

การย่อยสลายพาราไนโตรฟินอลโดยจุลินทรีย์ที่แยกจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรม

นางสาวอัจฉราวดี สัตยพานิชย์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาลัทธิปริญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-332-205-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DEGRADATION OF 4-NITROPHENOL BY ISOLATED MICROORGANISMS FROM
INDUSTRIAL WASTEWATER TREATMENT PLANT

Miss Atcharawadee Sattayapanich

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Environmental Science

Interdepartment of Environmental Science

Graduate School

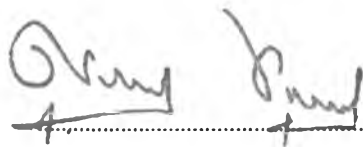
Chulalongkorn University

Academic Year 1998

ISBN 974-332-205-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การย่อยสลายพาราไนโตรฟินอลโดยจุลินทรีย์ที่แยกจากระบบบำบัดน้ำเสีย
ของโรงงานอุตสาหกรรม
โดย นางสาวอัจฉราวดี สัตยพาณิชย์
สหสาขาวิชา วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.ประกิตดีลิน สีहनนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร.ยุวรี อินนา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเล่มนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต




..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุตินวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



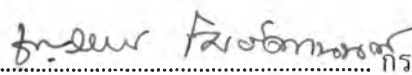
..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิพัฒน์ พัฒนผลไพบุลย์)



..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประกิตดีลิน สีहनนท์)



..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร.ยุวรี อินนา)



..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ ไชษิณานนท์)

อัจฉราวดี สัตยพาณิชย์ : การย่อยสลายพาราไนโตรฟินอลโดยจุลินทรีย์ที่แยกจากระบบบำบัดน้ำเสียของ
โรงงานอุตสาหกรรม(DEGRADATION OF 4-NITROPHENOL BY ISOLATED MICROORGANISMS
FROM INDUSTRIAL WASTEWATER TREATMENT PLANT) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. ประภคิต์สิน
สีหนนทร์ อ.ที่ปรึกษาร่วม : ดร.ยวรี อินนา ; 142 หน้า. ISBN 974-332-205-1.

พาราไนโตรฟินอลเป็นสารเคมีที่ใช้ในการผลิตสีย้อมและใช้รักษาคุณภาพหนังสือ ย่อยสลายยากโดย
กระบวนการทางชีวภาพ การทดลองนี้ได้แยกแบคทีเรีย 27 สายพันธุ์จากตัวอย่างตะกอนและน้ำของระบบบำบัดน้ำเสีย
แบบตะกอนเร่งของโรงงานฟอกย้อมและโรงงานฟอกหนัง จ.สมุทรปราการ ในจำนวนดังกล่าวมี 2 สายพันธุ์ ได้แก่
สายพันธุ์ AS107 และ AS217 ซึ่งจำแนกได้เป็น *Pseudomonas* sp. ย่อยสลายพาราไนโตรฟินอลได้ดีที่สุด โดยที่ความ
เข้มข้นของพาราไนโตรฟินอลเกินกว่า 0.026 มิลลิโมลาร์ จะยับยั้งการเจริญของสายพันธุ์ AS107 ขณะที่สายพันธุ์
AS217 มีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นในช่วงความเข้มข้นของพาราไนโตรฟินอลระหว่าง 0.01 มิลลิโมลาร์ถึง 0.1 มิลลิโมลาร์
ทั้งนี้ สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของทั้งสองสายพันธุ์ คือค่าความเป็นกรดต่างที่ 7 และอุณหภูมิที่ 30 องศา
เซลเซียส และจากการทดลองนำแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์มาเติมลงในน้ำทิ้งของโรงงานฟอกย้อม โดยติดตามการ
เปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่าง ค่าซีโอดีและปริมาณพาราไนโตรฟินอลในน้ำทิ้ง ตลอดระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าใน
ชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107(ชุดที่ 1), ชุดทดลองที่เติมแบคทีเรีย AS217(ชุดที่ 2), ชุดทดลองที่เติม
แบคทีเรียผสมสายพันธุ์ AS107 และ AS217(ชุดที่ 3) มีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างจากสภาพที่เป็นต่างมา
เป็นกลางเช่นเดียวกับชุดควบคุมที่ไม่ได้การเติมแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ และซีโอดีมีค่าลดลงในทุกชุดทดลอง
เช่นเดียวกับในชุดควบคุม ชุดทดลองชุดที่ 1 มีประสิทธิภาพในการลดค่าซีโอดีได้สูงสุด คือร้อยละ 92 ส่วนพาราไนโตร
ฟินอล ในชุดทดลองที่ 1, ชุดทดลองที่ 2 และชุดทดลองที่ 3 มีปริมาณลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ในขณะที่พาราไนโตร
ฟินอลในชุดควบคุมมีปริมาณการปนเปื้อนในระดับคงที่จนถึงวันที่ 12 ของการทดลอง แล้วจึงเริ่มลดลง และในวันที่ 14
ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการทดลอง ยังคงมีพาราไนโตรฟินอลตกค้างในน้ำทิ้งของชุดควบคุม ปริมาณ 0.005 มิลลิโมลาร์
ในขณะที่ตรวจไม่พบพาราไนโตรฟินอลตกค้างในแต่ละชุดทดลองในวันสุดท้ายของการทดลอง ชุดทดลองที่ 3 สามารถ
ย่อยสลายพาราไนโตรฟินอลได้ดีที่สุด โดยย่อยสลายหมดวันที่ 13 ของการทดลอง ดังนั้นแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ที่แยก
ได้จึงมีความเหมาะสมต่อการพัฒนาเพื่อนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมต่อไป

ภาควิชา..... สหสาขา.....
สาขาวิชา..... วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม.....
ปีการศึกษา..... 2541.....

ลายมือชื่อนิสิต..... อัจฉราวดี สัตยพาณิชย์.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... ประภคิต์สิน สีหนนทร์.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... ดร.ยวรี อินนา.....

C826748 : MAJOR INTER-DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL SCIENCE
KEY WORD: DEGRADATION / 4-NITROPHENOL / TEXTILE / TANNERY / *Pseudomonas* sp.

ATCHARAWADEE SATTAYAPANICH : DEGRADATION OF 4-NITROPHENOL BY ISOLATED
MICROORGANISMS FROM INDUSTRIAL WASTEWATER TREATMENT PLANT.

THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PRAKITSIN SRIHANON, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR :
YUWAREE IN-NA, Ph.D. 142 pp. ISBN 974-332-2051.

4-Nitrophenol is a raw material used by the textile and tannery industries. In this experiment, 18 strains of Bacteria were initially isolated from activated sludge wastewater treatment plant serving these industries in Samut Prakam Province. Strains AS107 and AS217, which are classified as *Pseudomonas* sp., were then selected for the next step in the experiment. Compared with the other strains, both have a higher capacity to utilize 4-nitrophenol as a carbon and nitrogen source together with other nutrients, which were available in medium. 4-nitrophenol inhibits the growth of strain AS107 in concentration greater than 0.026 mM. While strain AS217 was found to grow on the medium contaminated with 4-nitrophenol in concentration from 0.01 to 0.1 mM without inhibition. Optimal conditions for their growth were pH 7 and 30 °C.

Strains AS107, AS217 and mixed cultures were added to influent from the textile industry. According to monitoring data for a 2 weeks period, the pH of the first, second, third, and control batches declined from above 8 to approximately 7. A reduction in COD was also found to occur. The largest reduction in COD was in the first batch which was able to degrade COD by 92%. There was also a reduction in 4-nitrophenol in all of the experiment batches over the 2 week period. However, the level of 4-nitrophenol contamination in the control batch remained constant until day 12, after which it began to decline. In day 14, the last day of the experiment, there was 4-Nitrophenol residue in the control batch measuring 0.005 mM while there was no residue found in the experiment batches on this last day. 4-nitrophenol was eliminated in the experiment batches by strains AS107 and AS217 by day 13. In conclusion, both strains are appropriate for further development in the treatment of industrial wastewater.

สหสาขา
ภาควิชา.....
วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
สาขาวิชา.....
ปีการศึกษา 2541

ฉัตรภาวดี สัตยพานิช
ลายมือชื่อนิติ.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาพร้อม.....



กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ประกิตต์สินี สีहनนท์ อาจารย์ที่ปรึกษา และ ดร.ยุวรี อินนา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษา ข้อชี้แนะต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ ยิ่งตลอดระยะเวลาการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าในการร่วมเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รวมทั้งร่วมให้ข้อคิดเห็น ข้อเสนอแนะ ตลอดจนช่วยตรวจรายละเอียดต่างๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และกองจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ต่าง ๆ ตลอดระยะเวลาทำการทดลอง

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับเงินทุนอุดหนุนงานวิจัย

ขอขอบคุณ คุณเปรมฤดี ฉ่ำเฉลียว คุณพงษ์ศักดิ์ เลิศศักดิ์วิมาน คุณสุวิชัย ศุภนาเศรษฐ์ คุณชัยวัฒน์ งานเจตนวัฒน์ คุณชยันต เปรมปรีชากุล คุณวรินทร์ มโนสิทธิ์ศักดิ์ คุณธีราพร วิริวุฒิกุล คุณธนวรรณ นวลเศรษฐ์ คุณรัฐพล ศรีดิรัตน์วรกุล ครอบครัวหาญอมร และคุณมาชาชิ กาโม สำหรับความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน ตลอดการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ให้กำลังใจ ได้ถามความก้าวหน้าของวิทยานิพนธ์

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณพ่อแม่และครอบครัวที่เป็นกำลังใจสำคัญตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฅ

บทที่

1. บทนำ	1
2. การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	26
4. ผลการทดลอง	38
5. อภิปรายผลการทดลอง	60
6. สรุปและข้อเสนอแนะ	69
รายการอ้างอิง	71
ภาคผนวก ก	76
ภาคผนวก ข	82
ภาคผนวก ค	84
ภาคผนวก ง	90
ภาคผนวก จ	94
ภาคผนวก ฉ	115
ภาคผนวก ช	136
ภาคผนวก ซ	138
ประวัติผู้เขียน	142

สารบัญตาราง

ตารางที่

	หน้า	
1	อัตราการเปลี่ยนคาร์บอนจากแหล่งอาหาร (Substrate) ไปเป็นเซลล์จุลินทรีย์	19
2	คุณภาพน้ำทิ้งของโรงงานฟอกย้อมและฟอกหนังที่ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อทำการแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอล	39
3	การเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ MBH ผสม เบนน ฮาร์ท อินฟิวชั่น 3.7 มิลลิกรัมต่อลิตรและพาราไนโตรฟินอล 0.5 มิลลิโมลาร์ ในระยะเวลา 1 สัปดาห์ โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ ที่แยกจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานฟอกย้อม	39
4	การเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ MBH ผสม เบนน ฮาร์ท อินฟิวชั่น 3.7 มิลลิกรัมต่อลิตรและพาราไนโตรฟินอล 0.1 มิลลิโมลาร์ ในระยะเวลา 1 สัปดาห์ โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ ที่แยกจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานฟอกหนัง	40
5	ความสามารถในการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอล ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MBH ผสม เบนน ฮาร์ท อินฟิวชั่น 3.7 มิลลิกรัมต่อลิตรที่มีการเติมพาราไนโตรฟินอลความเข้มข้น 0.01 0.025 0.05 และ 0.1 มิลลิโมลาร์ โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้	42
6	เปรียบเทียบสมบัติของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และ AS217 กับ <i>Pseudomonas</i> sp. ตามรายละเอียดอธิบายใน Bergy's Manual of Systematic Bacteriology	52

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	วิวัฒนาการของกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพในระบบนิเวศของชีวมณฑล (Biosphere) (Medsen,1998)	1
2	สูตรโครงสร้างของพาราไนโตรฟินอล	3
3	แผนภูมิแสดงประเภทอุตสาหกรรมในจังหวัดสมุทรปราการ (หน่วยควบคุมมลพิษด้านน้ำเสีย จ. สมุทรปราการ,2540)	5
4	ระบบการจัดการสิ่งแวดล้อมที่ไม่ได้มาตรฐานของโรงงานฟอกย้อมแห่งหนึ่งในจังหวัดสมุทรปราการ (กรมควบคุมมลพิษ,2540)	5
5	การลักลอบปล่อยน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดออกสู่สิ่งแวดล้อม (กรมควบคุมมลพิษ,2540)	6
6	ขั้นตอนการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอลโดยแบคทีเรีย <i>Moraxella</i> sp. (Spain,1991) แบคทีเรียพวก <i>Pseudomonas putida</i> (Nishino and Spain, 1993)	13
7	ขั้นตอนการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอลโดยแบคทีเรีย <i>Arthrobacter</i> sp. (Jain et al., 1994)	13
8	ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในน้ำเสียกับการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอล (Wiggins et al., 1987)	18
9	แสดงการย่อยสลายสารปนเปื้อนในลักษณะโคเนติกส์แบบต่าง ๆ (Alexander,1994)	25
10	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอลที่ความเข้มข้น 0.01 มิลลิโมลาร์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MBH ผสม เบรน ฮาร์ท อินฟิวชั่น กับการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS101, AS107, AS202 และ AS217	43

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอล ที่ความเข้มข้น 0.025 มิลลิโมลาร์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MBH ผสม เบรน ฮาร์ท อินฟิวชั่น กับการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS101, AS107, AS202 และ AS217	45
12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอล ที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิโมลาร์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MBH ผสม เบรน ฮาร์ท อินฟิวชั่น กับการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และ AS217	46
13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอล ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MBH ผสม เบรน ฮาร์ท อินฟิวชั่น กับการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และ AS217	47
14 กราฟแสดงความสามารถในการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอล ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MBH โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 และ สายพันธุ์ AS217 ที่ผสมพาราไนโตรฟินอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ ระหว่างการเพาะเชื้อ และไม่ได้ผสมพาราไนโตรฟินอลในอาหาร เลี้ยงเชื้อระหว่างการเพาะเชื้อ	50
15 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 บนอาหาร เลี้ยงเชื้อแข็ง TSB	53
16 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ (X300 เท่า) แสดงลักษณะ แบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 อายุ 24 ชั่วโมง โดย ย้อมติดสีแกรมลบ	53
17 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS217 บนอาหาร เลี้ยงเชื้อแข็ง TSB	54
18 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ (X300 เท่า) แสดงลักษณะ แบคทีเรียสายพันธุ์ AS217 อายุ 24 ชั่วโมง โดย ย้อมติดสีแกรมลบ	54

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
20 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดต่างของน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมเมื่อเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107, AS217, แบคทีเรียผสมสายพันธุ์ AS107, AS217 และชุดควบคุมตลอดระยะเวลา 14 วัน ของการทดลอง	57
21 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดีของน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมเมื่อเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107, AS217, แบคทีเรียผสมสายพันธุ์ AS107, AS217 และชุดควบคุมตลอดระยะเวลา 14 วัน ของการทดลอง	58
22 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณพาราไนโตรฟินอลที่ตกค้างในน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อมเมื่อเติมแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107, AS217, แบคทีเรียผสมสายพันธุ์ AS107, AS217 และชุดควบคุมตลอดระยะเวลา 14 วัน ของการทดลอง	59
23 ระยะเวลาที่แบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 ใช้ในการปรับตัวสำหรับการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอล ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	63
24 แบคทีเรียสายพันธุ์ AS217 ใช้ในการปรับตัวสำหรับการย่อยสลายพาราไนโตรฟินอล ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ	63
25 อัตราการเจริญจำเพาะของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS107 ในภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีพาราไนโตรฟินอลความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	65
26 อัตราการเจริญจำเพาะของแบคทีเรียสายพันธุ์ AS217 ในภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีพาราไนโตรฟินอลความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	66