RBBR) ของเชื้อราขาว 3 ชนิด ได้แก่ *Dichomitus squalens*, *Ischnoderma resinosum* และ *Pleurotus calypttratus* ทั้งในสภาวะเขย่าและไม่เขย่า พบว่าเชื้อทุกชนิดสามารถกำจัดสีขุ่นได้ โดยตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ Lac และ MnP ทั้ง 2 สภาวะ แต่ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ LiP โดยกิจกรรมของ Lac มากกว่า MnP และพบว่าเชื้อ *D. squalens* สามารถผลิตได้ Lac มากที่สุด 0.22 Uml⁻¹ เมื่อใส่สารละลายสี RBBR ในสภาวะที่มีการจำกัดไนโตรเจน (nitrogen limitation) และไม่เขย่า จากการทดลองพบว่าเชื้อ *D. squalens* สามารถกำจัดสีขุ่นและผลิตเอนไซม์ได้มากในสภาวะเขย่า เมื่อทำการทดลองครบ 14 วัน พบว่าเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถกำจัดสีขุ่น RBBR ซึ่งเป็นสีขุ่นประเภทแอนทราควิโนนได้ดีกว่าสีขุ่นประเภทอะโซ โดยเชื้อ *I. resinosum* สามารถกำจัดสีขุ่น RBBR ได้มากที่สุดคิดเป็น 98% เชื้อ *D. squalens* 91% และเชื้อ *P. calypttratus* กำจัดสีขุ่นได้เพียง 58%

Apiwattanapiwat *et al.* (2006) ศึกษาการคัดแยกเชื้อราที่มีความสามารถในการลดสีน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเยื่อและกระดาษ โดยการนำตัวอย่างเชื้อไม้ผุภายในบริเวณอุทยานแห่งชาติมาเพื่อคัดเลือกเชื้อราจำนวน 64 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราสายพันธุ์ KAPI0003, KAPI0004,

KAPI0013, KAPI0025, KAPI0030, KAPI0039 และ KAPI0050 จำนวน 7 สายพันธุ์ สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารแข็งที่ประกอบด้วยลิกนินสังเคราะห์ อย่างไรก็ตามเมื่อนำเชื้อราทั้ง 7 สายพันธุ์ไปทดสอบประสิทธิภาพในการลดสีน้ำตาลจากโรงงานผลิตเยื่อและกระดาษ ผลการทดลองบ่งชี้ว่าเชื้อราสายพันธุ์ KAPI0025, KAPI0039 และ KAPI0050 เพียง 3 สายพันธุ์เท่านั้นที่มีประสิทธิภาพในการลดสีน้ำตาลได้ประมาณ 54.4%, 54.9% และ 53.7% ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อราดังกล่าวไปพิสูจน์เพื่อจำแนกสายพันธุ์ พบว่าเป็นเชื้อรา *Trichaptum* sp., *Datronia* sp. และ *Trametes* sp. ตามลำดับ

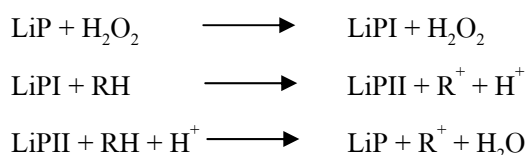
จิรวาท และคณะ (2552) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินโดยใช้เชื้อราเส้นใยสีขาว *Datronia* sp. KAPI0039 โดยศึกษาชนิดและค่ากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินที่ผลิตโดย *Datronia* sp. KAPI0039 ในอาหารแข็งที่ประกอบด้วยขี้เลื่อยหรือฟางข้าว พบว่าเชื้อราสามารถผลิตเอนไซม์ได้ 2 ชนิด คือ Lac และ MnP โดยในอาหารแข็งที่ประกอบด้วยขี้เลื่อยสามารถกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ดังกล่าวได้ดีกว่าอาหารแข็งที่ประกอบด้วยฟางข้าว อีกทั้งความสามารถในการลดสีน้ำตาลที่มีลิกนินเป็นส่วนประกอบ จากการทดลองไม่พบว่าการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายลิกนินของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 สอดคล้องกับปริมาณค่าสีของน้ำตาลที่ลดลง

6. กลไกการบำบัดสีด้วยเอนไซม์

เชื้อราเส้นใยสีขาวผลิตเอนไซม์ในการย่อยสลายสีย้อม อาจเกิดจากกลไกการย่อยสลายแบบออกซิเดทีฟ (Oxidative degradation) เช่นเดียวกับกลไกการย่อยสลายลิกนิน เอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสีย้อม ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดเรียกรวมว่า Ligninolytic enzymes ได้แก่ เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (Lignin peroxidases ; LiP) แลคเคส (Laccases ; Lac) และแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (Manganese peroxidases; MnP) เอนไซม์เหล่านี้เป็นเอนไซม์ชนิดที่ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (Extracellular enzyme) เชื้อราเส้นใยสีขาวผลิตขึ้นและปล่อยออกมาย่อยสลายสารจำพวกอะโรมาติกซึ่งมีโมเลกุลขนาดใหญ่

6.1 ลิกลินเปอร์ออกซิเดส (Lignin Peroxidase ; LiP)

ลิกลินเปอร์ออกซิเดสพบครั้งแรกในเชื้อราเส้นใยสีขาว *Phanerochaete chrysosporium* (Glenn and Gold, 1983; Tien and Kirk, 1984) กลไกการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จะทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 ที่ผลิตจากเชื้อราเส้นใยสีขาว เกิดการออกซิไดซ์ส่งผลให้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสได้อนุมูลบวก (Cation radical) ของ Porphyrin เรียก LiPI ซึ่งจะถูกรีดิวซ์โดยมีการถ่ายเทอิเล็กตรอน 1 ตัว ได้สารตัวกลาง (Intermediate) คือ LiPII ซึ่งในปฏิกิริยานี้จะเกิดการออกซิไดซ์สารประกอบอะโรมาติก เช่น Veratryl alcohol ได้อนุมูลบวกแอริล (Aryl Radical) ปฏิกิริยาทั้งหมดที่เกิดขึ้นมีดังนี้



การเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบถ่ายเทอิเล็กตรอนเพียง 1 ตัว (One-electron oxidation) ของหมู่อะโรมาติกโดยเอนไซม์ชนิดนี้มีความสำคัญมาก เนื่องจากทำให้ได้อนุมูลบวกซึ่งสามารถถูกออกซิไดซ์ต่อไปได้เมื่อมีออกซิเจนซึ่งระบบย่อยสลายลิกลินดังกล่าวมีลักษณะไม่จำเพาะเจาะจง ทำให้สามารถนำเอนไซม์กลุ่มนี้ไปใช้ออกซิไดซ์สารประกอบอะโรมาติกอื่นๆ ได้อีกมากมาย ตัวอย่างเช่น สารประกอบ Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Polychlorinated Phenol, Dioxins และ Synthetic dye เป็นต้น

โดยทั่วไปลิกลินเปอร์ออกซิเดส (LiP) เร่งปฏิกิริยาได้หลายแบบ เช่น การแตกของ $C_\alpha-C_\beta$ การออกซิไดซ์ C_β ส่งผลให้เกิดการแตกของพันธะระหว่างอัลคิลและแอริล (Alkyl-aryl bond) และการแตกของวงแหวนอะโรมาติก การดึงหมู่เมทอกซิล (Demethoxylation) การดึงหมู่เมทิล (Demethylation) การเติมหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxylation) ตลอดจนการต่อสายโพลิเมอร์ (Polymerization) ลิกลินเปอร์ออกซิเดสที่พบแล้วในปัจจุบันมีมากกว่า 21 ชนิด ซึ่งแต่ละชนิดจะมีความคงตัว (Stability) และลักษณะในการเร่งปฏิกิริยา (Catalytic reaction) แตกต่างกัน เชื้อราที่ผลิตลิกลินเปอร์ออกซิเดสได้ เช่น *Phlebia radiata*, *Coliolum versicolor*, *Coriolum hirsutum*, *Pleurotus ostreatus*, *Bjerkandera adusta*, *Penicillium thomii* เป็นต้น

6.2 แลคเคส (Laccase ; Lac)

แลคเคสได้รับความสนใจจากนักวิจัยอย่างมาก เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการออกซิไดส์ (Oxidise) สารประกอบที่มีโครงสร้างคล้ายลิกนิน (Lignin) ทั้งที่เป็นกรดฟีนอลิก (Phenolic) และไม่เป็นกรดฟีนอลิก (Non-phenolic) ตลอดจนสารก่อมลพิษชนิดต่างๆ ได้ในสถานะที่มีออกซิเจน จึงมีการประยุกต์ใช้แลคเคส (Lac) ในการบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมโดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำเสียจากโรงงานกระดาษและเยื่อกระดาษ โรงงานสิ่งทอ โรงงานปิโตรเคมี สารกำจัดวัชพืช และสารกำจัดแมลง เป็นต้น

แลคเคสเป็นไกลโคโปรตีนที่มีทองแดงเป็นส่วนประกอบ สามารถเร่งปฏิกิริยาการออกซิไดส์สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) หลายชนิด เช่น catechol, hydroquinone, 2,6-dimethoxyphenol และ syringaldazine แบบที่ถ่ายเทเพียง 1 อิเล็กตรอน ได้สารกึ่งตัวกลางกับอนุมูลฟีนอกซีอิสระ (Free phenoxy radicals) นอกจากนั้น ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) ซึ่งเป็นสับสเตรทสังเคราะห์ของแลคเคสยังทำหน้าที่เป็นสับสเตรทร่วม (co-substrate) หรือ Mediator ในปฏิกิริยาออกซิเดชันอีกด้วย แลคเคสเร่งปฏิกิริยาได้หลายแบบ ตัวอย่างเช่น การแตกออกระหว่างหมู่แอลคิลกับหมู่เอริล การแตกระหว่าง $C_{\alpha}-C_{\beta}$ การแตกของหมู่ฟีนอล 2 หมู่ นอกจากนั้นยังเร่งปฏิกิริยาการดึงหมู่เมทอกซิลและหมู่เมทิล ตลอดจนการต่อสายโพลิเมอร์และการตัดสายโพลิเมอร์ (Depolymerization) อีกด้วย เชื้อราที่มีรายงานว่าผลิตแลคเคสได้มีหลายชนิด ที่สำคัญคือ เชื้อรา Basidiomycetes สกุลต่างๆ เช่น *Agaricus*, *Bjerkandera*, *Coprinus*, *Fomes*, *Ganoderma*, *Phanerochaete*, *Phlebia*, *Pleurotus* และ *Trametes* เป็นต้น นอกจากนั้นยังพบว่าเชื้อราในสกุล Ascomycetes เช่น *Neurospora* และ *Xylaria* เป็นต้น สำหรับเชื้อราพวก Imperfect ที่ผลิตแลคเคสได้ เช่น *Agaricus*, *Botrytis*, *Penicillium* และ *Trichoderma* เป็นต้น

6.3 แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (Manganese Peroxidase ; MnP)

แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสพบครั้งแรกในเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* (Kuwahara *et al.*, 1984) ปัจจุบันพบไอโซเอนไซม์ของ MnP แล้วหลายชนิด MnP เป็นไกลโคโปรตีนที่เร่งปฏิกิริยาการออกซิไดส์ชนิดหนึ่งอิเล็กตรอนของสารประกอบที่ไม่ใช่ฟีนอลเมื่อมี Mn(II) ดังสมการต่อไปนี้



จากสมการจะเห็นว่าปฏิกิริยาเริ่มต้นเกิดระหว่าง MnP กับ H_2O_2 ได้สารตัวกลาง คือ MnPI ซึ่งจะออกซิไดซ์ MnP(II) ได้ Mn(III) และ Mn(III) จะถูกทำให้คงตัวโดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับกรดอินทรีย์ เช่น แลคเตตมาโลเนต หรือออกซาเลตและจะออกซิไดซ์สารประกอบอะโรมาติกได้อินมูลฟินอกซีหรืออินมูลบุกแอริล กลุ่มเชื้อราที่ผลิต MnP ได้ คือ Basidiomycetes หลายชนิดเช่น *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Bjerkandera adusta*, *Ganoderma australis* และ *Polyporous ostreiformis* เป็นต้น จากการศึกษาของ Chagas and Durrant (2001) พบว่าเชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* ผลิตเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเป็นเอนไซม์หลักในการลดความเข้มข้นสีซีย้อม

การลดความเข้มของสีซีย้อมที่เกิดขึ้นในอุตสาหกรรมฟอกย้อมสิ่งทอโดยใช้เชื้อรานั้นเป็นทางเลือกที่ดีที่จะนำมาใช้แทนหรือนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกัน เพื่อส่งเสริมระบบบำบัดเดิมที่มีการใช้งานในปัจจุบันให้มีประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสีซีย้อมมากขึ้น จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะทำการศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาการนำเชื้อรามาใช้ประโยชน์ได้อย่างเหมาะสมในอนาคต สำหรับงานวิจัยนี้ได้มีการนำเชื้อราเส้นใยสีขาว *Datronia* sp. KAPI0039 มาศึกษาความสามารถในการลดความเข้มข้นสีซีย้อม สีโอดี เพื่อหาความสัมพันธ์กับปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อราดังกล่าว ซึ่งเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการพัฒนาระบบบำบัดให้มีประสิทธิภาพสูงยิ่งขึ้นไปในอนาคต

อุปกรณ์ละวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราเส้นใยสีขาว

เชื้อราเส้นใยสีขาวที่ใช้ในการศึกษาวิจัยคือ *Datronia* sp. KAPI0039 ได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีเอนไซม์และการจัดการของเสีย ฝ่ายนาโนเทคโนโลยี และเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันคั่นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เก็บรักษานอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้

2. เครื่องมือ

- 2.1 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง
- 2.2 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) รุ่น Jasco V-530
- 2.3 เครื่องเขย่า (Shaker) ความเร็ว 150 รอบต่อนาที
- 2.4 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิต่ำ (Refrigerated Centrifuge)
- 2.5 เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น Cyber scan 500
- 2.6 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ยี่ห้อ HIRAYAMA
- 2.7 ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
- 2.8 ตู้ดูดควัน (Hood)
- 2.9 ตู้ปลอดเชื้อ (Biohazard Safety Cabinet)
- 2.10 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
- 2.11 โถดูดความชื้น (Desicator)
- 2.12 Vortex mixer
- 2.13 เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum Filtration)

3. สารเคมี

3.1 สีย้อม Remazol Brilliant Blue R (RBBR) และ Reactive Black 5 (RB5) ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท DyStar Thai Ltd.

3.2 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อรา (ภาคผนวก)

3.2.1 กลูโคส (Glucose)

3.2.2 Yeast extract

3.2.3 เฟอริกซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

3.2.4 ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)

3.2.5 แมงกานีสซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

3.2.6 โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)

3.2.7 แอมโมเนียมไนเตรด (NH_4NO_3)

3.2.8 ฐุ่น (Agar)

3.3 สารเคมีวิเคราะห์เอนไซม์ (ภาคผนวก)

3.3.1 ABTH (2,20-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))

3.3.2 MBTH (3-Methyl-2-benzothiazolinone hydrazone hydrochloride monohydrate)

3.3.3 DMAB (3-(Dimethylamino)benzoic acid)

3.3.4 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

3.3.5 แมงกานีสซัลเฟต ($\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

3.3.6 โซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์

3.3.7 กรดอะซิติก (CH_3COOH)

3.3.8 กรดซัลซินิก (CH_2COOH)₂

3.3.9 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

วิธีการ

1. การเตรียมเชื้อรา

ใช้เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 7 วัน เพื่อเพิ่มจำนวนในอาหาร Glucose Yeast Extract (GYE) ดูภาคผนวก ก โดยใช้แท่งเจาะ (cork borer) เบอร์ 3 cork เชื้อราจำนวน 20 cork ลงในอาหาร GYE ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ จากนั้นนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 วัน

2. การเตรียมสารละลายสีย้อมสังเคราะห์

เตรียม stock สารละลายสีย้อมสังเคราะห์ในสภาวะปลอดเชื้อ ที่ความเข้มข้น 20,000 mgL⁻¹ จากนั้นนำไปกรองผ่านเยื่อกรองขนาด 0.45 µm ในสภาวะปลอดเชื้อ

3. การวิเคราะห์น้ำตัวอย่าง

3.1 การวัดความเข้มข้นของสีย้อม

ความเข้มข้นของสีย้อมสังเคราะห์ RBBR และ RB5 ในสารละลาย หาได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสม โดยสีย้อม RBBR วัดที่ความยาวคลื่น 592 นาโนเมตร และสีย้อม RB5 วัดที่ความยาวคลื่น 595.5 นาโนเมตร เป็นค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดของสีย้อมแต่ละชนิด จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของสีย้อมจากกราฟมาตรฐาน ระหว่างความเข้มข้นของสีย้อมกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสมของแต่ละสีย้อม ซึ่งความเข้มข้นของสีย้อม มีค่าเท่ากับ ค่าการดูดกลืนแสง/ความชันของกราฟมาตรฐาน

3.2 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์

3.2.1 กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส วัดกิจกรรมตามวิธีของ Eggert *et al.* (1996) โดยส่วนผสมที่เกิดปฏิกิริยา (reaction mixture) จำนวน 1,000 ไมโครลิตร ประกอบด้วย ABTH ความเข้มข้น 0.588 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 850 ไมโครลิตร เป็นสับสเตรต (substrate) สารละลายอะซิเตดบัฟเฟอร์ พีเอช 4.5 ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายเอนไซม์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวัดอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร คำนวณกิจกรรมเอนไซม์แลคเคสโดยใช้ค่า molar absorption coefficient เท่ากับ 36,000 มิลลิลิตรต่อไมโครโมลต่อเซนติเมตร

1 หน่วยเอนไซม์แลคเคส หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถออกซิไดส์ ABTH 1 μmol ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

3.2.2 กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส วัดกิจกรรม ตามวิธีของ Castillo *et al.* (1994) โดยส่วนผสมที่เกิดปฏิกิริยา (reaction mixture) ประกอบด้วยสารละลาย MBTH (3-Methyl-2-benzothiazolinone hydrazone hydrochloride monohydrate) ความเข้มข้น 0.28 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร สารละลาย DMAB (3-(Dimethylamino)benzoic acid) ความเข้มข้น 4.95 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร สารละลายอะซิเตดบัฟเฟอร์ พีเอช 4.5 ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร สารละลายแมงกานีสซัลเฟต ความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และสารละลายเอนไซม์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวัดอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร คำนวณกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสโดยใช้ค่า molar absorption coefficient เท่ากับ 53,000 มิลลิลิตรต่อไมโครโมลต่อเซนติเมตร

1 หน่วยเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถออกซิไดส์ MBTH 1 μmol ให้ได้เป็น deep blue color ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

4. ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในอาหาร PDB

ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 โดยใช้น้ำหนักแห้งของเส้นใยเชื้อรา (cell dry weight) ใช้ cork borer เบอร์ 3 เส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 7 มิลลิเมตร เจาะลงบนเส้นใย จำนวน 2 ชิ้น ลงในอาหาร PDB ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเข้าบ่มเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นกรองเส้นใยที่ได้ด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 โดยกระดาษกรองที่นำมาใช้ต้องนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำให้อุณหภูมิเย็นลงโดยใส่โถดูดความชื้น ประมาณ 30 นาที และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน นำเส้นใยที่กรองได้อบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำให้อุณหภูมิเย็นลงโดยใส่โถดูดความชื้นจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักแห้ง ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ บันทึกน้ำหนักแห้งของเส้นใยทุกวันจนครบ 14 วัน แล้วมาเขียนกราฟการเจริญเติบโต

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น.น.กระดาษกรองพร้อมเซลล์แห้ง (กรัม)} - \text{น.น.กระดาษกรอง (กรัม)} \times 10^3}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่กรอง (มิลลิลิตร)}}$$

5. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอนไซม์จากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ต่อการลดความเข้มข้นของสารละลายสีย้อม RBBR และ RB5 ที่ความเข้มข้นของสีย้อมต่างๆ กัน

5.1 การเตรียมเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039

นำเชื้อราจากข้อ 1 กรองผ่านผ้าขาวบาง ชั่งน้ำหนักเชื้อราให้ได้ประมาณ 2.5 กรัม เปียกต่อสารละลายสีย้อม 100 มิลลิลิตร

5.2 การเตรียมสารละลายสีย้อมสังเคราะห์

เตรียมสารละลายสีย้อมสังเคราะห์ที่จะใช้ในการทดลอง ในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร ประกอบด้วยธาตุอาหาร Minimal Medium (ดูภาคผนวก ก) และสารละลายสีย้อมสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹ โดยมีปริมาตรรวมในพลาสติกเท่ากับ 300 มิลลิลิตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5.3 การเก็บตัวอย่าง

เก็บน้ำตัวอย่างแบบปลอดเชื้อจากพลาสติกปริมาตร 2 มิลลิลิตร ชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 ของการทดลองนำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสนำไปวัดความเข้มข้นสี และกิจกรรมของเอนไซม์

6. ศึกษาปริมาณเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ที่เหมาะสมต่อการบำบัดสารละลายสีย้อม RBBR และ RB5

6.1 การเตรียมเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039

ทำเช่นเดียวกับข้อ 5.1

6.2 การเตรียมสารละลายสีย้อมสังเคราะห์

เตรียมสีย้อมเช่นเดียวกับข้อ 5.2 โดยในแต่ละพลาสติกมีปริมาณเชื้อรา เท่ากับ 1, 2 และ 3 กรัม เปียกต่อสารละลายสีย้อม 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

6.3 การเก็บตัวอย่าง

เก็บน้ำตัวอย่างแบบปลอดเชื้อจากพลาสติกปริมาตร 2 มิลลิลิตร ชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 48, 72, 96, 120, 144 และ 168 ของการทดลอง นำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสนำไปวัดความเข้มข้นของสี และกิจกรรมของเอนไซม์

7. ศึกษาความเป็นกรด-เบส เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการบำบัดสารละลายสีย้อม RBBR และ RB5

7.1 การเตรียมเชื้อรา

ทำเช่นเดียวกับข้อ 5.1

7.2 การเตรียมสารละลายสีย้อมสังเคราะห์

เตรียมสารละลายสีย้อมเช่นเดียวกับข้อ 5.1 และปรับค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 3, 5, 7 และ 9

7.3 การเก็บตัวอย่าง

ทำเช่นเดียวกับข้อ 6.3

8. การคำนวณ

8.1 ประสิทธิภาพการลดสี

8.1.1 เตรียมกราฟมาตรฐานสีย้อม

เตรียม stock สารละลายสีย้อมที่ความเข้มข้นสี $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ เจือจางให้มีความเข้มข้นสีเท่ากับ 50, 100, 200, 400, 600, 800 และ $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 592 นาโนเมตร สำหรับสีย้อม RBBR และความยาวคลื่น 595.5 นาโนเมตร สำหรับสีย้อม RB5 นำข้อมูลไปเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสีย้อม

8.1.2 การคำนวณหาร้อยละการลดของความเข้มสี

นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นสีย้อม เพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นสีย้อมมีหน่วยเป็น mgL^{-1} จากนั้นนำมาคำนวณเป็นร้อยละการลดความเข้มสีด้วยสูตร

$$\text{ร้อยละการลดความเข้มสี} = \frac{(\text{ความเข้มข้นสีก่อนการบำบัด} - \text{ความเข้มข้นสีหลังการบำบัด}) \times 100}{\text{ความเข้มข้นสีก่อนการบำบัด}}$$

8.2 การคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์

$$\text{กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต.ลิตร}^{-1}\text{)} = \frac{\Delta A / \Delta t \cdot V_T \cdot 10^6}{\epsilon \cdot l \cdot V_E}$$

โดย $\Delta A / \Delta t$ คือ ค่าการเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงต่อนาที
 V_T คือ ปริมาตรทั้งหมดของ Reaction mixture (มิลลิลิตร)
 V_E คือ ปริมาตรเอนไซม์ (มิลลิลิตร)
 ϵ คือ ค่า molar absorption coefficient ของเอนไซม์แต่ละชนิด
 l คือ ความกว้างของคิวเวตต์ (เซนติเมตร)

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการหน่วยเทคโนโลยีเอนไซม์และการจัดการของเสีย ฝ่ายนาโนเทคโนโลยี และเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันคั่นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอุตสาหกรรม เกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

ระยะเวลาการทำวิจัย

เมษายน 2551 ถึง กุมภาพันธ์ 2552

ประโยชน์ที่ได้รับ

1. เพื่อให้ทราบถึงประสิทธิภาพของเอนไซม์จากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีในสารละลายสีย้อมสังเคราะห์ RBBR และ RB5
2. เพื่อระบุชนิดของเอนไซม์จากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ที่มีบทบาทต่อการลดความเข้มข้นสีย้อมสังเคราะห์ในสารละลายสีย้อม
3. ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ สามารถใช้เป็นแนวทางในการกำจัดสีย้อมในน้ำ โดยใช้วิธีทางชีวภาพช่วยในการลดการใช้สารเคมี ตลอดจนเกิดผลดีต่อระบบนิเวศทางน้ำ

ผลและวิจารณ์

ผล

1. ลักษณะของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039

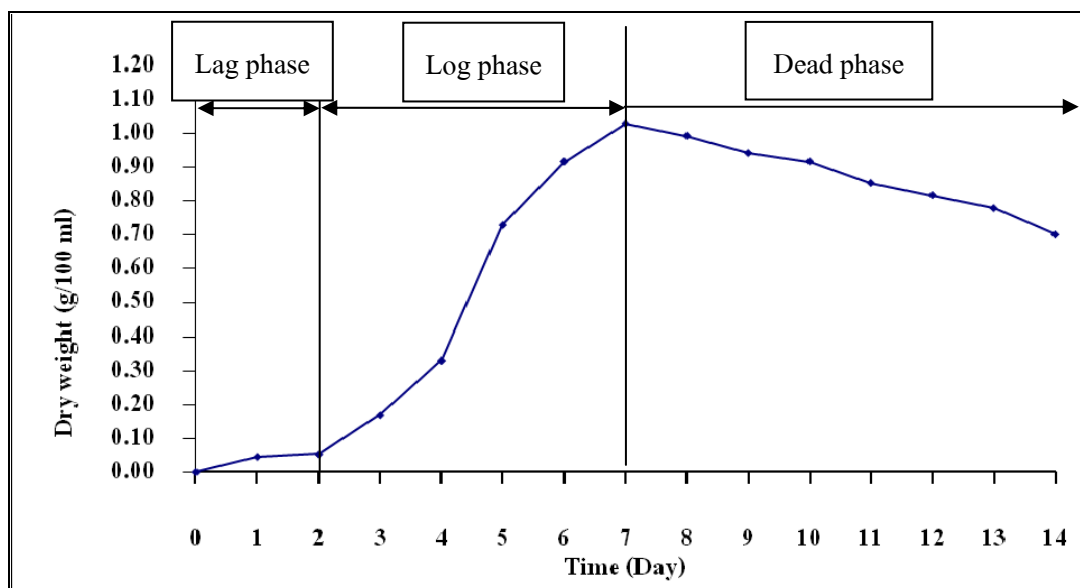


ภาพที่ 9 ลักษณะของเชื้อรา *Datronia* sp.KAPI0039 อายุ 7 วัน บนอาหาร PDA

Datronia sp. KAPI0039 เป็นเชื้อราเส้นใยสีขาว จากหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีเอ็นไซม์ และการจัดการของเสีย สถาบันคั่นคว่ำและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ดังแสดงในภาพที่ 9 จึงพร้อมจะนำมาใช้ในการทดลอง ในกรณีที่ยังไม่นำมาใช้ในการทดลองให้เก็บรักษาเชื้อราไว้ในอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้และควรถ่ายเชื้อราลงในอาหารใหม่ ทุกๆ เดือน

2. ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Broth (PDB)

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในอาหาร PDB โดยใช้เชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ครบ 7 วัน จำนวน 2 cork ลงในอาหาร PDB 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ จากนั้นนำข้อมูลน้ำหนักแห้งมาเขียนกราฟการเจริญเติบโตเป็นเวลา 14 วัน ดังภาพที่ 8 จากการศึกษาพบว่าเชื้อรามีลักษณะเป็นก้อนกลม เมื่อเจริญในอาหาร PDB ในวันที่ 3-7 เชื้อราจะมีการเจริญเติบโตในช่วง logarithmic phase หรือ exponential phase คือ ระยะที่เชื้อราจะมีแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็วตามช่วงเวลาใน generation time ของแต่ละชนิด เซลล์ในระยะนี้จะมีอัตราการเจริญสูงกว่าระยะอื่นๆ และมีกระบวนการเมตาบอลิซึมตลอดจนสมบัติทางสรีรวิทยาในระดับที่ไม่แตกต่างกันมากนัก จากนั้นตั้งแต่วันที่ 8 เป็นต้นไปจะเข้าสู่ death phase หรือ decline phase เป็นระยะสุดท้ายในการเจริญของราในอาหารเลี้ยงเชื้อ ระยะนี้เชื้อราจะตายอย่างรวดเร็วเนื่องจากการขาดแคลนสารอาหารและมีปริมาณสารพิษเพิ่มมากขึ้นจนเชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตและผลิตเอนไซม์ต่อไปได้



ภาพที่ 10 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในอาหาร PDB เป็นระยะเวลา 14 วัน

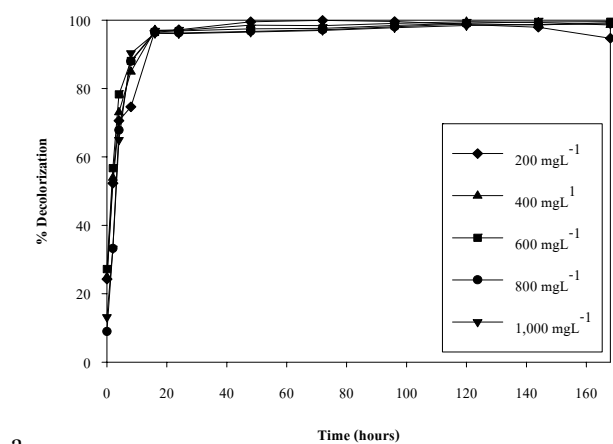
3. ศึกษาอิทธิพลที่มีต่อประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสี RBBR และ RB5 ในสถานะควบคุมโดยใช้เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาอิทธิพลต่างๆ ที่มีต่อประสิทธิภาพการลดความเข้มข้นสีของ RBBR และ RB5 คือ ความเข้มข้นสีของ ปริมาณเส้นใยเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 และ ค่า pH เริ่มต้น

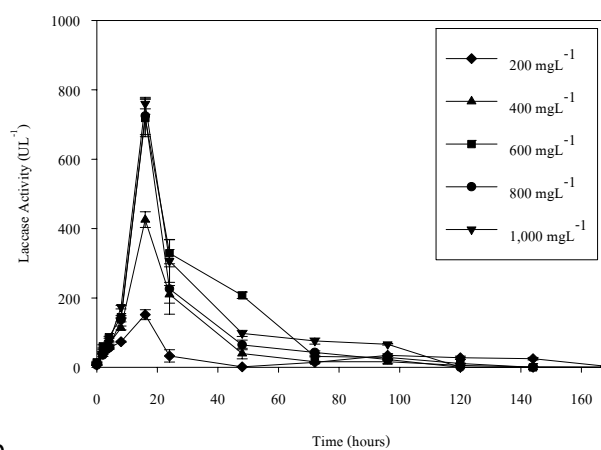
3.1 การศึกษาอิทธิพลที่มีต่อประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสี RBBR ในสถานะควบคุมโดยใช้เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039

3.1.1 การศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นสีที่มีต่อประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสี RBBR ในสถานะควบคุมโดยใช้เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039

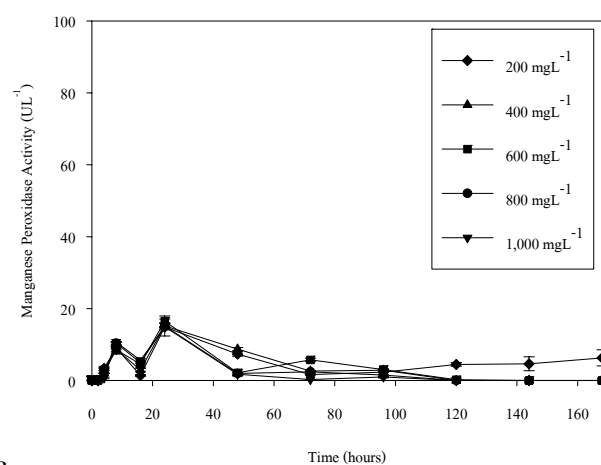
จากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในสารละลายสีของ RBBR ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹ เพื่อศึกษาความสามารถของเชื้อราในการกำจัดสีของ



a



b



c

ภาพที่ 11 ร้อยละการลดความเข้มสีของ RBBR (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (b) และกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายสีของ RBBR 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹ เป็นเวลา 168 ชั่วโมง

ภาพที่ 11 (a) แสดงผลการกำจัดสีของ RBBR พบว่าความเข้มข้นสีของเริ่มลดลงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 2 ของการทดลอง และมีร้อยละของการลดความเข้มข้นสีเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป โดยรา *Datronia* sp. KAPI0039 สามารถลดความเข้มข้นสีของที่ 200 mgL^{-1} ได้สูงสุดร้อยละ 99.86 ภายในเวลา 72 ชั่วโมง ลดความเข้มข้นสีของที่ 400 mgL^{-1} ได้สูงสุดร้อยละ 99.52 ภายในเวลา 120 ชั่วโมง ในขณะที่การลดความเข้มข้นสีของ 600, 800 และ 1000 mgL^{-1} ใช้เวลา 168 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพสูงสุดร้อยละ 99.54, 99.22 และ 98.87 ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติของร้อยละการลดความเข้มข้นสีของการทดลอง แต่พบว่าเมื่อความเข้มข้นสีของ RBBR สูงขึ้น ระยะเวลาในการลดความเข้มข้นสีจะเพิ่มขึ้นด้วย Mechichi *et al.* (2006) ได้ศึกษาอัตราการลดความเข้มข้นสีของ โดยใช้เชื้อรา *Trametes trogii* โดยกำหนดความเข้มข้นสีของ RBBR เริ่มต้นเท่ากับ 50, 100, 200 และ 400 mgL^{-1} พบว่าที่ความเข้มข้นสี 50 และ 100 mgL^{-1} เชื้อรา *T. trogii* มีความสามารถลดสีของ RBBR ได้ร้อยละ 95 ส่วนความเข้มข้นสี 200 และ 400 mgL^{-1} เชื้อราสามารถลดความเข้มข้นสีได้สูงสุดเพียงร้อยละ 85 เท่านั้น อย่างไรก็ตามการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีของ RBBR ที่ความเข้มข้น 1,000 mgL^{-1} ด้วยประสิทธิภาพสูงถึงร้อยละ 98.87 เมื่อเวลาผ่านไป 168 ชั่วโมง

การลดความเข้มข้นสีของโดยใช้เชื้อราเส้นใยสีขาวเกิดขึ้นด้วยกลไกการดูดซับทางชีวภาพ (biosorption) และการย่อยสลายโดยเอนไซม์ โดยส่วนใหญ่แล้วกลไกการดูดซับเกิดจากเชื้อราที่ตายแล้ว (dead cell) เนื่องจากความแตกต่างของประจุบนผนังของเส้นใยเชื้อราโดยสีถูกดูดซับไว้ที่เยื่อหุ้มเซลล์ บางส่วนถูกสะสมไว้ในเซลล์ภายในไซโตพลาสซึม หลังจากนั้นจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ภายในเซลล์ ขณะที่กลไกการลดความเข้มข้นสีของด้วยเอนไซม์เกิดจากเซลล์ที่มีชีวิต (living cell) เท่านั้น จากการทดลองของ Maximo and Ferreira (2004) พบว่าพื้นฐานของการลดความเข้มข้นสีของไม่ได้เกิดจากการดูดซับสีของเป็นหลัก แต่เกิดจากการใช้เอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อราเส้นใยสีขาว ดังนั้นการทดลองนี้จึงใช้เชื้อราที่มีชีวิตในการศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ที่มีผลต่อการลดความเข้มข้นสีในสถานะควบคุม

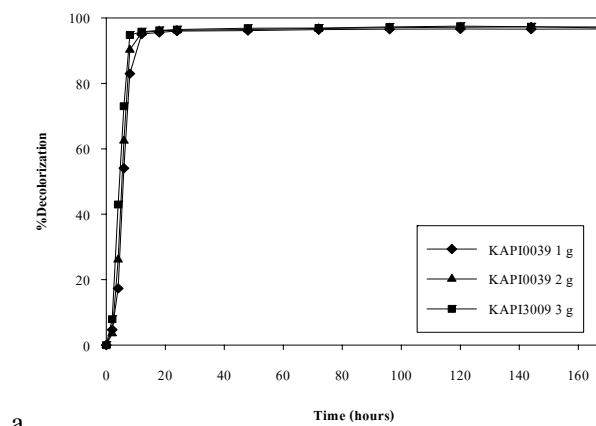
จากภาพที่ 11 (b) แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 เริ่มผลิตเอนไซม์แลคเคสตั้งแต่ชั่วโมงแรกๆ ของการทดลอง และเมื่อเวลาผ่านไปปริมาณเอนไซม์แลคเคสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งชั่วโมงที่ 16 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของกิจกรรมเอนไซม์แลคเคส ในทุกความเข้มข้นของสีของ RBBR โดยสถานะความเข้มข้นสีของ

200 mgL⁻¹ *Datronia* sp. KAPI0039 ผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ปริมาณมากที่สุด คือ 151.86 UL⁻¹ สำหรับในสถานะที่มีความเข้มข้นสี 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹ *Datronia* sp. KAPI0039 ผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ปริมาณสูงที่สุด คือ 425.63 UL⁻¹, 719.11 UL⁻¹, 724.61 UL⁻¹ และ 759.81 UL⁻¹ ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ในช่วงเวลาที่ 24 พบว่ากิจกรรมเอนไซม์แลคเคสลดลง และยังคงมีความแตกต่างกันอย่างทางสถิติมีนัยสำคัญ และเมื่อเวลาผ่านไปจนถึง 168 ชั่วโมงกิจกรรมของเอนไซม์ลดลงอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้เนื่องมาจากความเข้มข้นสีย้อมหรือเรียกว่าปริมาณของ substrate ซึ่งในที่นี้หมายถึง สีย้อม RBBR มีผลต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ปริมาณสูงขึ้น เมื่อเวลาผ่านไปปริมาณของ substrate ในสถานะการเลี้ยงลดลงทำให้การผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ลดลง รวมถึงเมื่อระยะเวลาผ่านไปส่งผลให้เกิดการเสื่อมสภาพของเอนไซม์ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลดลง

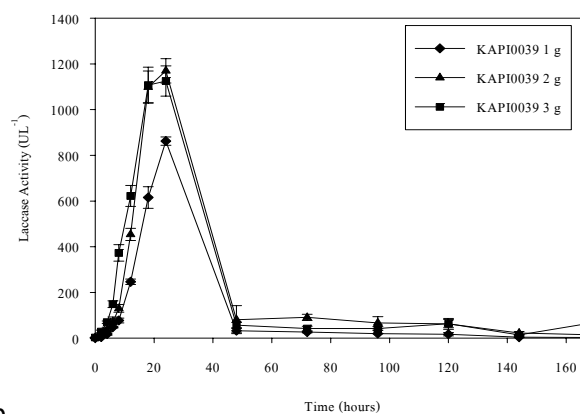
จากภาพที่ 11 (c) แสดงกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในสถานะที่มีสีย้อม RBBR จะเห็นได้ว่าปริมาณเอนไซม์ค่อยๆ เพิ่มขึ้น โดยสูงที่สุดในช่วงเวลาที่ 24 ที่ความเข้มข้นสีย้อม 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹ มีปริมาณเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเท่ากับ 14.86, 15.18, 16.50, 15.17 และ 14.95 UL⁻¹ ตามลำดับ ซึ่งไม่พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสมีความแตกต่างทางสถิติ Deveci *et al.* (2004) พบว่า เชื้อรา *Funalia trogii* ATCC 200800 ให้อัตราการลดสีสูงสุดเมื่อความเข้มข้นสีย้อม RBBR 100 mgL⁻¹ อย่างไรก็ตามหากเพิ่มความเข้มข้นสีย้อมให้มากกว่า 100 mgL⁻¹ จะเกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ก็มีผลต่อการลดสีย้อม RBBR โดยเมื่อกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสเพิ่มขึ้นจาก 0.025 ถึง 0.8 Uml⁻¹ สามารถลดความเข้มข้นสีย้อม RBBR ได้ร้อยละ 80 ภายใน 15 นาที และสังเกตว่ากิจกรรมของเอนไซม์ 0.4 Uml⁻¹ สามารถทำให้ร้อยละการลดสีย้อมเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับ 0.8 Uml⁻¹

3.1.2 การศึกษาอิทธิพลปริมาณเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ที่มีต่อประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสี RBBR ในสถานะควบคุม

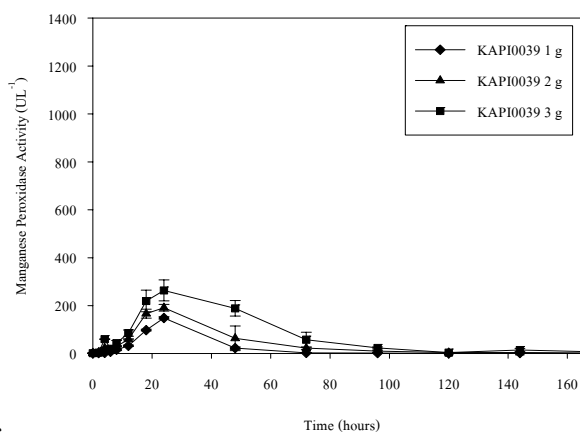
จากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัมเปียก ในสารละลายสีย้อม RBBR ความเข้มข้นสีย้อม 1,000 mgL⁻¹ เพื่อศึกษาความสามารถของเชื้อราในการกำจัดสีย้อม



a



b



c

ภาพที่ 12 ร้อยละการลดความเข้มสีของ RBBR (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (b) และกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายสีของ RBBR 1,000 mgL⁻¹ โดยใช้เชื้อรา *Datronia sp.* KAPI0039 ปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัมเป็ยก เป็นเวลา 168 ชั่วโมง

จากภาพที่ 12 (a) พบว่าภายในเวลา 8 ชั่วโมงแรก เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัมเปียก สามารถลดความเข้มข้นสีของ RBBR ได้ร้อยละ 82.96, 90.23 และ 94.76 ตามลำดับ และในชั่วโมงที่ 12 ร้อยละการลดความเข้มข้นสีของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 1, 2 และ 3 กรัมเปียก คิดเป็นร้อยละ 95.03, 95.48 และ 95.80 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าร้อยละการลดความเข้มข้นสีมีความแตกต่างทางสถิติ กล่าวได้ว่าปริมาณเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 มีผลต่อร้อยละการลดความเข้มข้นสีของ RBBR ที่ความเข้มข้น $1,000 \text{ mgL}^{-1}$

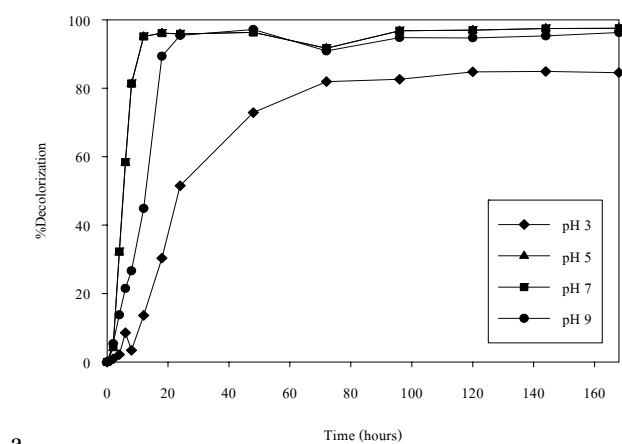
จากภาพที่ 12 (b) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 18-24 ชั่วโมง และในชั่วโมงที่ 24 มีกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงสุด โดยเชื้อรา 1 กรัมเปียก สามารถผลิตเอนไซม์แลคเคสได้กิจกรรมเท่ากับ 862.14 UL^{-1} และที่ปริมาณเชื้อรา 2 และ 3 กรัมเปียก สามารถผลิตเอนไซม์แลคเคสที่มีกิจกรรมเท่ากับ $1,169.67 \text{ UL}^{-1}$ และ $1,125.16 \text{ UL}^{-1}$ ตามลำดับ จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสจะลดลงอย่างรวดเร็ว และไม่เพิ่มขึ้นอีกจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง จากผลการทดลองยังแสดงให้เห็นอีกว่าปริมาณเชื้อรา 2 กรัมเปียก สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงกว่าปริมาณเชื้อรา 3 กรัมเปียก เมื่อพิจารณากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสกับร้อยละการลดความเข้มข้นสี พบว่าช่วงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นมีผลให้ร้อยละการลดความเข้มข้นสีเพิ่มขึ้นด้วย นอกจากนี้กิจกรรมของเอนไซม์เกิดขึ้นสูงสุดในขณะที่ร้อยละการลดความเข้มข้นสียังไม่ถึงจุดสูงสุด อาจเนื่องมาจากปริมาณเอนไซม์แลคเคสในชั่วโมงที่ 12 น่าจะเพียงพอต่อการลดความเข้มข้นสีของ $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ ซึ่งเชื้อราสามารถลดความเข้มข้นสีได้ถึงร้อยละ 95 ภายในเวลา 12 ชั่วโมง โดยปริมาณเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นหลังจากชั่วโมงดังกล่าว อาจมีความเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสีเพียงเล็กน้อย โดยประเมินจากร้อยละการลดความเข้มข้นสีที่เพิ่มขึ้น จึงอาจสรุปได้ว่า เอนไซม์ปริมาณหนึ่งๆ อาจมีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดความเข้มข้นสีของปริมาณหนึ่ง ซึ่งอาจไม่ใช่ปริมาณสูงสุดที่เชื้อราสามารถผลิตได้ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์แลคเคสจึงทำให้ปริมาณเอนไซม์แลคเคสเพิ่มขึ้น หากกล่าวถึงปริมาณเชื้อราที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายสีควรพิจารณาพร้อมกับระยะเวลาที่ใช้ในการบำบัดเพื่อประกอบการตัดสินใจในการเลือกใช้เพื่อให้เกิดความเหมาะสมและคุ้มค่าต่อการนำไปใช้

จากภาพที่ 12 (c) เห็นได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับปริมาณเชื้อราที่ใช้ โดยชั่วโมงที่ 24 มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด เท่ากับ 148.50 UL^{-1} , 191.18 UL^{-1} และ 263.57 UL^{-1} เมื่อปริมาณเชื้อราเท่ากับ 1, 2 และ 3 กรัมเปียก ตามลำดับ ซึ่งเป็นช่วงเดียวกับที่กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงสุด หลังจากช่วงเวลาดังกล่าว กิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น มีสาเหตุมาจากส่วนที่สีถูกทำลายจึงส่งผล

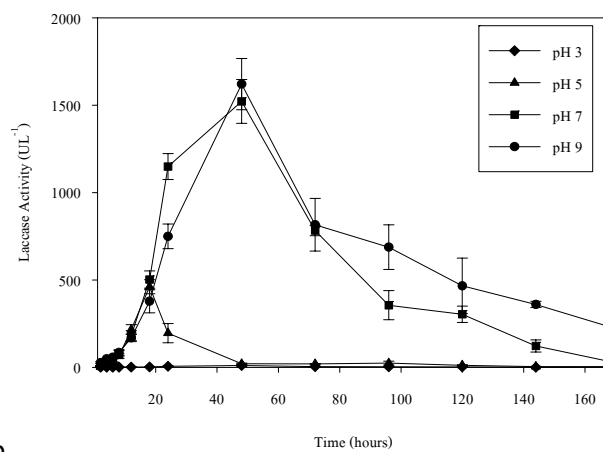
ให้การเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์ลดลง ตลอดจนความไม่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 เพราะเมื่อเวลาในการบ่มมากขึ้น การเจริญเติบโตของเชื้อราก็เพิ่มขึ้น และปล่อยของเสียออกมาภายนอกเซลล์ส่งผลให้เกิดสถานะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราต่อไป อีกทั้งเอนไซม์อาจเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติในสถานะดังกล่าวด้วย การทดลองนี้สนับสนุนว่าเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสมีบทบาทในการสลายสีย้อม BRRB น้อย แต่พบว่าเป็นเอนไซม์ที่ทำงานร่วมกับเอนไซม์แลคเคสในการลดความเข้มข้นสีย้อม Baldrin and Snajdr (2006) ศึกษาการลดความเข้มข้นสีย้อม RBBR และ RB5 ที่ความเข้มข้นสี 100 mgkg⁻¹ โดยอาศัยเชื้อราเส้นใยสีขาวหลายชนิด พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสในสถานะที่มีสีย้อม RBBR สูงกว่าในสถานะที่มีสีย้อม RB5 และพบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงกว่ากิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสด้วย

3.1.3 การศึกษาอิทธิพลของ pH เริ่มต้นต่อประสิทธิภาพการลดความเข้มข้นสี RBBR โดยเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในสถานะควบคุม

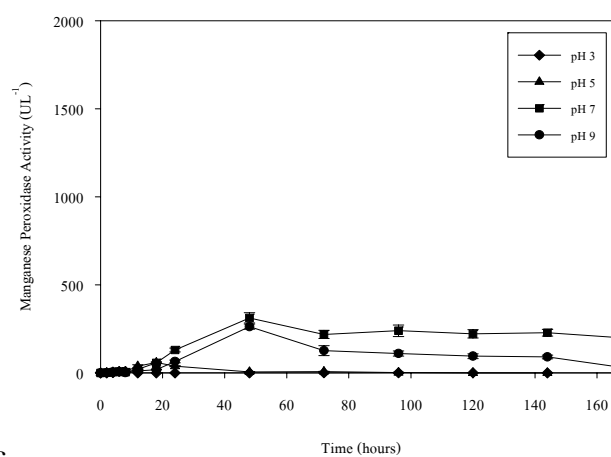
จากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ปริมาณ 2 กรัมเปียก ในสารละลายสีย้อม RBBR ความเข้มข้น 1,000 mgL⁻¹ กำหนดให้ pH เริ่มต้นเท่ากับ 3, 5, 7 และ 9 เพื่อศึกษาความสามารถของเชื้อราในการกำจัดสีย้อม



a



b



c

ภาพที่ 13 ร้อยละการลดความเข้มสีของ RBBR (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (b) และกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายสีของ RBBR $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ pH เริ่มต้น เท่ากับ 3, 5, 7 และ 9 เป็นเวลา 168 ชั่วโมง

ภาพที่ 13 (a) พบว่าในสภาวะที่มีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 5 และ 7 เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 มีความสามารถในการลดความเข้มข้นสีข้อมได้ดีใกล้เคียงกันกระทั่งสิ้นสุดการทดลองโดยมีร้อยละของการลดความเข้มข้นสีสูงสุดเท่ากับ 97.51 และ 97.52 ตามลำดับ ในขณะที่ pH 9 เชื้อราสามารถลดความเข้มข้นสีสูงสุดร้อยละ 96.26 อย่างไรก็ตามที่ pH 5, 7 และ 9 ใช้เวลาน้อยกว่าการลดสีที่สภาวะ แต่ pH 3 เชื้อราสามารถลดความเข้มข้นสีข้อมได้ร้อยละ 84.91 เมื่อสังเกตลักษณะเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ใน ฟลาสก์พบว่าที่ pH 9 เชื้อราเจริญเติบโตเร็วและสร้างเมือกปริมาณมาก นอกจากนี้เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 มีความสามารถในการลดความเข้มข้นสีข้อมได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะที่ pH เริ่มต้นเป็น 5, 7 และ 9 กล่าวได้ว่าสภาวะที่เป็นกรดอ่อน-เบส มีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อราชนิดนี้มากกว่าในสภาวะที่เป็นกรด ซึ่งเมื่อพิจารณาลักษณะน้ำเลี้ยงจากกระบวนการย้อมผ้าที่มีสภาวะเป็นเบส แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ไปประยุกต์ใช้ในการลดความเข้มข้นสีข้อมชนิด RBBR

ภาพที่ 13 (b) พบว่าในสภาวะ pH 3 *Datronia* sp. KAPI0039 ผลิตเอนไซม์แลคเคสน้อยที่สุดตลอดช่วงการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับร้อยละการลดความเข้มข้นสีข้อมที่น้อยที่สุดในขณะที่ pH 5 ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงสุดในชั่วโมงที่ 18 เท่ากับ 461.06 UL^{-1} แต่มีการลดความเข้มข้นสีข้อมได้ร้อยละ 96.10 และที่ pH 7 และ 9 ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ $1,521.42 \text{ UL}^{-1}$ และ $1,620.38 \text{ UL}^{-1}$ มีร้อยละของการลดความเข้มข้นสีข้อมเท่ากับ 96.31 และ 97.16 ตามลำดับ กล่าวได้ว่าร้อยละของการลดความเข้มข้นสีข้อม RBBR มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส ซึ่งแสดงให้เห็นในสภาวะ pH 5 เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 มีความสามารถในการลดความเข้มข้นสีข้อมและผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ดีและรวดเร็วกว่าสภาวะ pH เริ่มต้นอื่นๆ และพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสที่ pH ต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ 99%

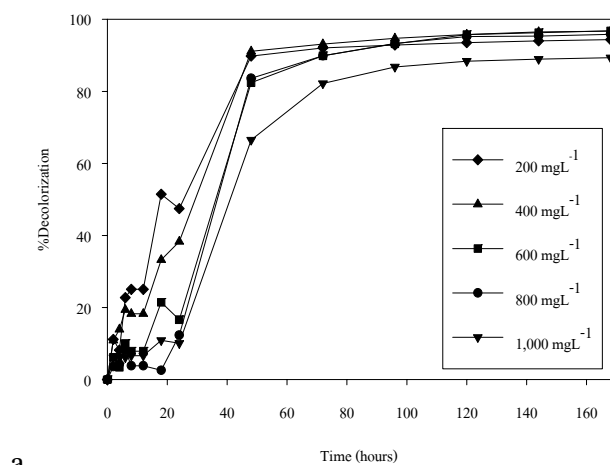
ภาพที่ 13 (c) แสดงให้เห็นกิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในสภาวะที่มีสีข้อม RBBR $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ พบว่า ที่ pH 3 เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ผลิตเอนไซม์ได้น้อยมาก อาจเป็นผลมาจากสภาวะในการผลิตเอนไซม์ไม่เหมาะสม ซึ่งมีแนวโน้มเดียวกับการผลิตเอนไซม์แลคเคส ส่งผลให้ร้อยละการลดความเข้มข้นสีข้อม RBBR น้อยที่สุด แต่จากภาพที่ 13 (b) แสดงให้เห็นว่าถึงแม้ปริมาณเอนไซม์ที่ถูกผลิตน้อยแต่ก็ยังสามารถลดความเข้มข้นสีข้อมได้ แต่อาจต้องใช้ระยะเวลาขึ้นเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ดีขึ้น เมื่อพิจารณาที่ pH 5 พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสมีน้อยเช่นกัน แต่จะสูงสุดในชั่วโมงที่ 18 ตรวจพบกิจกรรม

ของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส เท่ากับ 59.26 UL^{-1} พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส สูงสุด เท่ากับ 461.06 UL^{-1} และพบการลดความเข้มข้นสีย้อมร้อยละ 96.10 ในขณะที่ pH 7 และ 9 มี กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เช่นกัน คือ 312.54 UL^{-1} และ 262.73 UL^{-1} ตามลำดับ มีกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ $1,521.42 \text{ UL}^{-1}$ และ $1,620.38 \text{ UL}^{-1}$ และสามารถลดความเข้มข้นสีย้อมได้ร้อยละ 96.31 และ 97.16 ตามลำดับ จากการสังเกตพบว่าเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสมีแนวโน้มการผลิตตามปริมาณของเอนไซม์แลคเคส คือ เมื่อปริมาณเอนไซม์แลคเคสมากส่งผลให้มีเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสมากขึ้นด้วย ซึ่งเมื่อพิจารณาพร้อมกับร้อยละของการลดความเข้มข้นสีพบว่า ปริมาณเอนไซม์จากเชื้อรามีผลต่อ ร้อยละของการลดความเข้มข้นสีย้อม ซึ่งเป็นผลจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ทั้ง 2

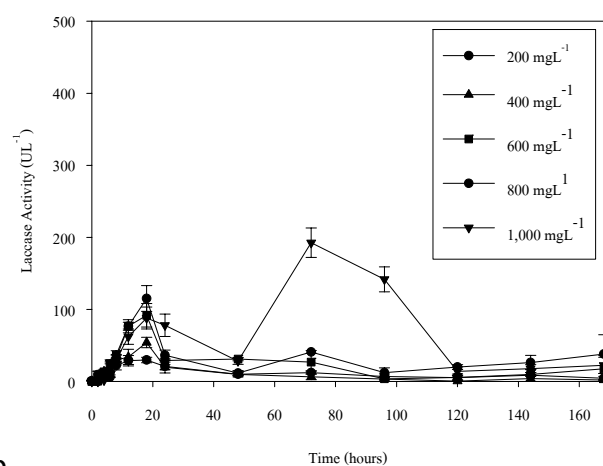
3.2 การศึกษาอิทธิพลที่มีต่อประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสี RB5 ในสถานะควบคุมโดยใช้เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039

3.2.1 การศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นสีที่มีต่อประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสี RB5 ในสถานะควบคุมโดยใช้เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039

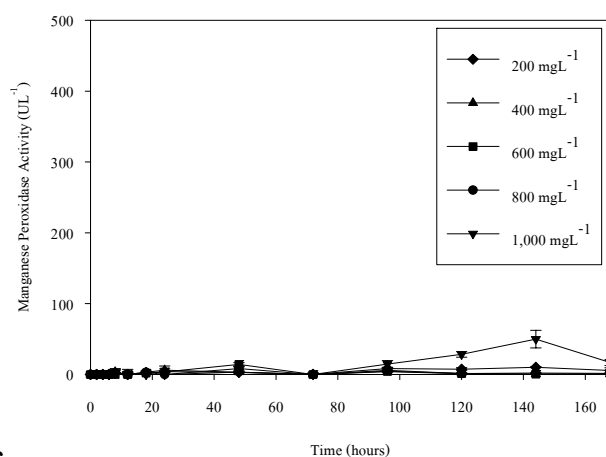
จากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในสารละลายสีย้อม RB5 ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 200, 400, 600, 800 และ $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ เพื่อศึกษาความสามารถของ เชื้อราในการกำจัดสีย้อม



a



b



c

ภาพที่ 14 ร้อยละการลดความเข้มสีย้อม RB5 (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (b) และกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายย้อม RB5 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹ เป็นเวลา 168 ชั่วโมง

จากภาพที่ 14 (a) เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในชั่วโมงที่ 24 สามารถลดความเข้มข้นสีของ RB5 ที่ความเข้มข้นสีต่างๆ กัน คือ 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹ ได้ร้อยละ 89.80, 91.10, 82.41, 83.61 และ 66.51 ตามลำดับ ซึ่งไม่พบความแตกต่างทางสถิติ แต่ในชั่วโมงที่ 48 พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ 99% สอดคล้องกับ Aksu *et al.* (2007) พบว่า เชื้อรา *Trametes versicolor* สามารถลดความเข้มข้นสีของ Remazol Black B โครงสร้างอะโซ ที่ความเข้มข้นสีเริ่มต้น 58.4 mgL⁻¹ ได้ร้อยละ 92 ใช้เวลา 8 วัน ในขณะที่เชื้อราสามารถลดความเข้มข้นสีของ Remazol Black B ที่ความเข้มข้นสีเริ่มต้น 385.6 mgL⁻¹ ได้ร้อยละ 77 ใช้เวลา 14 วัน แสดงว่าเมื่อความเข้มข้นสีสูงขึ้นเชื้อราจะใช้เวลาในการลดความเข้มข้นสีนานขึ้น

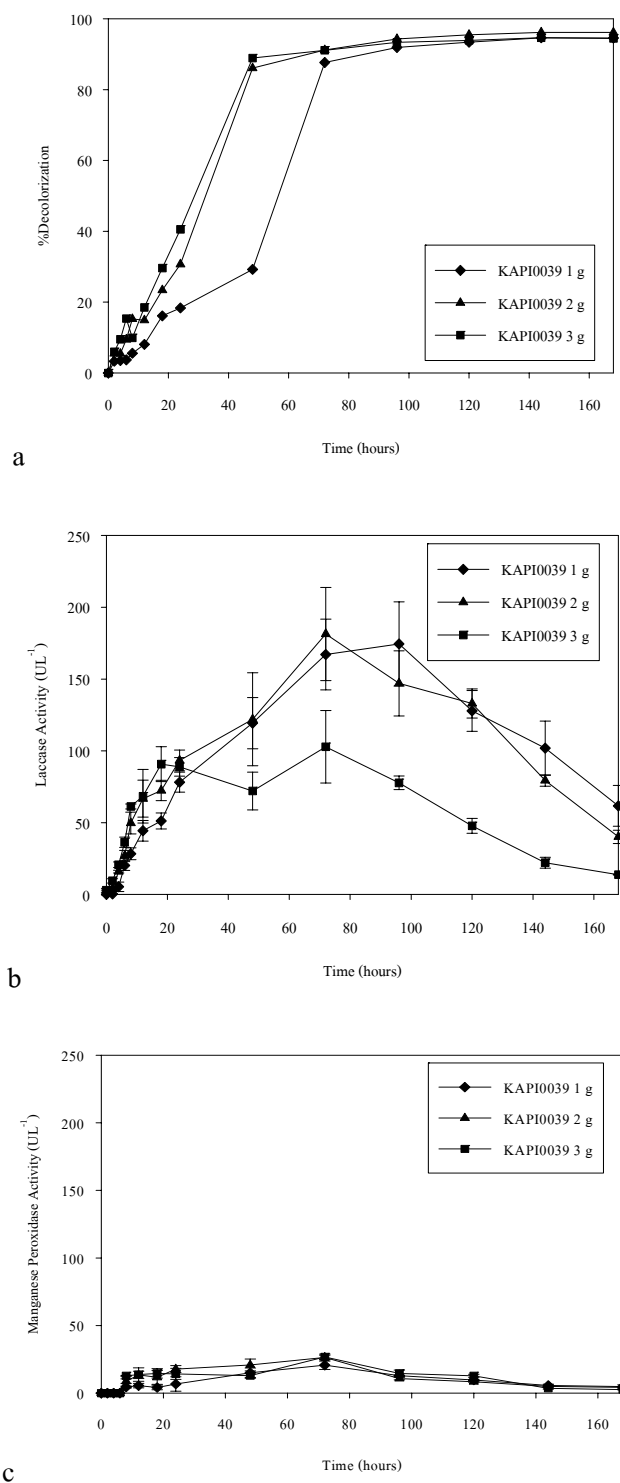
จากภาพที่ 14 (b) แสดงให้เห็นว่าในสภาวะที่มีสีของ RB5 เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ยังสามารถผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ แต่ในระดับที่น้อยกว่าในสภาวะที่มีสี RBBR เช่นในสภาวะที่มีความเข้มข้นสีของ RB5 200 mgL⁻¹ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของกิจกรรมเอนไซม์แลคเคส แต่สำหรับความเข้มข้นสีของ RB5 400 mgL⁻¹ ถึง 1,000 mgL⁻¹ พบว่ามีความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์แลคเคส แสดงว่าเมื่อความเข้มข้นสีของ RB5 เพิ่มขึ้น ทำให้เชื้อราผลิตเอนไซม์มากขึ้นแต่เมื่อพิจารณาพร้อมกับร้อยละการลดความเข้มข้นสี พบว่า ร้อยละการลดความเข้มข้นสีจะลดลงเมื่อความเข้มข้นสีสูงขึ้น ดังนั้น สามารถตั้งสมมติฐานในเบื้องต้นได้ว่าสีของ RB5 ซึ่งมีโครงสร้างอะโซอาจย่อยสลายได้ยากกว่าสีของ RBBR จึงส่งผลให้ร้อยละการลดความเข้มข้นสีอยู่ในระดับในระดับต่ำ หรือ RB5 มีโครงสร้างที่ไม่เหมาะสมกับการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ โดยทั่วไปพบว่าอัตราการออกซิเดชันโดยอาศัยเอนไซม์แลคเคส ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของซับสเตรต การออกซิเดชันซับสเตรตจะสูงขึ้น เมื่อความเข้มข้นซับสเตรตสูงด้วยจนกระทั่งเกิดสมดุล นอกจากนี้ Ollikka *et al.* (1993) รายงานว่าเอนไซม์ LiP มีหน้าที่สำคัญในการลดความเข้มข้นสีของอะโซ (Azo) สีของไตรฟีนิลมีเทน (Triphenyl Methane Dyes) สีของเฮเทอโรไซคลิก (Heterocyclic Dyes) และสีของโพลิเมอร์ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การย่อยสีอะโซเกิดขึ้นช้ากว่าปกติ เนื่องจากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่ผลิตเอนไซม์ LiP ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสีของ RB5 ได้ต่ำ

จากภาพที่ 14 (c) แสดงผลการทดลองที่ใกล้เคียงกับกิจกรรมของแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส ในสารละลายสีของ RBBR นั่นคือ เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ผลิตเอนไซม์ MnP ได้ในระดับที่ต่ำ แม้ว่าความเข้มข้นสีจะเพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามความเข้มข้นสีของ RB5 1,000 mgL⁻¹ ณ ชั่วโมงที่ 144 เชื้อราสามารถผลิตเอนไซม์ MnP ได้สูงสุด

เท่ากับ 49.94 UL^{-1} ส่วนที่ความเข้มข้นสีอื่น ๆ กิจกรรมของเอนไซม์ไม่แตกต่างกันมากนัก เมื่อเปรียบเทียบกับกิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในสารละลายสีย้อม RBBR จากการศึกษาของ Pearce *et al.* (2003) ถึงความสามารถของแบคทีเรียที่มีต่อการเมตาบอลิซึมสีย้อมอะโซ พบว่าภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบให้อากาศ สีย้อมอะโซถูกบำบัดได้ยาก แต่สีย้อมอะโซจะถูกรีดิวซ์ได้ง่ายเมื่ออยู่ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบไร้อากาศ โดยกลไกการทำงานของเอนไซม์ azoreductase ซึ่งเป็นแบบไม่จำเพาะต่อสับสเตรท และผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ สารอะโรมาติกเอมีน (aromatic amine) ซึ่งยากต่อการย่อยสลายภายใต้สภาวะไร้อากาศ อีกทั้งเป็นสารก่อมะเร็งและสารก่อกลายพันธุ์อีกด้วย อย่างไรก็ตามเมื่อโมเลกุลสีย้อมอะโซถูกบำบัดภายใต้สภาวะไร้อากาศ จะให้สารประกอบอะมิโนซึ่งเป็นสับสเตรทที่ดีต่อกระบวนการบำบัดแบบให้อากาศ

3.2.2 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ที่มีต่อประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสี RB5 ในสภาวะควบคุม

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัมเปียก ในสารละลายสีย้อม RB5 ความเข้มข้นสีย้อม 600 mgL^{-1} เพื่อศึกษาความสามารถของเชื้อราในการกำจัดสีย้อม



ภาพที่ 15 ร้อยละการลดความเข้มสีของ RB5 (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (b) กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายสีของ RB5 600 mgL⁻¹ โดยใช้เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัมเป็ยก เป็นเวลา 168 ชั่วโมง

จากภาพที่ 15 (a) ในการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัมเปียกต่อสารละลายสีย้อมสังเคราะห์ RB5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ความเข้มข้นสี 600 mgL⁻¹ พบว่าภายใน 6 ชั่วโมงแรก ร้อยละการลดความเข้มข้นสีย้อมในสถานะที่มีเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัมเปียก มีค่าใกล้เคียงกัน และในชั่วโมงที่ 18 พบว่าร้อยละการลดความเข้มข้นสีย้อมในสถานะที่มีเชื้อราปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัมเปียก เริ่มมีความแตกต่างกันของเส้นกราฟอย่างเห็นได้ชัด คือ สามารถลดความเข้มข้นสีย้อมได้ร้อยละ 16.09, 23.39 และ 29.61 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ณ ชั่วโมงที่ 48 พบว่า ร้อยละการลดความเข้มข้นสีย้อมในสถานะที่มีเชื้อราปริมาณ 1 และ 2 กรัมเปียก คิดเป็นร้อยละ 86.03 และ 88.90 ตามลำดับ จนกระทั่งชั่วโมงที่ 72 การลดความเข้มข้นสีย้อมในสถานะที่มีเชื้อรา 1 กรัมเปียก เกิดขึ้นร้อยละ 87.64 และเมื่อเวลาผ่านไปจนครบ 168 ชั่วโมง แสดงว่าปริมาณเชื้อราที่แตกต่างกันมีผลในการลดความเข้มข้นสีย้อม RB5 คือ เชื้อปริมาณน้อยใช้เวลาในการบำบัดสีย้อม RB5 นานขึ้น เนื่องจากปริมาณเชื้อราน้อยการผลิตเอนไซม์จึงน้อยลงด้วย และสีย้อมชนิดนี้เป็นสีย้อมที่ย่อยสลายได้ยาก ประกอบกับเป็นการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนจึงอาจมีประสิทธิภาพในการบำบัดไม่ดีเท่ากับสีย้อม RBBR ซึ่งสามารถย่อยสลายได้ดีกว่าในสถานะเดียวกัน

จากภาพที่ 15 (b) แสดงกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสในสถานะที่มีเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัมเปียก ในการลดความเข้มข้นสีย้อม RB5 โดย ชั่วโมงที่ 72 พบว่าราผลิตเอนไซม์แลคเคสได้สูงสุด เท่ากับ 167.10 UL⁻¹, 181.36 UL⁻¹ และ 102.83 UL⁻¹ ตามลำดับ และกิจกรรมของเอนไซม์จะค่อยๆ เพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างกับเอนไซม์แลคเคสในสถานะที่มี RBBR ที่จะสูงสุดในช่วงแรกและลดลงอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสในสถานะที่มี RBBR สูงกว่าในสถานะที่มีสีย้อม RB5 ประมาณ 5-6 เท่า ดังนั้นหากพิจารณาร้อยละการลดความเข้มข้นสีพบว่า ปริมาณเชื้อรา 1 กรัมเปียก กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสมีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญยิ่งที่ 99% ระหว่างชั่วโมงที่ 24 – 168 ปริมาณเชื้อรา 2 กรัมเปียก กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ 99% ระหว่างชั่วโมงที่ 12 – 144 และปริมาณเชื้อรา 3 กรัมเปียก พบว่ากิจกรรมเอนไซม์แลคเคสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ 99% ระหว่างชั่วโมงที่ 6 – 96 แสดงให้เห็นว่าการใช้ปริมาณเชื้อราเพิ่มขึ้นส่งผลให้การผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยสลายสีย้อมได้เร็วขึ้น ร้อยละการลดความเข้มข้นสีย้อมจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดในชั่วโมงที่ 48 จากกราฟแสดงให้เห็นว่าการลดความเข้มข้นสีย้อม RB5 เกิดขึ้นในระหว่างชั่วโมงที่ 24 และ 48 ของการทดลอง อาจเนื่องจากการสะสมของเอนไซม์ส่งผลให้การลดความเข้มข้นสีเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่อง แต่เมื่อใช้ปริมาณเชื้อรา 3 กรัมเปียก พบว่ากิจกรรมเอนไซม์แลคเคสน้อยกว่าในสถานะที่มีเชื้อรา 2 กรัมเปียก แต่ประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสีใกล้เคียงกัน คือ มีร้อยละ

ของการลดความเข้มข้นและเวลาที่ใกล้เคียงกัน จึงอาจกล่าวได้ว่าในสถานะที่มีปริมาณเชื้อรา 2 และ 3 กรัมเปียก ให้ประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 ได้ดีในระยะเวลาที่เท่ากัน แต่จากผลการทดลองครั้งนี้อาจมีปัจจัยในเรื่องการดูดซับเกี่ยวข้องด้วย เนื่องจากสีของ RB5 เกิดการย่อยสลายได้ดีในสถานะไร้ออกซิเจน ดังนั้นจากการย่อยสลายที่เกิดขึ้นช้า ส่งผลให้สีของ RB5 มีโอกาสถูกดูดซับไว้มากกว่าในเซลล์มากกว่าสีของ RBBR

จากภาพที่ 15 (c) พบว่า ใน 6 ชั่วโมงแรก ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในสถานะที่มีสีของ RB5 แต่หลังจากนั้นเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 จะเริ่มผลิตเอนไซม์และกิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสจะสูงที่สุดที่ชั่วโมง 72 ซึ่งเป็นช่วงเดียวกับค่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงที่สุดในสถานะที่มีสีของ RB5 โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส เท่ากับ 20.65 UL^{-1} , 26.46 UL^{-1} และ 26.81 UL^{-1} เมื่อใช้เชื้อราปริมาณ 1, 2 และ 3 กรัม ตามลำดับ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสของเชื้อรา 1 กรัมเปียก มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างชั่วโมงที่ 48 – 120 สำหรับปริมาณเชื้อรา 2 กรัมเปียก มีความแตกต่างกันอย่างทางสถิติของกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสระหว่างชั่วโมงที่ 12 – 96 และเชื้อรา 3 กรัมเปียก พบความแตกต่างทางสถิติของกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส ระหว่างชั่วโมงที่ 8 – 120 แสดงให้เห็นว่าปริมาณเชื้อราที่เพิ่มขึ้นทำให้การผลิตเอนไซม์เร็วขึ้น

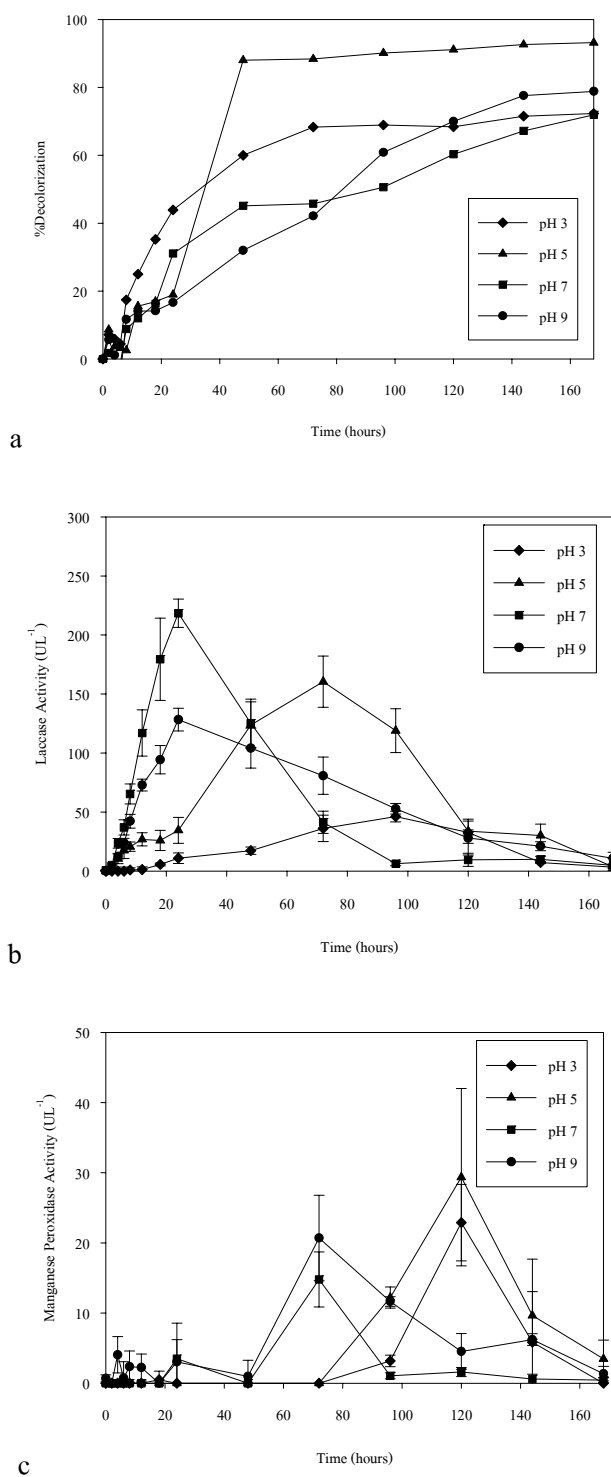
เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในสถานะที่มีสีของ RBBR และ RB5 พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในสถานะที่มีสีของ RBBR สูงกว่าในสถานะที่มีสีของ RB5 เช่นเดียวกับกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส ส่งผลให้ร้อยละของการลดความเข้มข้นสีของ RBBR เกิดขึ้นเร็วกว่าสีของ RB5 หากเปรียบเทียบปริมาณเชื้อราที่ใช้ในการลดความเข้มข้นสีพบว่าเชื้อรา 1 กรัมเปียก ให้กิจกรรมของเอนไซม์น้อยกว่าทั้งในสถานะที่มีสีของ RBBR และ RB5 ในขณะที่เชื้อรา 2 และ 3 กรัมเปียก ผลิตเอนไซม์ได้ใกล้เคียงกัน ซึ่งมีความสอดคล้องกับร้อยละการลดความเข้มข้นสีของ โดยปริมาณเชื้อรา 1 กรัมเปียก จะมีร้อยละการลดความเข้มข้นสีต่ำกว่าในสถานะที่มีเชื้อรา 2 และ 3 กรัมเปียก ที่เป็นเช่นนี้อาจเกิดจากเมื่อใช้ปริมาณเชื้อรามากขึ้น ความเข้มข้นสีของทั้ง RBBR และ RB5 เท่าเดิม จึงเห็นว่าปริมาณสับสเตรทคงที่ (chromophore) ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์จากเชื้อราได้ปริมาณหนึ่งเท่านั้น จะเห็นได้จากปริมาณเชื้อรา 2 และ 3 กรัมเปียก จะให้กิจกรรมของเอนไซม์ใกล้เคียงกัน ซึ่งแสดงว่าเชื้อรา 2 และ 3 กรัมเปียก ผลิตเอนไซม์ได้พอดีกับการย่อยสลายสับสเตรทซึ่งให้ผลต่างกับปริมาณ

เชื้อรา 1 กรัมเปียก ที่ให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุดในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 ที่กำหนดขึ้น ดังนั้นหากเพิ่มความเข้มข้นสีของ RB5 อาจทำให้เกิดการเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์จากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ได้มากขึ้น ดังนั้นจากการทดลองนี้การเลือกใช้ราปริมาณ 2 กรัมเปียก ในการศึกษาขั้นต่อไป เนื่องจากให้ผลการทดลองใกล้เคียงกับปริมาณเชื้อรา 3 กรัมเปียก

สังเกตได้ว่าปริมาณเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 2 และ 3 กรัมเปียก มีความสามารถในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 ใกล้เคียงกัน ณ เวลาเดียวกัน อาจเป็นเพราะโมเลกุลของสีของ RB5 เหนียวทำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ที่สมดุลกับปริมาณสับเซตรท เมื่อพิจารณาร้อยละการลดความเข้มข้นสีของปริมาณเชื้อรา 1 กรัมเปียกนั้น พบว่าต้องใช้เวลามากขึ้นในการลดความเข้มข้นสีให้ได้เท่ากับเมื่อใช้ปริมาณเชื้อรา 2 และ 3 กรัมเปียก Swamy and Ramsay (1999) กล่าวว่า สีของ RB5 ถูกย่อยสลายได้ยากหรือง่ายขึ้นอยู่กับความซับซ้อนของโครงสร้างสีของ RB5 ซึ่งการทำลายโครงสร้างพันธะอะโซ ยังต้องคำนึงถึงจำนวนและตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันในบริเวณวงแหวนอะโรมาติก ผลที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับพันธะอะโซ ร้อยละของฟีโนลิก อะมิโน 2-methoxyphenol หรือหมู่ฟังก์ชันอื่นๆ ซึ่งจะส่งผลต่อความยากง่ายต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ

3.2.3 การศึกษาอิทธิพลของ pH เริ่มต้นที่มีต่อประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 โดยเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในสภาวะควบคุม

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ปริมาณ 2 กรัมเปียก ในสารละลายสีของ RB5 600 mgL^{-1} กำหนดให้ pH เริ่มต้นเท่ากับ 3, 5, 7 และ 9 เพื่อศึกษาความสามารถของเชื้อราในการกำจัดสีของ RB5



ภาพที่ 16 ร้อยละการลดความเข้มสีของ RB5 (a) กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (b) และกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (c) ในสารละลายสีของ RB5 600 mgL⁻¹ ที่ pH เริ่มต้น เท่ากับ 3, 5, 7 และ 9 เป็นเวลา 168 ชั่วโมง

ภาพที่ 16 (a) แสดงให้เห็นว่าในสภาวะ pH เริ่มต้น เท่ากับ 5 เป็นสภาวะที่เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 มีความสามารถในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 ได้สูงสุดร้อยละ 93.81 และ ร้อยละของการลดความเข้มข้นสีจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจากชั่วโมงที่ 24 คือ 18.96 เป็น 88.01 ในชั่วโมงที่ 48 ส่วนในสภาวะ pH 9 เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 สามารถลดความเข้มข้นสีของ RB5 ได้ร้อยละ 78.83 จากกราฟแสดงให้เห็นว่า ร้อยละของการลดความเข้มข้นสีของ RB5 ที่ pH 9 จะค่อยๆ เพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างกับสภาวะ pH 5 ส่วนในสภาวะ pH 3 และ pH 7 ร้อยละของการลดความเข้มข้นสีของ RB5 ค่อยๆ เพิ่มขึ้น และจะสูงสุดเพียงร้อยละ 72.32 และ 71.94 ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 มีความสามารถในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 ได้ดีกว่าในสภาวะ pH 7 เช่น ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ที่ pH 3 มีร้อยละของการลดความเข้มข้นสีของ RB5 เท่ากับ 43.90 และ 59.99 ตามลำดับ ในขณะที่ pH 7 มีร้อยละของการลดความเข้มข้นสีของ RB5 เท่ากับ 31.07 และ 45.14 ตามลำดับ แต่เมื่อเวลาในการบำบัดครบ 168 ชั่วโมง ร้อยละของการลดความเข้มข้นสีของ RB5 มีค่าใกล้เคียงกัน

จากภาพที่ 16 (b) ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงสุด 218.46 UL^{-1} ในสภาวะ pH 7 ณ ชั่วโมงที่ 24 รองมาเป็นสภาวะ pH 9 ซึ่งตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส เท่ากับ 128.31 UL^{-1} ในขณะที่สภาวะ pH 5 ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงสุดเท่ากับ 160.46 UL^{-1} ในชั่วโมงที่ 72 และที่ pH 3 ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงสุดเพียง 46.24 UL^{-1} ใน ชั่วโมงที่ 96 เมื่อพิจารณาพร้อมกับร้อยละของการลดความเข้มข้นสีของ RB5 พบว่าในสภาวะ pH 7 ชั่วโมงที่ 24 ตรวจพบค่ากิจกรรมเอนไซม์แลคเคสสูงสุด เท่ากับ 218.46 UL^{-1} ขณะที่การลดความเข้มข้นสีของ RB5 เพิ่มขึ้นเพียงร้อยละ 31.07 ณ pH 5 ตรวจพบค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุดเท่ากับ 160.46 UL^{-1} แต่ให้การลดความเข้มข้นสีของ RB5 สูงถึงร้อยละ 88.38 แสดงให้เห็นว่าปริมาณเอนไซม์ที่เพิ่มสูงขึ้นไม่พบความสัมพันธ์กับร้อยละของการลดความเข้มข้นสีของ RB5 เนื่องจากสภาวะในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์กับสภาวะที่เหมาะสมในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 อาจไม่ใช่สภาวะเดียวกัน ดังนั้นในสภาวะ pH เริ่มต้นต่างกันอาจทำให้เกิดการเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์ได้มากกว่าการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์กับสับสเตรท (หรือการลดความเข้มข้นสีของ RB5 นั้นเอง) หรือค่า pH อาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสีของ RB5 ทำให้เกิดความไม่เหมาะสมกับการเข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์กับส่วนโครโมฟอร์ของสีได้

จากภาพที่ 16 (c) เห็นว่าช่วงแรกของทุกสภาวะการทดลองตรวจพบกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในสารละลายสีของ RB5 น้อยมาก แต่ในชั่วโมงที่ 72 เป็นต้นไปพบว่า pH 7 และ 9 มีกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเท่ากับ 14.79 UL^{-1} และ 20.70 UL^{-1}

ตามลำดับ จากนั้นปริมาณเอนไซม์จะเริ่มลดลง และที่ pH 3 และ 5 กิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 120 เท่ากับ 22.89 UL^{-1} และ 29.37 UL^{-1} ตามลำดับ เมื่อพิจารณาพร้อมกับกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส พบว่า กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเพิ่มขึ้นภายหลังจากที่กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสลดลงแล้ว คาดว่าในช่วงต้นของการทดลองร้อยละของการลดความเข้มข้นสีย้อมน่าจะเกิดขึ้นจากเอนไซม์แลคเคส แต่ในช่วงปลายของการทดลองร้อยละของการลดความเข้มข้นสีย้อม เกิดขึ้นจากเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส ดังนั้น การลดความเข้มข้นสีย้อม RB 5 เกิดขึ้นจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ 2 ชนิด คือ เอนไซม์แลคเคส และเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส

วิจารณ์

เมื่อเปรียบเทียบร้อยละการลดความเข้มข้นสีของ RBBR และ BR5 พบว่า เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 มีความสามารถในการลดความเข้มข้นสีของ RBBR ได้ดีกว่า RB5 เช่น ชั่วโมงที่ 24 RBBR ที่ความเข้มข้นสี 200 mgL⁻¹ เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 สามารถลดสีได้ถึงร้อยละ 97.16 ในขณะที่ RB5 มีการลดความเข้มข้นสีเพียงร้อยละ 47.45 เท่านั้น แต่หากใช้ความเข้มข้นสีเพิ่มขึ้นจะทำให้ความสามารถในการลดสีของลดลง เช่น ณ ชั่วโมงที่ 24 ที่ความเข้มข้นสี 1,000 mgL⁻¹ เชื้อรา KAPI0039 สามารถลดสีของ RBBR ได้ร้อยละ 96.05 ในขณะที่เชื้อราสามารถลดความเข้มข้นสีของ RB5 ได้เพียงร้อยละ 10.08 แต่การลดความเข้มข้นสีจะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 60 เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง และเมื่อเวลาผ่านไป 168 ชั่วโมง พบว่า มีการลดความเข้มข้นสีสูงสุดเพียงร้อยละ 89.34 ในขณะที่ประสิทธิภาพการลดความเข้มข้นสี RBBR ที่เวลา 168 ชั่วโมง สูงถึง ร้อยละ 98.87 ดังนั้น การลดความเข้มข้นสีของที่มีความเข้มข้นสีสูงจะต้องใช้ระยะเวลาในการบำบัดนานขึ้น เนื่องจากโครงสร้างสีที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ความสามารถในการลดความเข้มข้นสีของเชื้อราไม่เท่ากัน สอดคล้องกับการทดลองของ Maximo *et al.* (2004) ซึ่งใช้ราเส้นใยสีขาว *Irpex lacteus* ลดความเข้มข้นสีของ RBBR และ RB5 ที่ความเข้มข้นสี 100 mgL⁻¹ พบว่า *Irpex lacteus* สามารถลดความเข้มข้นสีของ RBBR ได้เร็วกว่า RB5 ที่ความเข้มข้นสี 100 mgL⁻¹ โดยชั่วโมงที่ 48 *I. lacteus* ลดความเข้มข้นสี RBBR ได้มากกว่าร้อยละ 90 ขณะที่สามารถลดความเข้มข้นสีของ RB5 ได้เพียงร้อยละ 35 และสามารถลดความเข้มข้นสี RB5 ได้ถึงร้อยละ 50 เมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง และเพิ่มเป็นร้อยละ 90 เมื่อเวลาผ่านไป 10 วัน ผลการเปรียบเทียบอัตราเร็วในการลดสีของ RBBR โดยใช้เชื้อราเส้นใยสีขาวชนิดอื่น ๆ พบว่า *Phanerochaete chrysosporium* สามารถลดความเข้มข้นสีได้ร้อยละ 83 ในวันที่ 10 และ *Bjerkandera* sp. BOSS5 สามารถลดความเข้มข้นสีได้ร้อยละ 65 ในวันที่ 20 สำหรับสีของ RB5 *Bjerkandera* sp. BOSS5 สามารถลดความเข้มข้นสีได้ในวันที่ 3 และ *Trametes versicolor* และ *Phlebia tremellosa* ใช้เวลานานกว่าในการลดความเข้มข้นสี สอดคล้องกับนักวิจัยกลุ่มหนึ่งพบว่าน้ำทิ้งที่มีความเข้มข้นของสีสูง อัตราเร็วในการกำจัดจะลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการทำลายโครโมฟอร์ของสีต้องใช้เอนไซม์ปริมาณหนึ่ง ดังนั้นเมื่อความเข้มข้นสีของน้ำทิ้งเพิ่มขึ้นจำนวนเอนไซม์ที่เข้าทำปฏิกิริยาต่อหนึ่งโมเลกุลของสีจะลดลงด้วย ความเร็วในการกำจัดสีจึงลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Pleurotus ostreatus* ในการกำจัดสีของประเภทอะโซชนิด disperse orange 3 ที่ความเข้มข้น 80 mgL⁻¹ พบว่าเชื้อราสามารถกำจัดสีได้เพียง 10 - 15 % ภายในเวลา 2 วัน (Zhao *et al.*, 2005) แสดงให้เห็นว่าสีของประเภทอะโซ

เป็นสื่อที่ยึดติดได้ยากโดยเชื้อรา เกิดจากลักษณะของโครงสร้างโมเลกุลของสื่อที่ซับซ้อนมากกว่าสื่อประเภทอื่น

เมื่อพิจารณากิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสพร้อมกับเอนไซม์แลคเคสในสถานะที่มีสื่อทั้ง 2 ประเภท พบว่าในช่วงที่กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสมีความผกผันกับกิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส เช่น ในสถานะที่มีสื่อ RBBR ณ ชั่วโมงที่ 16 พบว่าเป็นช่วงที่กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสสูงที่สุด ในขณะที่เดียวกัน ณ ชั่วโมงที่ 16 พบว่ากิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสลดลง จากผลการทดลองดังกล่าวอาจเป็นไปได้ว่าเอนไซม์ชนิดใดชนิดหนึ่งมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อีกชนิดหนึ่ง อย่างไรก็ตามทั้งสองเอนไซม์ทำงานร่วมกันเพื่อให้การลดสีเป็นไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งสอดคล้องกับ Maximo *et al.* (2004) ในการใช้เชื้อราเส้นใยสีขาว *Irpex lacteus* ลดความเข้มข้นสื่อ RBBR และ RB5 ที่ความเข้มข้นสื่อ 100 mgL^{-1} พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสสูงกว่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสตลอดการทดลอง แต่กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงที่สุดในวันที่ 9 และลดลงหลังจากนี้ ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเพิ่มสูงขึ้นหลังจากวันที่ 9 Kokol *et al.* (2007) ศึกษาการลดความเข้มข้นสื่อโดยใช้เชื้อรา *Ischnoderma resinosum* กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสสูงที่สุดในวันที่ 10 คือ 29.4 UL^{-1} และกิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส สูงสุดวันที่ 14 เท่ากับ 34.5 UL^{-1} Wesenberg *et al.* (2002) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตเอนไซม์แลคเคสและเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสจากเชื้อรา *Trametes versicolor* ในการลดความเข้มข้นสื่อในน้ำทิ้งซึ่งผสมกับ Kirk medium พบว่า ในอาหาร Kirk medium ที่ผสมกับน้ำทิ้ง 10% ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสค่อยๆ เพิ่มขึ้นตั้งแต่วันแรกของการทดลอง และเพิ่มสูงสุดในวันที่ 11 ในขณะที่ตรวจพบเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในวันที่ 7 ของการทดลอง ในทางตรงกันข้ามเมื่อศึกษากิจกรรมเอนไซม์ในอาหาร Kirk medium ที่ผสมกับน้ำทิ้ง 33% ตรวจพบเอนไซม์แลคเคสในวันที่ 7 ของการทดลองและค่อยๆ เพิ่มขึ้น แต่พบเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในวันที่ 3 ของการทดลองและค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนกระทั่งวันที่ 11 ของการทดลอง นอกจากนี้ Wong and Yu (1999) ซึ่งศึกษาการบำบัดสื่อ 3 ชนิดคือ สื่อแอนทราควิโนน สื่ออะโซ และสื่ออินดิโกอยด์ โดยใช้เชื้อรา *Trametes versicolor* พบว่ากลไกการบำบัดสื่อทั้ง 3 ชนิดเกิดจากการทำงานของเอนไซม์แลคเคส โดยเอนไซม์แลคเคสจะถูกสร้างภายใต้สถานะการเจริญเติบโตที่คงที่ อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพการบำบัดสื่อทั้ง 3 ชนิดมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับโครงสร้างของสื่อ โดยสื่อแอนทราควิโนนถือเป็นสับสเตรทโดยตรงของเอนไซม์แลคเคส ในขณะที่สื่ออะโซ และสื่ออินดิโกอยด์มีข้อจำกัดในการลดความเข้มข้นสื่อ ซึ่งอัตราเร็วเริ่มต้นในการลดความเข้มข้นสื่อไม่ได้สัดส่วนกับกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส สามารถ

อธิบายได้ว่าอาจมีเอนไซม์แลคเคสจากเชื้อราสายพันธุ์อื่นที่สามารถทำหน้าที่ลดความเข้มข้นสีของทั้ง 2 ชนิดนี้ได้ดีกว่าเอนไซม์แลคเคสที่ผลิตจาก *Trametes versicolor* กล่าวว่าสีของทั้ง 2 ชนิดไม่ได้เป็นสับสเตรทโดยตรงของเอนไซม์แลคเคส ดังนั้นการบำบัดสีของทั้ง 2 ชนิดหลังนี้จึงต้องอาศัยตัวกลางในการถ่ายเทอิเล็กตรอนในการช่วยทำปฏิกิริยา และยังพบว่าอัตราการบำบัดสีของดังกล่าวขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตัวกลางในการถ่ายเทอิเล็กตรอน มากกว่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส

เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสในสภาวะที่มีสีของ RBBR และ RB5 ในสภาวะ pH เริ่มต้นต่างกัน พบความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์แลคเคสอย่างเห็นได้ชัดเจน ซึ่งเป็นการสนับสนุนว่าสีของ RBBR สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์แลคเคสได้ดีกว่า RB5 และ pH เริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์และการทำงานของเอนไซม์ในสภาวะที่มีสีของทั้ง 2 ประเภทก็แตกต่างกัน ผลการทดลองสนับสนุนว่าสีของ RBBR เหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์แลคเคสจากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ได้ดีกว่าสีของ RB5 จากการทดลองเรื่องความเข้มข้นสีของกับปริมาณเอนไซม์พบว่า แลคเคสเป็นเอนไซม์หลักในการย่อยสลายสีของทั้ง 2 ชนิดตรงกันข้ามกับเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในสภาวะที่มีสีของสังเคราะห์ทั้ง 2 ประเภทที่แสดงให้เห็นว่ามีกิจกรรมน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบความสามารถของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีของ RBBR และ RB5 ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 3, 5, 7 และ 9 พบว่าเชื้อรามีความสามารถในการลดความเข้มข้นสีของทั้งคู่ แต่สามารถย่อยสลายสีของ RBBR ได้ดีกว่า RB5 ซึ่งสังเกตได้จากร้อยละการลดความเข้มข้นสีของ RBBR ที่มีค่าสูงกว่า RB5 เมื่อพิจารณาค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการลดความเข้มข้นสีของ RBBR คือในสภาวะที่มีค่า pH ประมาณ 7 และ 9 ในขณะที่ pH เริ่มต้นเหมาะสมต่อการลดความเข้มข้นสีของ RB5 คือ pH 5 แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของความสามารถของราในการลดความเข้มข้นสีของทั้ง 2 ชนิด เนื่องจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน (H^+) เอนไซม์ส่วนใหญ่จะเร่งปฏิกิริยาที่ pH ช่วง 4 - 10 หาก pH ต่ำหรือสูงกว่านี้จะทำให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติไป จึงไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ โดยทั่วไปเอนไซม์จะทำงานได้ดีใน pH ช่วงหนึ่ง การเปลี่ยนแปลง pH จึงมีผลต่อการแตกตัวของกรดอะมิโนที่อยู่บริเวณแอคทีฟของเอนไซม์ (พัชรา, 2541) นอกจากนี้ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสีของในสภาวะ pH ต่างๆ ทำให้ประสิทธิภาพในการลดสีของต่ำลง

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในการกำจัดสีย้อม 2 ชนิด คือ RBBR และ RB5 ในสภาวะควบคุม พบว่าเชื้อรามีความสามารถในการลดความเข้มข้นสีย้อมได้ทั้ง 2 ชนิด แต่ให้ประสิทธิภาพการลดความเข้มข้นสีย้อม RBBR ซึ่งมีโครงสร้างโครโมฟอร์ประเภทแอนทราควิโนนได้ดีกว่าสีย้อม RB5 ซึ่งเป็นโครงสร้างอะโซ โดยเราสามารถลดความเข้มข้นสีย้อม RBBR ได้ดีที่สุดร้อยละ 96.05 ที่ความเข้มข้นสีย้อม $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ขณะที่ลดความเข้มข้นสีย้อม RB5 ได้เพียงเล็กน้อยในระยะเวลาเท่ากัน และพบว่าประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสีย้อมเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบำบัดระยะเวลานานขึ้น การลดความเข้มข้นสีย้อมทั้ง 2 ชนิด มีความแตกต่างกันเนื่องจากโครงสร้างของสีย้อมจึงมีผลต่อการสร้างและการทำงานของเอนไซม์แลคเคสและเมังกานีสเปอร์ออกซิเดส เมื่อพิจารณาร้อยละการลดความเข้มข้นสีย้อมร่วมกับปริมาณเอนไซม์ที่ผลิต พบว่าในสภาวะที่มีสีย้อม RBBR ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสและเมังกานีสเปอร์ออกซิเดส สอดคล้องกับร้อยละการลดความเข้มข้นสีย้อม แต่ตรงกันข้ามกับสภาวะที่มีสีย้อม RB5 ซึ่งตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสและเมังกานีสเปอร์ออกซิเดส ในระดับต่ำ กล่าวได้ว่าสีย้อมโครงสร้างแอนทราควิโนนมีความเป็นพิษต่อเชื้อราน้อย และสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการผลิตเอนไซม์จากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ได้ดีกว่า อีกทั้งเอนไซม์ยังมีความจำเพาะเจาะจง (specificity) ต่อการลดความเข้มข้นสีย้อม RBBR มากกว่าสีย้อม RB5

จากการศึกษาปริมาณเชื้อราที่มีผลต่อการย่อยสลายสีย้อมพบว่า เมื่อปริมาณเชื้อราเพิ่มขึ้น ร้อยละการลดความเข้มข้นสีย้อม RBBR จะเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับการผลิตเอนไซม์แลคเคสและเมังกานีสเปอร์ออกซิเดส ในกรณีนี้เลือกใช้ปริมาณเชื้อรา 2 กรัมเปือก ในการลดความเข้มข้นสีย้อม เนื่องจากเชื้อรา 2 และ 3 กรัมเปือกสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการผลิตเอนไซม์ได้มาก ในขณะที่ร้อยละการลดความเข้มข้นสีย้อมใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาร่วมกับกิจกรรมเอนไซม์แลคเคสและเมังกานีสเปอร์ออกซิเดส พบว่า เอนไซม์จะถูกผลิตมากขึ้นเมื่อเชื้อราปริมาณมากขึ้น

จากการศึกษา pH เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายสีย้อม RBBR พบว่าในสภาวะ pH 3 เชื้อราสามารถลดความเข้มข้นสีย้อมได้น้อยที่สุด คือ ร้อยละ 51.51 ในขณะที่ pH 5, 7 และ 9 มีประสิทธิภาพสูงใกล้เคียงกันที่ 24 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสีย้อมร้อยละ 95.86,

95.88 และ 95.41 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาร่วมกับปริมาณเอนไซม์แลคเคสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสมีแนวโน้มเช่นเดียวกัน

จากผลการทดลองข้างต้นสรุปได้ว่าเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 สามารถลดความเข้มข้นสีย้อม RBBR ได้ดีกว่าสีย้อม RB5 โดยมีเอนไซม์แลคเคสเป็นเอนไซม์หลักในการย่อยสลาย และสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการลดความเข้มข้นสีทั้งสอง คือ การใช้ปริมาณเชื้อรา 2 กรัมเปียกในสภาวะ pH 5

ข้อเสนอแนะ

ควรทำการศึกษาในสภาวะที่มีการผสมของสีย้อมมากกว่าหนึ่งชนิด เนื่องจากในสภาพจริงน้ำเสียจากโรงงานอาจมีสีย้อมหลายชนิดปะปนอยู่ และควรทำการศึกษาโดยใช้สีย้อมจากโรงงานเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการลดความเข้มข้นสีย้อมที่แท้จริงของเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 และยังเป็นการศึกษาอิทธิพลของสารปนเปื้อนอื่นในน้ำทิ้งสีย้อมว่ามีผลต่อความสามารถในการลดความเข้มข้นสีย้อมของเชื้อราดังกล่าวหรือไม่ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาระบบบำบัดให้มีความเหมาะสมในการใช้งานมากขึ้น

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมโรงงานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2542. คู่มือผู้ควบคุมและผู้ปฏิบัติงานระบบ
บำบัดมลพิษโรงงาน. ม.ป.ท., กรุงเทพฯ.

กาวิ ศรีกุลกิจ. 2545. หลักการข้อมลสิ่งทอ. ภาควิชาวัสดุศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์,
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

กาญจนา เสดิมผล. 2539. การเสื่อมสภาพของสีเอโซในน้ำโดยใช้แสงร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยา.
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

โกมล เอี่ยมเสมอ. 2541. ประสิทธิภาพในการกำจัดสีของสีย้อมรีแอทีฟชนิดอาโซโดยกระบวนการ
เอสปีอาร์แบบแอนแอโรบิก-แอโรบิกซึ่งไม่มีสารอาหารที่ส่งเสริมกระบวนการอีปีอาร์.
ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม, คณะวิศวกรรมศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ขนิษฐา เจริญลาภ และ พริยะ แก่นทับทิม. 2546. การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการ
กำจัดสีจากโรงงานฟอกย้อมโดยระบบตะกอนเร่งและระบบตกตะกอนทางเคมี. วารสาร
คัลเลอร์เวย์. 48: 43-48

จิรวาท เจตต์จันทร์, อรชิรา เพ็ชรชัย, พิลาณี ไฉนอมสัจย์, วราภรณ์ อภิวัฒนาภักดิ์,
ต่อพงศ์ กริทธาชาติ และสาวิตรี จันทรานุกรักษ์. 2552. การลดสีน้ำทิ้งที่มีลักษณะเป็น
ส่วนประกอบโดยเชื้อราเส้นใยสีขาว *Datronia* sp. KAPI0039. น. 236-244. ใน การประชุม
ทางวิชาการ ครั้งที่ 47 (สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม).
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

จินตนา จุลอุล. 2550. การเตรียมตัวดูดซับจากผักตบชวาในการกำจัดสีย้อมไคเร็กซ์จากน้ำทิ้ง
โรงงานฟอกย้อมสิ่งทอ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทิยา ยานเมศ. 2539. ความเป็นพิษและมลพิษของสีย้อมและสารเคมีในอุตสาหกรรมสิ่งทอ.
วารสารคัลเลอร์เวย์. 6: 31.

นิพนธ์ ตั้งคณานุรักษ์ และคณิตา ตั้งคณานุรักษ์. 2550. หลักการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พัชรา วีระกะลัส. 2541. เอนไซม์. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

พิมพ์ชนก เต็งเจริญ. 2546. การกำจัดสีของน้ำทิ้งในการผลิตลิกนินโดยราไวต์รอต. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วุฒินันท์ ศิริพงศ์. 2544. การบำบัดน้ำทิ้งจากสีย้อมผ้าด้วยกระบวนการโฟโตออกซิเดชันโดยใช้ไทเทเนียมไดออกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมาคมวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย. 2544. คู่มือการบำบัดน้ำเสียโรงงานทอผ้าและฟอกย้อม. กรุงเทพฯ.

สำนักเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมไทย กรมโรงงานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2542. คู่มือการจัดการสิ่งแวดล้อมฟอกย้อม. กรุงเทพฯ.

อดิศักดิ์ อัญชลิสังกาศ. 2546. การบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมสิ่งทอโดยการกรองด้วยทรายและการดูดซับด้วยซีเมนต์แกลบดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อภิชาติ สนธิสมบัติ. 2545. กระบวนการทางเคมีสิ่งทอ. ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ.

อังคณา อมรศรี. 2544. แนวทางของ ETAD ในการติดตามเพื่อป้องกันอันตรายจากสีรีแอคทีฟ. วารสารคัลเลอร์เวย์. 33: 18-19.

Aksu, Z., NK. Kilic, S. Ertugrul and G. Donmez. 2007. Inhibitory effects of chromium(VI) and Remazol Black B on chromium(VI) and dyestuff removals by *Trametes versicolor*. *Enzyme Microb Technol.* 40: 1167–74.

- Apiwattanapiwat, W., P. Siriacha, and P. Vaithanomsat. 2006. Screening of Fungi for Decolorization of Wastewater from Pulp and Paper Industry. **Kasetsart J. Nat. Sci.** 40: 215 – 221.
- Baldrian, P. and J. Snajdr. 2006. Production of ligninolytic enzymes by litter-decomposing fungi and their ability to decolorize synthetic dyes. **Enzyme Microb Technol.** 39: 1023-1029.
- Hsueh, C.-C., B.-Y. Chen and C.-Y. Yen. 2009. Understanding effects of chemical structure on azo dye decolorization characteristics by *Aeromonas hydrophila*. **J. Hazard. Mater.** *In Press*, Accepted Manuscript, Available online 21 May 2009.
- Castillo, M.D.P., J. Stenstrom and P. Ander. 1994. Determination of manganese peroxidase activity with 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone and 3-(dimethylamino)benzoic acid. **Anal Biochem.** 218: 399-404.
- Chagas, E and LR. Durrant. 2001. Decolorization of azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus sajorcaju*. **Enzyme Microb. Technol.** 29: 473– 7.
- Deveci, T., A. Unyayar and M.A. Mazmanci. 2004. Production of Remazol Brilliant Blue R decolourising oxygenase from the culture filtrate of *Funalia troglia* ATCC 200800. **J. Mol. Catal. B: Enzyme.** 30: 25-32.
- Dirk, W., K. Irene and N.A. Spiros. 2003. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluence. **Biotechnol Adv.** 22: 161–187.
- D'Souza, D. T., R. Tiwari, A. K. Sah and C. Raghukumar. 2005. Enhanced production of laccase by a marine fungus during treatment of colored effluents and synthetic dyes. **Enzyme Microb. Technol.** 38: 504-511.

- Eggert, C., U. Temp and K.E.L. Eriksson. 1996. The ligninolytic system of the white rot fungus *Pycnoporus cinnabarius*: purification and characterization of the laccase. **Appl. Environ. Microbiol.** 62: 1151-1158.
- Eggen, T. and A. Majcherezyk. 1998. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) in contaminated soil by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. **Int. Biodeterior Biodegradation.** 41: 111-117.
- Eichlerova, I., L. Homolka, L. Lisa and F. Nerud. 2005. Orange G and Remazol Brilliant Blue R decolorization by white rot fungi *Dichomitus squalens*, *Ischnoderma resinosum* and *Pleurotus calyptratus*. **Chemosphere.** 60: 398–404.
- Glenn, J.K. and H.M. Gold. 1983. Decolorisation of several polymeric dyes by the lignin degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. **Appl. Environ. Microbiol.** 45: 1741–4.
- Hardin, I.R., H. Cao and S.S. Wilson. 2000. Decolorization of textile wastewater by selective fungi. **TCCE & ADR.** 32 (11): 38-42.
- Hatakka, A. 1994. Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi production and role in lignin degradation. **FEMS Microbiol.** 13: 125–35.
- Joshi, M. and R. Purwar. 2004. Developments in new processes for colour removal from effluent. **Rev. Prog. Color.** 34: 58-71.
- Kokol, V., A. Doliska, I. Eichlerova, and P. Baldrian. 2007. Frantisek Nerud Decolorization of textile dyes by whole cultures of *Ischnoderma resinosum* and by purified laccase and Mn-peroxidase. **Enzyme Microb. Technol.** 40: 1673–1677.

- Kuwahara, M., J.K. Glenn, M. Morgan and M.H. Gold. 1984. Separation and characterization of two extracellular H_2O_2 -dependent peroxidase from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. **FEBS letters**. 169: 247-250.
- Maximo, C. and M. Costa-Ferreira. 2004. Decolourisation of reactive textile dyes by *Irpex lacteus* and lignin modifying enzymes. **Process Biochem**. 39: 1475–1479.
- Mechichi, T., N. Mhiri and S. Sayadi. 2006. Remazol Brilliant Blue R decolourization by the laccase from *Trametes trogii*. **Chemosphere**. 64: 998–1005.
- Moraes, S., G. Freire R. S. and N. Duran. 2000. Degradation and toxicity reduction of textile effluent by combined photocatalytic and ozonation processes. **Chemosphere**. 40: 369-373.
- Novotny, C., K. Svobodova, A. Kasinath. and P. Erbanova. 2004. Biodegradation of synthetic dyes by *Irpex lacteus* under various growth conditions. **Int. Biodet. Biodegrad**. 54: 215–223.
- Ollikka, P., K. Alhonmaki., V. M. Leppanen., T. Glumoff., T. Rajola and I. Suominen. 1993. Decolorization of azo, triphenyl methane, heterocyclic, and polymeric dyes by lignin peroxidase isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*. **Appl. Environ. Microbiol**. 59: 4010-4016.
- Pearce, C. I., J. R. Lloyd and J. T. Guthrie. 2003. The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. **Dyes and Pigments**. 58: 179-196.
- Prieto, O., J. Feroso, Y. Nunez, J.L. del Valle and R. Irusta. 2005. Decolouration of textile dyes in wastewaters by photocatalysis with TiO_2 . **Solar Energy**. 79: 376-383.
- Robinson, T., B. Chandran and P. Nigam. 2001. Studies on the production of enzymes by white rot fungi for the decolorization of textile dyes. **Enzyme Microb. Technol**. 29: 575-579.

- Swamy, J. and J. A. Ramsay. 1999. The evaluation of white rot fungi in the decoloration of textile dyes. **Enzyme Micro. Technol.** 24: 130–137.
- Tien, M. and T.K. Kirk. 1984. Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization, and catalytic properties of a unique H₂O₂-requiring oxygenase. **Process of Nat Acadmic Sci.** 81: 2280-2284.
- Wesenberg, D., F. Buchon and S.N. Agathos. 2002. Degradation of dye-containing textile effluent by the agaric white-rot fungus *Clitocybula dusenii*. **Biotechnol Lett.** 24: 989–93.
- Wesenberg, D., I. Kyriakides and S.N. Agathos. 2003. White-rot fungi and their enzymes for The treatment of industrial dye effluents. **Biotechnol Advances.** 22: 161-187.
- Wong, Y. and J. Yu. 1999. Laccase-catalyzed decolorization of synthetic dyes. **Water Res.** 33: 3512-3520.
- Zhao, X., R. Hardin and H.M. Hwang. 2005. Biodegradation of a model azo disperse dye by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. **Int. Biodet. Biodegrad.** 51: 45-56.

ภาคผนวก

อาหารเลี้ยงเชื้อรา

1. Potato Dextrose Agar (PDA)

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นำมันฝรั่งมาปอกเปลือกล้างให้สะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ต้มให้เดือดในน้ำ 20 นาที กรองเอากากออกปรับค่า pH ให้เท่ากับ 7.0 เติมน้ำตาลกลูโคสและวุ้น ละลายส่วนผสมทั้งหมด เติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. Potato-Dextrose Broth (PDB)

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาลกลูโคส	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นำมันฝรั่งมาปอกเปลือกล้างให้สะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ต้มให้เดือดในน้ำกลั่น 20 นาที กรองเอากากออกปรับค่า pH ให้เท่ากับ 7.0 เติมน้ำตาลกลูโคส ละลายส่วนผสมทั้งหมด เติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. Glucose Yeast Extract (GYE) (Apiwattanapiwat, 2006)

น้ำตาลกลูโคส	10	กรัม
Yeast Extract	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. Minimal Medium (Apiwattanapiwat, 2006)

น้ำตาลกลูโคส	10	กรัม
NH_4NO_3	1.75	กรัม
K_2HPO_4	1	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	กรัม
KCl	0.5	กรัม
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สารเคมี

1. สีข้อม

สีข้อม RBBR และ RB5 ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท DyStar Thai Ltd.

2. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์

2.1 เอนไซม์แลคเคส

2.1.1 สารละลาย ABTS (2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt) ความเข้มข้น 0.588 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดย ชั่งสาร ABTS จำนวน 0.0806 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 มิลลิลิตร

2.1.2 สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ พีเอช 4.5 ความเข้มข้น 1 โมลาร์

เตรียมจากการผสมสารละลายกรดอะซิติก และสารละลายโซเดียมอะซิเตตเข้าด้วยกันในอัตราส่วนที่เหมาะสมตามค่าพีเอชที่ต้องการ ปิเปตกรดอะซิติกเข้มข้น (CH_3COOH) จำนวน 57.21 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่น คนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร ชั่งโซเดียมอะซิเตต (CH_3COONa) จำนวน 82.03 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น คนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร

2.2 แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส

2.2.1 MBTH (3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone) 0.28 มิลลิโมลาร์

เตรียมจาก MBTH 0.0164 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 ml

2.2.2 DMAB (3-(dimethylamino)benzoic acid) ความเข้มข้น 4.95 มิลลิโมลาร์

เตรียมจาก DMAB จำนวน 0.2044 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 มิลลิลิตร

2.2.3 สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ พีเอช 4.5 ความเข้มข้น 1 โมลาร์

เตรียมเช่นเดียวกับ 2.2.2

2.2.4 สารละลายแมงกานีสซัลเฟต ความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลาร์

เตรียมจากแมงกานีสซัลเฟต ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) จำนวน 0.065 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 มิลลิลิตร

2.2.5 สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดย ปิเปตสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้น 30% ปริมาตร 6.38 ไมโครลิตร ลงในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 มิลลิลิตร

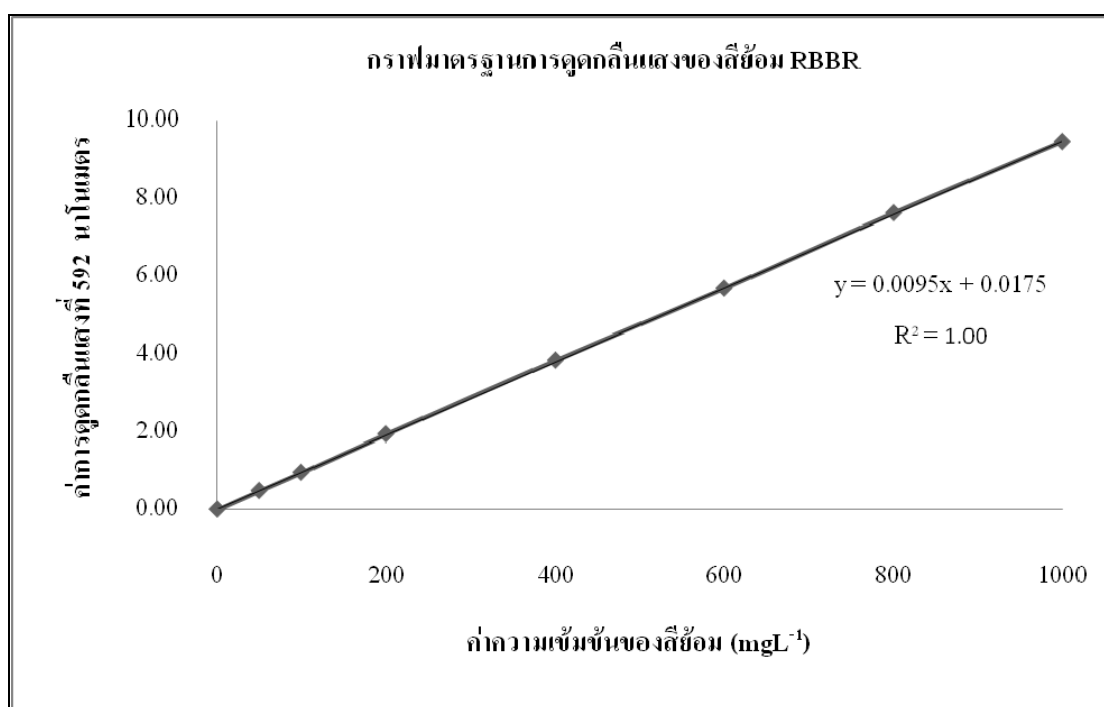
ข้อมูลจากการทดลอง

การเตรียมกราฟมาตรฐานสีย้อม

ละลายสีย้อม 1 กรัมในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร สารละลายสีย้อม Remazol brilliant blue R (RBBR) และ Reactive Black 5 (RB5) ความเข้มข้น $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นของสีย้อมเท่ากับ $50\text{-}1000 \text{ mgL}^{-1}$ วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 592 นาโนเมตร สำหรับสีย้อม RBBR และ 595.5 นาโนเมตร สำหรับสีย้อม RB5 แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าความเข้มข้นของสีย้อม

ตารางผนวกที่ 1 ข้อมูลการเทียบมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสีย้อม Remazol Brilliant Blue R (RBBR)

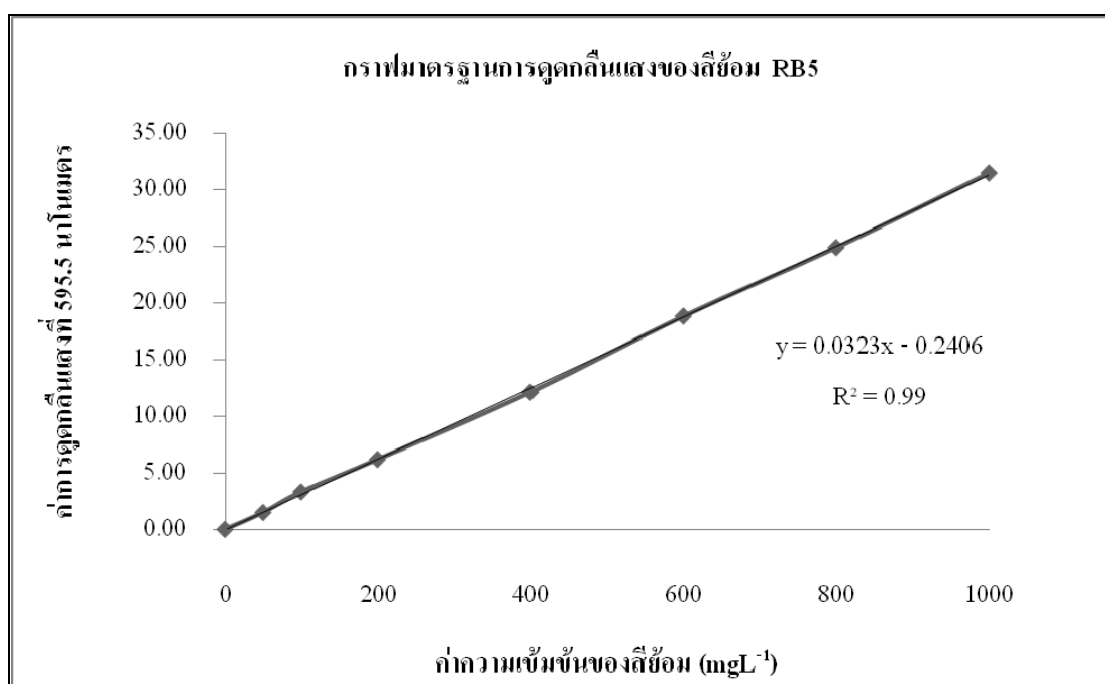
ความเข้มข้นสีย้อม (mgL^{-1})	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 592 นาโนเมตร
50	0.48
100	0.95
200	1.93
400	3.84
600	5.68
800	7.61
1,000	9.45



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสีย้อม RBBR

ตารางผนวกที่ 2 ข้อมูลการเทียบมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสีย้อม
Reactive Black 5 (RB5)

ความเข้มข้นสีย้อม (mgL^{-1})	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 595.5 นาโนเมตร
50	1.5
100	3.33
200	6.20
400	12.12
600	18.82
800	24.89
1,000	31.45



ภาพผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นสีย้อม RB5

ตารางผนวกที่ 3 ร้อยละการลดความเข้มข้น RBBR 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹

เวลา (ชั่วโมง)	ร้อยละการลดความเข้มข้น				
	200 mgL ⁻¹	400 mgL ⁻¹	600 mgL ⁻¹	800 mgL ⁻¹	1,000 mgL ⁻¹
0	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
2	36.92a	38.82a	40.92a	26.52a	23.13a
4	61.17a	64.26a	70.24a	67.81a	59.66a
8	66.67a	79.88a	83.43a	87.92a	88.84a
16	96.89a	96.05a	95.97a	96.34a	95.55a
24	97.16a	95.93a	96.81a	96.23a	96.05a
48	99.50a	97.96a	97.45a	96.70a	96.49a
72	99.89a	97.85a	97.57a	97.17a	96.98a
96	99.59a	99.68a	98.44a	98.05a	97.79a
120	98.69a	99.52a	99.14a	98.90a	98.41a
144	97.93a	99.34a	99.47a	98.56a	98.69a
168	94.71a	98.56a	99.54a	99.22a	98.87a
C.V = 29.8 %					
F-test = ns					

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 4 กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสจากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในการลด
ความเข้มข้นสีของ RBBR 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (UL ⁻¹)				
	200 mgL ⁻¹	400 mgL ⁻¹	600 mgL ⁻¹	800 mgL ⁻¹	1,000 mgL ⁻¹
0	10.86a	10.95a	14.05a	5.87a	6.41a
2	42.13a	49.03a	60.32a	34.91a	38.68a
4	55.26a	67.63a	86.80b	55.77a	69.87a
8	73.47a	113.45b	144.31b	136.76b	173.51a
16	151.86b	425.63b	719.11b	724.61b	759.81a
24	32.85a	210.21b	329.04b	225.73b	306.41b
48	1.26a	39.58a	207.41b	64.58a	97.69b
72	14.17a	16.02a	31.38a	43.14a	75.72b
96	34.74a	26.28a	28.70a	22.33a	66.25a
120	27.55a	5.42a	10.93a	0.00a	0.00a
144	24.73a	0.79a	0.00a	0.00a	0.00a
168	3.21a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
C.V = 59 %					
F-test = *					

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความ
เชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 5 กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส จากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039
ในการลดความเข้มข้นสีของ RBBR 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (UL ⁻¹)				
	200 mgL ⁻¹	400 mgL ⁻¹	600 mgL ⁻¹	800 mgL ⁻¹	1,000 mgL ⁻¹
0	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
2	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
4	3.35a	2.76a	2.37a	2.07a	0.72a
8	9.09a	8.68a	8.56a	10.40a	10.67a
16	1.39a	2.96a	4.55a	4.97a	5.61a
24	14.86a	15.18a	16.50a	15.17a	14.95a
48	7.37a	8.72a	2.14a	1.96a	1.74a
72	1.66a	2.64a	5.72a	2.42a	0.26a
96	2.33a	2.85a	3.03a	1.50a	0.99a
120	4.48a	0.00a	0.21a	0.00a	0.00a
144	4.65a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
168	6.29a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
C.V = 55.4 %					
F-test = ns					

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 6 ร้อยละการลดความเข้มข้น RBBR 1,000 mgL⁻¹ โดยใช้เชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 1, 2 และ 3 กรัมต่อสารละลายสีย้อม 100 มิลลิลิตร

เวลา (ชั่วโมง)	ร้อยละการลดความเข้มข้น		
	1 กรัม	2 กรัม	3 กรัม
0	0.00a	0.00a	0.00a
2	4.70a	3.54a	7.91a
4	17.30a	26.10a	42.97a
6	54.04a	62.41a	72.98a
8	82.96b	90.23b	94.76b
12	95.03b	95.48b	95.80b
18	95.57b	96.07b	96.15b
24	96.00b	96.20b	96.44b
48	96.13b	96.47b	96.85b
72	96.39b	96.72b	96.89b
96	96.53b	97.00b	97.22b
120	96.62b	97.15b	97.46b
144	96.55b	97.21b	97.30b
168	96.61b	97.22b	96.97b
C.V = 5.6 %			
F-test = *			

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 7 กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส จากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 1, 2 และ 3
กรัมต่อสารละลายซีรัม 100 มิลลิลิตร

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (UL ⁻¹)		
	1 กรัม	2 กรัม	3 กรัม
0	0.80a	2.63a	2.93a
2	4.71a	16.64a	28.54a
4	17.96a	37.59a	69.80a
6	48.13a	69.78a	148.54a
8	77.29a	130.11a	373.06a
12	246.58b	453.79a	622.04a
18	615.22b	1098.31b	1107.60b
24	862.14b	1169.67b	1125.16b
48	32.44a	80.84b	57.19a
72	26.76a	91.10a	41.89a
96	19.81a	67.12a	41.74a
120	17.15a	62.56a	63.34a
144	4.40a	22.20a	14.06a
168	2.87a	14.73a	64.97a

C.V = 13 %

F-test = *

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 8 กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส จากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039
1, 2 และ 3 กรัมต่อสารละลายสีข้อม 100 มิลลิลิตร

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (UL ⁻¹)		
	1 กรัม	2 กรัม	3 กรัม
0	1.05a	2.13a	1.35a
2	1.67a	4.71a	3.79a
4	2.49a	22.59a	60.29b
6	7.30a	13.61a	19.87a
8	15.79a	29.81a	43.31b
12	32.33b	59.49a	85.41b
18	97.85b	166.68b	219.29b
24	148.50b	191.18b	263.57b
48	22.56a	63.66b	188.70b
72	2.49a	22.59a	57.90b
96	1.76a	9.96a	23.56a
120	0.92a	3.84a	3.76a
144	2.28a	4.04a	15.12a
168	0.65a	1.75a	7.28a
C.V = 33.1 %			
F-test = *			

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 9 ร้อยละการลดความเข้มข้น RBBR 1,000 mgL⁻¹ โดยใช้เชื้อรา 2 กรัมต่อสารละลายสีย้อม 100 มิลลิลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9

เวลา (ชั่วโมง)	ร้อยละการลดความเข้มข้น			
	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9
0	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
2	0.87a	3.98a	4.42a	5.34a
4	2.15a	31.95a	18.76a	13.77a
6	8.53a	58.22a	38.56a	21.47a
8	3.42a	81.26b	55.06b	26.61a
12	13.59a	95.11b	88.07b	44.83a
18	30.33a	96.10b	96.12b	89.33b
24	51.51a	95.86b	95.88b	95.41b
48	72.87b	96.29b	97.08b	97.16b
72	81.94b	91.68b	92.92b	90.89b
96	82.62b	96.79b	96.80b	94.79b
120	84.78b	96.95b	96.97b	94.70b
144	84.91b	97.43b	97.45b	95.28b
168	84.56b	97.51b	97.52b	96.26b
C.V = 7.6 %				
F-test = *				

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 10 กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสจากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีของ RBBR $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ โดยใช้เชื้อรา 2 กรัมต่อสารละลายสี 100 มิลลิลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (UL^{-1})			
	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9
0	1.02a	0.84a	1.13a	2.67a
2	0.59a	5.08a	7.79a	26.26a
4	1.13a	19.06a	27.46a	47.98a
6	0.40a	26.23a	40.22a	56.61a
8	0.76a	64.37a	80.36b	84.17b
12	1.69a	215.64b	181.09b	168.48b
18	1.98a	461.06b	502.10b	377.75b
24	5.87a	195.45b	1,148.66b	749.09b
48	10.35a	20.39a	1,521.42b	1,620.38b
72	3.51a	19.61a	782.81b	815.47b
96	3.15a	24.01a	355.33b	687.42b
120	2.11a	11.60a	303.56b	465.85b
144	0.42a	4.57a	122.28b	359.61b
168	1.65a	4.04a	32.88a	231.63b
C.V = 23.4 %				
F-test = *				

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 11 กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสจากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีของ RBBR 1,000 mgL⁻¹ โดยใช้เชื้อรา 2 กรัมต่อสารละลายสี 100 มิลลิลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (UL ⁻¹)			
	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9
0	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
2	0.00a	1.43a	1.71a	1.52a
4	1.65a	5.12a	4.15a	5.49a
6	8.18a	7.15a	8.50a	5.54a
8	8.09a	7.65a	4.13a	1.51a
12	0.00a	38.73a	20.52a	10.63a
18	0.00a	59.26a	57.30a	18.82a
24	0.00a	38.27a	130.02c	65.11a
48	0.00a	5.72a	312.54c	262.73c
72	0.09a	7.87a	218.68c	126.50c
96	0.98a	1.92a	239.43c	109.89c
120	0.21a	0.26a	221.71c	94.87c
144	0.00a	0.40a	228.25c	90.57c
168	0.00a	0.00a	198.93c	31.08c
C.V = 29.1 %				
F-test = *				

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 12 ร้อยละการลดความเข้มสีย้อม RB5 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹

เวลา (ชั่วโมง)	ร้อยละการลดความเข้มสีย้อม				
	200 mgL ⁻¹	400 mgL ⁻¹	600 mgL ⁻¹	800 mgL ⁻¹	1,000 mgL ⁻¹
0	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
2	11.16a	10.89a	6.19a	3.59a	6.11a
4	8.16a	13.92a	3.42a	4.26a	6.24a
6	22.74a	19.39a	10.01a	8.13a	6.15a
8	25.05a	18.28a	7.87a	3.85a	6.62a
12	25.05a	18.28a	7.87a	3.85a	6.62a
18	51.44a	33.21a	21.43a	2.55a	10.87a
24	47.45a	38.30a	16.62a	12.33a	10.08a
48	89.80b	91.10b	82.41b	83.61b	66.51b
72	92.08b	93.11b	89.86b	89.87b	82.20b
96	92.86b	94.70b	93.21b	93.31b	86.78b
120	93.52b	95.80b	95.72b	95.22b	88.38b
144	94.02b	96.49b	96.28b	95.35b	88.94b
168	94.40b	96.70b	96.80b	95.82b	89.34b
C.V = 9.7 %					
F-test = *					

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 13 กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสจากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (UL ⁻¹)				
	200 mgL ⁻¹	400 mgL ⁻¹	600 mgL ⁻¹	800 mgL ⁻¹	1,000 mgL ⁻¹
0	1.03a	0.46a	0.00a	0.00a	0.00a
2	9.55a	7.17a	0.46a	0.00a	0.00a
4	10.36a	13.75a	13.36a	4.89a	1.57a
6	5.92a	16.01b	24.85b	11.99a	25.76b
8	22.06b	29.68b	36.98b	32.07b	29.89b
12	28.75b	34.14b	76.59c	76.64c	62.16c
18	29.75b	54.09b	91.81c	115.12c	88.06c
24	20.83b	19.74b	29.18a	36.33b	77.99c
48	10.07a	9.83a	31.02b	11.62a	28.21b
72	12.26a	6.44a	26.94b	40.89b	178.57c
96	6.72a	3.39a	3.68a	12.15a	120.66c
120	5.30a	0.55a	5.46a	20.05a	26.97b
144	8.58a	4.09a	9.72a	26.26b	17.77b
168	4.51a	2.09a	17.55a	38.01b	22.38b
C.V = 48.4 %					
F-test = *					

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 14 กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสจากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039
ในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 200, 400, 600, 800 และ 1,000 mgL⁻¹

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (UL ⁻¹)				
	200 mgL ⁻¹	400 mgL ⁻¹	600 mgL ⁻¹	800 mgL ⁻¹	1,000 mgL ⁻¹
0	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
2	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
4	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
6	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
8	1.90a	3.67a	0.00a	1.86a	1.86a
12	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
18	1.04a	3.02a	1.98a	3.04a	0.00a
24	4.03a	6.13a	3.59a	0.00a	0.00a
48	2.79a	3.23a	14.27a	8.32a	3.35a
72	0.21a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
96	8.24a	4.44a	4.05a	5.98a	14.70a
120	7.52a	1.64a	1.14a	1.27a	28.32b
144	10.25a	0.51a	0.36a	1.86a	49.94b
168	5.54a	0.66a	0.98a	1.59a	16.76b

C.V = 87.1%

F-test = *

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 15 ร้อยละการลดความเข้มข้น RB5 600 mgL⁻¹ โดยใช้เชื้อรา *Datronia* sp.
KAPI0039 1, 2 และ 3 กรัมต่อสารละลายสีย้อม 100 มิลลิลิตร

เวลา (ชั่วโมง)	ร้อยละการลดความเข้มข้น		
	1 กรัม	2 กรัม	3 กรัม
0	0.00a	0.00a	0.00a
2	3.29a	5.49a	5.98 a
4	3.29a	5.45a	9.51a
6	3.71a	9.45a	15.37a
8	5.56a	15.24a	9.91a
12	8.08a	14.86a	18.51a
18	16.09a	23.39a	29.61a
24	18.36a	30.68a	40.54a
48	29.24a	86.03b	88.90b
72	87.64b	91.16b	91.11b
96	91.87b	94.29b	93.37b
120	93.39b	95.48b	93.89b
144	94.62b	96.17b	94.63b
168	94.56b	96.13b	94.43b

C.V = 10.1%

F-test = *

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 16 กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสจากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 1, 2 และ 3
กรัมต่อสารละลายซีรัม 100 มิลลิลิตร

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (UL ⁻¹)		
	1 กรัม	2 กรัม	3 กรัม
0	0.00a	1.04a	2.94a
2	0.35a	4.04a	9.46a
4	5.33a	15.91a	20.68a
6	20.21a	26.79a	36.31b
8	28.33a	49.69b	61.24b
12	44.29b	66.66b	68.40b
18	51.18b	72.37b	90.73c
24	78.13b	93.29c	88.84c
48	119.29c	121.97c	72.01b
72	167.10c	181.36c	102.83c
96	174.41c	146.94c	77.71b
120	127.83c	132.96c	47.75b
144	101.86c	79.31b	22.09a
168	61.65b	40.09b	13.76a

C.V = 19.9%

F-test = *

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 17 กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสจากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039
1, 2 และ 3 กรัมต่อสารละลายซีซอม 100 มิลลิลิตร

เวลา (ชั่วโมง)	แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (UL ⁻¹)		
	1 กรัม	2 กรัม	3 กรัม
0	0.00a	0.00a	0.00a
2	0.00a	0.00a	0.00a
4	0.00a	0.00a	0.00a
6	0.00a	0.00a	0.00a
8	4.51a	8.84a	12.79a
12	5.55a	13.51b	13.74b
18	4.19a	11.68a	14.63b
24	6.75a	17.81b	14.28b
48	15.11b	20.83b	13.00b
72	20.65b	26.46b	26.81b
96	12.93b	10.74a	14.61b
120	9.75a	8.49a	12.84a
144	5.69a	4.97a	3.62a
168	4.91a	4.30a	2.59a

C.V = 24.6%

F-test = *

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความ
เชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 18 ร้อยละการลดความเข้มสีของ RB5 600 mgL⁻¹ โดยใช้เชื้อรา 2 กรัมต่อสารละลายสี 100 มิลลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9

เวลา (ชั่วโมง)	ร้อยละการลดความเข้มสีของ			
	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9
0	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
2	7.15a	8.67a	1.76a	5.67a
4	5.86a	3.66a	1.76a	1.15a
6	4.42a	3.20a	1.76a	2.11a
8	17.41a	2.55a	8.83a	11.66a
12	24.98a	15.56a	11.99a	14.09a
18	35.24a	16.92a	16.31a	14.18a
24	43.90b	18.96a	31.07a	16.63a
48	59.99b	88.01b	45.14b	31.98a
72	68.33b	88.38b	45.72b	42.15b
96	68.93b	90.13b	50.58b	60.87b
120	68.38b	91.12b	60.31b	69.98b
144	71.54b	92.64b	67.20b	77.62b
168	72.32b	93.18b	71.94b	78.83b

C.V = 33.3%

F-test = *

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 19 กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสจากรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีของ RB5 600 mgL⁻¹ โดยใช้รา 2 กรัมต่อสารละลายสีของ 100 มิลลิลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (UL ⁻¹)			
	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9
0	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
2	0.00a	4.18a	5.01a	3.14a
4	0.00a	10.46a	23.56a	12.45a
6	0.00a	17.65b	37.06a	23.89a
8	1.01a	20.72a	65.38b	42.26b
12	1.33a	26.90a	116.97b	72.92b
18	5.68a	26.03a	179.45b	94.31b
24	10.98a	34.55a	218.46b	128.31b
48	17.35b	123.69b	125.18b	104.20b
72	36.21b	160.46b	41.39b	80.82b
96	46.24b	118.98b	6.27a	52.87b
120	32.78b	33.81a	9.53a	28.02a
144	7.33b	30.20a	9.99a	21.14a
168	3.34b	3.63a	4.87a	10.88a
C.V = 26%				
F-test = *				

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ตารางผนวกที่ 20 กิจกรรมของเอนไซม์กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส จากเชื้อรา *Datronia* sp. KAPI0039 ในการลดความเข้มข้นสีย้อม RB5 600 mgL⁻¹ โดยใช้เชื้อรา 2 กรัมต่อสารละลายสีโดยย้อม 100 มิลลิลิตร ที่ pH เริ่มต้น 3, 5, 7 และ 9

เวลา (ชั่วโมง)	กิจกรรมเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (UL ⁻¹)			
	pH 3	pH 5	pH 7	pH 9
0	0.00a	0.00a	0.00a	0.69a
2	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
4	0.00a	0.00a	0.00a	4.05a
6	0.00a	0.00a	0.00a	0.73a
8	0.00a	0.00a	0.00a	2.37a
12	0.00a	0.00a	0.00a	2.23a
18	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
24	0.00a	0.00a	3.50a	3.05a
48	0.00a	0.00a	0.00a	0.96a
72	0.00a	0.00a	14.79b	20.70b
96	3.18a	12.21a	1.05a	11.65b
120	22.37b	29.37b	1.59a	4.52a
144	9.65b	9.65a	0.61a	6.22a
168	4.87a	3.47a	0.44a	1.36a
C.V = 94.6%				
F-test = ns				

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 %

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวอรจิรา เพ็ชรชัย
วัน เดือน ปี ที่เกิด	20 กันยายน 2527
สถานที่เกิด	ปทุมธานี
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการ) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พ.ศ. 2548
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	นำเสนอผลงานในการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 47 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาทรัพยากรธรรมชาติและ สิ่งแวดล้อม
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-