

การหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไตรโคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศ
โดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน หรือโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์



นายกฤษฎี จงโชติศิริกุล

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม


คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-17-4799-3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DETERMINATION OF KINETIC PARAMETERS FOR AEROBIC COMETABOLISM OF
TRICHLOROETHYLENE BY MICROORGANISMS GROWN ON TOLUENE OR BENZYL ALCOHOL



Mr. Krisadee Jongchotsirikul

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

Department of Environmental Engineering

Faculty of Engineering

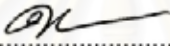
Chulalongkorn University

Academic Year 2005

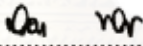
ISBN 974-17-4799-3

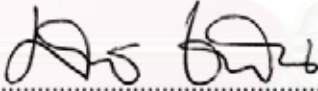
หัวข้อวิทยานิพนธ์ การหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลาย
ไตรคลอโรเอเททิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน
หรือโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์
โดย นายกฤษฎี จงโชติศิริกุล
สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.ศรัณย์ เตชะเสน

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต


..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.ดิเรก ลาวังยศศิริ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุธา ชาวเชียร)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ ดร.ศรัณย์ เตชะเสน)


..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.มนัสกร ราชอาณาจักร)


..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ชัยพร ภูประเสริฐ)

กฤษฏี จงโชติศิริกุล : การหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไตร
คลอโรเอเทอรีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน หรือโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์
(DETERMINATION OF KINETIC PARAMETERS FOR AEROBIC COMETABOLISM
OF TRICHLOROETHYLENE BY MICROORGANISMS GROWN ON TOLUENE OR
BENZYL ALCOHOL) อ.ที่ปรึกษา : อ.ดร.ศรัณย์ เตชะเสน , 132 หน้า.
ISBN 974-17-4799-3

งานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรตแทนโทลูอินใน
การร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทอรีนแบบใช้อากาศ และศึกษาหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์โดยใช้
แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b โดยศึกษาค่าyield (Growth Yield ; Y) ค่าคงที่อัตราการย่อยสลาย
จำเพาะสูงสุด (Maximum Specific Degradation Rate ; k_{max}) ค่าคงที่การอิ่มตัว (Half Saturation Constant ;
 K_s) และ ค่า Transformation Capacity (T_c) ในการทดลองแบบแบตช์ โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอินมา
ทดลอง ผลการทดลองพบว่า จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอินสามารถใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรตแทนโทลูอินใน
การร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทอรีนได้

ในกระบวนการย่อยสลายของโทลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ พบว่า ค่า Y เท่ากับ
0.742 มิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อมิลลิกรัมโทลูอิน และ 0.603 มิลลิกรัมเซลล์ต่อมิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์
ตามลำดับ เมื่อประมาณค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์โดยแบบจำลองคอมพิวเตอร์ พบว่า ค่า k_{max} และ K_s
ของการย่อยสลายโทลูอิน เท่ากับ 1.472 มิลลิกรัมโทลูอินต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน และ 8.24 มิลลิกรัมต่อ
ลิตร ส่วนการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์ เท่ากับ 0.870 มิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์ต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์
ต่อวัน และ 6.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สำหรับกระบวนการร่วมไตรคลอโรเอเทอรีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน และโตบนเบน
ซิลแอลกอฮอล์ ค่าของ k_{max} K_s และ T_c โดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอินเท่ากับ 0.28 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทอรีน
ต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน 10.59 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.041 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทอรีนต่อมิลลิกรัมมวล
เซลล์ ตามลำดับ และโดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ เท่ากับ 0.055 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทอรีนต่อ
มิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน 0.59 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.034 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทอรีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์
ตามลำดับ ค่าตัวแปรเหล่านี้มีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยที่ผ่านมา และด้วยคุณสมบัติของเบนซิลแอลกอฮอล์ที่
เป็นของเหลว ไม่เป็นพิษ และไม่ติดไฟ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นทางเลือกหนึ่งของ
ซับสเตรตแทนโทลูอินในการบำบัดไตรคลอโรเอเทอรีนทางชีวภาพในภาคสนาม

ภาควิชา.....วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม.....
สาขาวิชา.....วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม.....
ปีการศึกษา.....2548.....

ลายมือชื่อนิสิต.....กฤษฏี จงโชติศิริกุล.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

4670208421 : MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEY WORD: BIODEGRADATION / AEROBIC BIOTRANSFORMATION / BIOREMEDIATION

KRISADEE JONGCHOTSIRIKUL : DETERMINATION OF KINETIC PARAMETERS FOR AEROBIC COMETABOLISM OF TRICHLOROETHYLENE BY MICROORGANISMS GROWN ON TOLUENE OR BENZYL ALCOHOL. THESIS ADVISOR : SARUN TEJASEN, Ph.D., 132 pp. ISBN 974-17-4799-3

This research studied the possibility of replacing toluene with benzyl alcohol as a growth substrate in aerobic cometabolism of trichloroethylene (TCE) and determined kinetic parameters of metabolism of substrates and cometabolism processes using a AQUASIM2.1b program. Kinetic parameters included growth yield (Y), maximum specific degradation rate (k_{max}), half saturation constant (K_s) and transformation capacity (T_c) in batch experiments using toluene-grown microorganisms. Results showed that benzyl alcohol could replace for toluene as growth substrate in aerobic cometabolism of TCE.

In substrates degradation kinetics, growth yields (Y) of toluene and benzyl alcohol were 0.742 mg-cells/mg-toluene and 0.603 mg-cells/mg-benzyl alcohol, respectively. The maximum specific rate (k_{max}) and the half saturation constant (K_s) of toluene degradation were 1.472 mg-toluene/mg-cells/day and 8.24 mg/l, and of benzyl alcohol degradation were 0.870 mg-benzyl alcohol/mg-cells/day and 6.74 mg/l, respectively.

In the aerobic cometabolism of TCE by toluene-grown microorganisms, the k_{max} , K_s and T_c were 0.28 mg-TCE/mg-cell/day, 10.59 mg/l and 0.041 mg-TCE/mg-cell, and by benzyl alcohol-grown microorganisms were 0.055 mg-TCE/mg-cell/day, 0.59 mg/l and 0.034 mg-TCE/mg-cell, respectively. These kinetic parameters are among values reported by other TCE cometabolism studies, indicating that benzyl alcohol is an effective substrate for cometabolism. Benzyl alcohol is a non toxic compound, liquid phase at room temperature with a moderate flammability. Therefore, it could be a replacement for toluene in the in-situ bioremediation.

Department.....Environmental Engineering... Student's Signature *Krisadee Jongchotsirikul*
Field of study...Environmental Engineering... Advisor's Signature.....
Academic year.....2005.....

กิตติกรรมประกาศ

คุณงามความดีที่ได้จากการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ขอมอบให้แก่บิดามารดา และ
 ทุก ๆ คนในครอบครัว ที่อบรมเลี้ยงดู ให้การศึกษามาตั้งแต่เยาว์วัย ให้ความรักที่ยิ่งใหญ่และความ
 ช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ เป็นกำลังใจที่สำคัญที่สุดในระหว่างการศึกษาและการทำวิทยานิพนธ์มา
 โดยตลอดจนเสร็จสมบูรณ์ในที่สุด

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร.ศรัณย์ เตชะเสน
 เป็นอย่างสูง ที่เมตตาและให้โอกาสแก่ผู้วิจัยในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้ นอกจากนี้ยังให้ความ
 กรุณาถ่ายทอดวิชาความรู้ในด้านต่าง ๆ รวมทั้งให้แง่คิดในการทำงานอย่างมีประสิทธิภาพและ
 แนะนำให้คำปรึกษาในงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภา
 ขาวเขียว อาจารย์ ดร.มนัสกร ราชากรกิจ และอาจารย์ ดร.ชัยพร ภูประเสริฐ ที่กรุณาให้
 คำแนะนำตลอดจนข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ เพื่อการแก้ไขและปรับปรุง ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับ
 นี้มีความสมบูรณ์มากที่สุด และขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทถ่ายทอด
 ความรู้ทางวิชาการให้แก่ผู้วิจัย

ขอขอบพระคุณคุณสมเกียรติ ท้วมแสง และคุณพิณณา โรจนจิราภา เป็นอย่าง
 สูงที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ ในการดำเนินการวิจัย รวมทั้งขอขอบคุณเจต
 น้ำ และเจ้าหน้าที่ศูนย์อ้างอิงทางห้องปฏิบัติการและพิชวิทยา สำนักโรคจากการประกอบอาชีพ
 และสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ทุกท่านที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาจน
 งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่มอบทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้
 ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการและเจ้าหน้าที่ฝ่ายธุรการในภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมทุก
 ท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อาจารย์จันทวรรณ ต้นเจริญ ที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ คำปรึกษา
 และอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยเป็นอย่างดี

ทำนี่ยังขอขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ในภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ที่ให้ความ
 ช่วยเหลือ คำปรึกษาและเป็นกำลังใจที่ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง จำ เพื่อนที่ร่วมทุกข์ร่วมสุขระหว่าง
 การทำวิจัยมาโดยตลอด ขอขอบคุณอู๋ม แป๊ะ ปลา เก่ พีจี พีเรื่อง พีดอน และเพื่อนชาวแสงทองที่
 คอยรับฟังปัญหาให้กำลังใจและเอาใจช่วยให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฐ
รายการสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฒ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 ไตรศลอโรเอทริลีน.....	5
2.1.1 การนำไปใช้ประโยชน์.....	5
2.1.2 ความเป็นพิษและอันตรายต่อสุขภาพอนามัย.....	7
2.1.3 การปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม.....	8
2.2 วิธีการบำบัดสารประกอบคลอรีนไฮโดรคาร์บอนชนิดอะลิฟาติก.....	9
2.2.1 การใช้เป็นซับสเตรต.....	10
2.2.2 กระบวนการร่วมย่อยสลายภายใต้สภาวะที่ใช้อากาศ.....	11
2.2.3 การแทนที่ฮาโลเจนอะตอมด้วยไฮโดรเจนอะตอมในสภาวะไร้อากาศ.....	12
2.3 ซับสเตรตที่ใช้ในกระบวนการร่วมย่อยสลายภายใต้สภาวะที่ใช้อากาศ.....	14
2.4 โทลูอีน.....	14
2.4.1 ความเป็นพิษและอันตรายต่อสุขภาพอนามัย.....	15
2.4.2 ข้อดีและข้อเสียของการใช้โทลูอีนเป็นซับสเตรตในการร่วมย่อยสลาย ไตรศลอโรเอทริลีนแบบไร้อากาศ.....	17

2.5	เบนซิลแอลกอฮอล์.....	17
2.5.1	ข้อดี และข้อเสียของการใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นขั้วสเตรต ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศ.....	19
2.6	วิธีการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน.....	20
2.7	วิธีการย่อยสลายโทลูอีน.....	21
2.8	วิธีการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์.....	23
2.9	ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการร่วมย่อยสลายแบบใช้อากาศ.....	24
2.10	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	28
บทที่ 3	วิธีดำเนินการวิจัย.....	36
3.1	วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี.....	36
3.1.1	วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	36
3.1.2	สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย.....	36
3.2	การดำเนินการทดลอง.....	37
3.2.1	การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถโตบนโทลูอีน.....	38
3.2.2	การทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน.....	39
3.2.3	การเก็บเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน.....	40
3.2.4	การเตรียมเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน และโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์.....	42
3.2.5	การทดลองหาค่ายึดของแต่ละขั้วสเตรต.....	44
3.2.6	การทดลองหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ในกระบวนการร่วมย่อยสลาย ไตรคลอโรเอทิลีนทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน.....	46
3.2.7	การทดลองหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ในกระบวนการย่อยสลาย โทลูอีน และเบนซิลแอลกอฮอล์ทางชีวภาพ.....	47
3.2.8	การศึกษาประยุกต์ใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM 2.1b.....	49
3.3	วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง.....	55

บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิจารณ์.....	56
4.1 การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่โตบนโหลอื่น.....	56
4.2 การทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่โตบนโหลอื่น.....	57
4.3 การศึกษาค่ายิลด์ของแต่ละขั้นสเตรต (Growth Yield ; Y).....	58
4.3.1 การศึกษาค่ายิลด์ของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโหลอื่น.....	58
4.3.2 การศึกษาค่ายิลด์ของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์.....	60
4.4 การศึกษาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายของโหลอื่น และเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ.....	61
4.4.1 การศึกษาการย่อยสลายของโหลอื่นแบบใช้อากาศ.....	62
4.4.2 การศึกษาการย่อยสลายของเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ.....	63
4.4.3 การศึกษาหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายของโหลอื่น และเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ โดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์.....	64
4.5 การศึกษาหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายของไตรคอลลีโรเอเท- ริดีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโหลอื่นและโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์.....	68
4.5.1 การศึกษาการร่วมย่อยสลายไตรคอลลีโรเอเทริดีน แบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโหลอื่น.....	68
4.5.2 การศึกษาการศึกษาการร่วมย่อยสลายไตรคอลลีโรเอเทริดีน แบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์.....	69
4.5.3 การศึกษาหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ในการร่วมย่อยสลาย ไตรคอลลีโรเอเทริดีนแบบใช้อากาศโดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์.....	70
4.6 การทดสอบความถูกต้องของค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์.....	76
4.6.1 ผลกระทบของค่า k_{max} และ K_S ต่อการย่อยสลายโหลอื่น และเบนซิลแอลกอฮอล์.....	76
4.6.2 ผลกระทบของค่า k_{max} K_S และ T_c ต่อการร่วมย่อยสลายไตรคอลลีโรเอเทริดีน แบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโหลอื่น และโตบนเบนซิล แอลกอฮอล์.....	78

บทที่ 5	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	82
5.1	สรุปผลการทดลอง.....	82
5.2	ความสำคัญทางด้านวิศวกรรมและการนำไปใช้.....	83
5.3	ข้อเสนอแนะ.....	84
	รายการอ้างอิง.....	85
	ภาคผนวก.....	94
	ภาคผนวก ก ผลการศึกษาทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ได้ที่สามารถโตบนโกลูอินได้.....	95
	ภาคผนวก ข ผลการศึกษาค่า Growth Yield (Y).....	97
	ภาคผนวก ค ผลการศึกษาการย่อยสลายของโกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์ แบบใช้อากาศ.....	102
	ภาคผนวก ง ผลการศึกษาการร่วมย่อยสลายของไตรโคลโรโรเอทิลีนแบบใช้อากาศ โดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอิน และโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์.....	105
	ภาคผนวก จ สภาวะการทำงานของเครื่อง Gas Chromatography.....	109
	ภาคผนวก ฉ สภาวะการทำงานของเครื่อง High Performance Liquid Chromatography.....	119
	ภาคผนวก ช รูปเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	126
	ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	132

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1	คุณสมบัติของไตรโคลอโรเอเททิลีน.....	6
ตารางที่ 2.2	ผลความเป็นพิษแบบเฉียบพลันในสัตว์ทดลองของไตรโคลอโรเอเททิลีน.....	7
ตารางที่ 2.3	ค่าครึ่งชีวิตของไตรโคลอโรเอเททิลีนในสิ่งแวดล้อม.....	9
ตารางที่ 2.4	การย่อยสลายสาร CAHs ทางชีวภาพในสภาวะต่าง ๆ.....	10
ตารางที่ 2.5	คุณสมบัติของโทลูอีน.....	15
ตารางที่ 2.6	ผลความเป็นพิษแบบเฉียบพลันในสัตว์ทดลองของโทลูอีน.....	16
ตารางที่ 2.7	คุณสมบัติของเบนซิลแอลกอฮอล์.....	18
ตารางที่ 2.8	ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนของซัลเฟต.....	26
ตารางที่ 2.9	ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไตรโคลอโรเอเททิลีนแบบใช้ออกซิเจน.....	27
ตารางที่ 3.1	ส่วนประกอบของสารละลาย Basal Salts Medium.....	37
ตารางที่ 3.2	องค์ประกอบที่บรรจุลงในชุดทดสอบจำนวน 9 ชุด ตามสัดส่วนที่ต่างกัน.....	39
ตารางที่ 3.3	ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ใช้ในแบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b.....	54
ตารางที่ 3.4	วิธีการวิเคราะห์ และเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ.....	55
ตารางที่ 4.1	ผลจากการประมาณค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายโทลูอีน และเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้ออกซิเจน โดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b.....	64
ตารางที่ 4.2	เปรียบเทียบค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการย่อยสลายของแต่ละซัลเฟตที่ได้จากการประมาณด้วยแบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b กับงานวิจัยที่ผ่านมา.....	67
ตารางที่ 4.3	ผลจากการประมาณค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของ TCE ที่เหมาะสม โดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b.....	71
ตารางที่ 4.4	เปรียบเทียบค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไตรโคลอโรเอเททิลีนที่ได้จากการประมาณด้วยแบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b กับงานวิจัยที่ผ่านมา.....	75

ตารางที่ 4.5	ขอบเขตของค่าตัวแปรทางจิตนพลศาสตร์ของการย่อยสลายของโกลูอินและ เบนซิลแอลกอฮอล์.....	76
ตารางที่ 4.6	ขอบเขตของค่าตัวแปรทางจิตนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโร- เอทิลีน.....	78



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1	ปฏิกิริยาออกซิเดชันของมีเทน.....	11
รูปที่ 2.2	ปฏิกิริยาการร่วมย่อยสลายไตรโคลอโรเอทิลีน.....	11
รูปที่ 2.3	การแทนที่ฮาโลเจนอะตอมด้วยไฮโดรเจนอะตอมในสภาวะไร้อากาศ.....	13
รูปที่ 2.4	วิธีการย่อยสลายไตรโคลอโรเอทิลีน.....	20
รูปที่ 2.5	วิธีการย่อยสลายโทลูอีน.....	22
รูปที่ 2.6	วิธีการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์.....	23
รูปที่ 3.1	การเพิ่มจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถโตบนอาหารชนิดโทลูอีนได้.....	38
รูปที่ 3.2	แผนภาพขั้นตอนการเพิ่มจำนวน การทดสอบ การเจริญเติบโต และการเก็บเพื่อนำมา ใช้งานของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่สามารถโตบนโทลูอีน.....	41
รูปที่ 3.3	แผนภาพขั้นตอนการเตรียมเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน และโตบนเบนซิล แอลกอฮอล์.....	43
รูปที่ 3.4	แผนภาพขั้นตอนการทดลองหาค่ายึดของจุลินทรีย์ที่ใช้โทลูอีนและเบนซิลแอลกอฮอล์ เป็นซับสเตรต.....	45
รูปที่ 3.5	แผนภาพสรุปการหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์.....	47
รูปที่ 3.6	แผนภาพขั้นตอนการทดลองหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์.....	48
รูปที่ 3.7	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราปฏิกิริยาการร่วมย่อยสลายของ TCE โดยจุลินทรีย์ที่โตบน โทลูอีนกับความเข้มข้นของไตรโคลอโรเอทิลีน.....	51
รูปที่ 3.8	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราปฏิกิริยาการย่อยสลายของโทลูอีนกับความเข้มข้นของ โทลูอีน.....	51
รูปที่ 3.9	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราปฏิกิริยาการร่วมย่อยสลายของ TCE โดยจุลินทรีย์ที่โต บนเบนซิลแอลกอฮอล์กับความเข้มข้นของไตรโคลอโรเอทิลีน.....	52
รูปที่ 3.10	ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราปฏิกิริยาการย่อยสลายของเบนซิลแอลกอฮอล์กับความ เข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์.....	52
รูปที่ 4.1	การเปลี่ยนแปลงสีของเชื้อจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีนได้.....	56
รูปที่ 4.2	ค่า OD ₅₅₀ ของชุดทดสอบหลังจากทำการทดลอง 3 วัน.....	57
รูปที่ 4.3	ความเข้มข้นของโทลูอีนที่เปลี่ยนแปลงกับระยะเวลาการทดลอง.....	59

รูปที่ 4.4	ค่า OD_{550} ที่เพิ่มขึ้นของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอินกับระยะเวลาการทดลอง.....	59
รูปที่ 4.5	ความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ที่เปลี่ยนแปลงกับระยะเวลาการทดลอง.....	60
รูปที่ 4.6	ค่า OD_{550} ที่เพิ่มขึ้นของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์กับระยะเวลาการ ทดลอง.....	61
รูปที่ 4.7	ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโทลูอินกับระยะเวลาการ ทดลอง.....	62
รูปที่ 4.8	ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์กับ ระยะเวลาการทดลอง.....	63
รูปที่ 4.9	แบบจำลองคอมพิวเตอร์ของการย่อยสลายโทลูอินแบบใช้อากาศ.....	65
รูปที่ 4.10	แบบจำลองคอมพิวเตอร์ของการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ.....	65
รูปที่ 4.11	การร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอทิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน.....	69
รูปที่ 4.12	การร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอทิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์....	70
รูปที่ 4.13	แบบจำลองคอมพิวเตอร์ของการร่วมย่อยสลาย TCE โดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน....	71
รูปที่ 4.14	แบบจำลองคอมพิวเตอร์ของการร่วมย่อยสลาย TCE โดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิล แอลกอฮอล์.....	72
รูปที่ 4.15	ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงค่า k_{max} ในการย่อยสลายโทลูอิน.....	77
รูปที่ 4.16	ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงค่า K_s ในการย่อยสลายโทลูอิน.....	77
รูปที่ 4.17	ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงค่า k_{max} ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน....	79
รูปที่ 4.18	ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงค่า K_s ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน.....	79
รูปที่ 4.19	ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงค่า T_c ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน....	80

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

b	Cell decay rate
C	Aqueous Trichloroethylene concentration
CAHs	Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons
CASRN	Chemical Abstracts Service Registry Number
C_{aq}	Aqueous interest compound concentration
C_g	Gas phase interest compound concentration
C_i	Experimental data
\hat{C}_i	Model prediction data
dM_c	Change in TCE mass during reaction time
dM_x	Change in active cell concentration during reaction time
GC-FID	Gas Chromatography – Flame Ionization Detector
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
H_{cc}	Herry's law constant
K_{oc}	Organic Carbon Water Partition Coefficient
k_{max}	Maximum specific rate of degradation or transformation
K_s	Half-saturation constant
MCL	Maximum contaminant level
MCLG	Maximum contaminant level goal
MMO	Methane Monooxygenase
M_c	Interest compound mass
M_x	Cells mass
NADH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide
n	Number of data points
OD_{550}	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร
r_c	Rates of degradation or transformation
r_g	Substrate consumption rate
r_x	Rate of cell production
SEE	Standard Error of Estimate

TCE	Trichloroethylene
TLV-STEL	Threshold Limit Value, Short Term Exposure Limit
TLV-TWA	Threshold Limit Value, Time Weighted Average
T_c	Transformation capacity of Trichloroethylene
t	Time
V_l	Liquid volume
V_g	Headspace volume
X	Cells mass concentration
Y	Cellular yield of growth substrate



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไตรคลอโรเอทิลีน (Trichloroethylene ; TCE) เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic Solvent) ที่มีการใช้ในกระบวนการผลิตอย่างแพร่หลายของอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมผลิตชิ้นส่วนอิเล็กทรอนิกส์ อุตสาหกรรมสีและสิ่งพิมพ์ เป็นต้น ซึ่งใช้ในการกำจัดคราบ ทำความสะอาดส่วนประกอบที่เป็นโลหะของอุปกรณ์ต่าง ๆ และเป็นตัวทำละลายในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น หมึกพิมพ์ สี แล็กเกอร์ กาว น้ำยาทำความสะอาด น้ำยากำจัดคราบเปื้อน และยังเป็นตัวทำละลายสำหรับสกัดคาเฟอีนจากกาแฟ ประเทศไทยยังไม่มีการผลิตสารไตรคลอโรเอทิลีน ดังนั้นจึงได้นำเข้าจากต่างประเทศ อาทิเช่น ประเทศญี่ปุ่น สหราชอาณาจักร และประเทศเนเธอร์แลนด์ เป็นต้น ซึ่งปริมาณการนำเข้าไตรคลอโรเอทิลีนในปี พ.ศ. 2544 มีปริมาณนำเข้าถึง 6.20 ล้านกิโลกรัม และคาดว่าจะยังคงมีการนำเข้าอย่างต่อเนื่องในปัจจุบัน (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)

ไตรคลอโรเอทิลีน จัดเป็นสารไฮโดรคาร์บอนซึ่งเป็นหนึ่งในอนุพันธ์ของสารประกอบคลอรีนแบบอะลิฟาติก (Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons) มีลักษณะทั่วไป เป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีกลิ่นเฉพาะตัว ละลายน้ำได้พอสมควร (ประมาณ 1.1 กรัมต่อลิตร) เป็นสารที่ถูกดูดซึมได้ดีทั้งจากการสูดดม การกิน และการซึมผ่านผิวหนัง ทำให้มีการระคายเคืองต่อตา ผิวหนัง และเยื่อปอด รวมทั้งมีพิษเฉียบพลันในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคมะเร็งในสัตว์ทดลอง และมีแนวโน้มก่อให้เกิดโรคมะเร็งสำหรับมนุษย์ด้วย แต่ยังไม่มียางานการยืนยันว่าเป็นสารก่อเกิดมะเร็ง ซึ่งปัจจุบันไตรคลอโรเอทิลีน ถูกจัดให้เป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 2 ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 หมายความว่า การผลิต การนำเข้า การส่งออก หรือการมีไว้ในครอบครอง ต้องแจ้งพนักงานเจ้าหน้าที่ทราบก่อน และต้องปฏิบัติหลักเกณฑ์ และวิธีการที่กำหนดด้วย (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)

จากการนำไตรคลอโรเอทิลีนมาใช้อย่างกว้างขวาง ทำให้มีการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อมได้หลายทาง โดยการปนเปื้อนหลักมีสาเหตุมาจากการเก็บที่ไม่ดีพอ การรั่วซึมของถังเก็บไตรคลอโรเอทิลีนใต้ดิน การกำจัดกากของเสียที่ไม่ถูกต้อง การรั่วไหลหรือเกิดอุบัติเหตุขณะขนส่ง ทำให้ไตรคลอโรเอทิลีนรั่วซึมลงชั้นใต้ดิน เนื่องจากไตรคลอโรเอทิลีนเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่หนักกว่าน้ำทำให้ไตรคลอโรเอทิลีนซึมลงสู่ชั้นน้ำบาดาลและดูดซับกับตะกอนใต้น้ำ ก่อให้เกิดปัญหา

การปนเปื้อนในระยะยาว ไตรคลอโรเอทิลีนมีความสามารถในการละลายน้ำประมาณ 1.1 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ประกาศของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 20 (พ.ศ.2543) ได้กำหนดค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำใต้ดินที่เกี่ยวข้องกับสารอินทรีย์ที่ระเหยง่าย โดยอนุญาตให้มีไตรคลอโรเอทิลีนในน้ำใต้ดินได้ไม่เกิน 5 ไมโครกรัมต่อลิตร (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)

วิธีการบำบัดน้ำที่มีการปนเปื้อนสารไตรคลอโรเอทิลีนมีหลายวิธี ได้แก่ กระบวนการ Air Stripping และ Steam Stripping โดยการใช้ตัวกลางเป็นอากาศ และไอน้ำเป็นตัวพาไตรคลอโรเอทิลีนออกจากน้ำ ซึ่งต้องนำอากาศเสียไปบำบัดก่อนปล่อยสู่บรรยากาศ กระบวนการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ (Activated Carbon Adsorption) เพื่อดูดซับไตรคลอโรเอทิลีน ซึ่งต้องนำถ่านกัมมันต์ไปกำจัดตามวิธีการจัดการของเสียอันตรายต่อไป หรือกระบวนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) เพื่อทำลายพันธะทางเคมีของไตรคลอโรเอทิลีน แต่วิธีดังกล่าวเป็นวิธีที่เสียค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูงและวิธีการย่อยสลายทางชีวภาพแบบใช้อากาศ (Aerobic Biodegradation) ซึ่งเป็นวิธีที่น่าเหมาะสมเพราะประหยัดที่สุด และไม่ก่อให้เกิดผลผลิตที่เป็นอันตรายเมื่อเปรียบเทียบกับบำบัดโดยวิธีการอื่น (Arp และ คณะ, 2001)

การศึกษาที่ผ่านมา พบว่า โทลูอีนและฟีนอลสามารถเป็นขั้วเสถียรในกระบวนการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนทางชีวภาพแบบใช้อากาศ และมีประสิทธิภาพดีในการบำบัดไตรคลอโรเอทิลีน (Hopkins และคณะ, 1993a) แต่เนื่องจากโทลูอีนและฟีนอลจัดเป็นสารอันตรายต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์ทั้งการหายใจ การรับประทานหรือการซึมผ่านทางผิวหนัง ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการศึกษาต่อมาโดยการนำสารที่ไม่เป็นอันตรายมาเป็นขั้วเสถียร เช่น กลูโคส (Gao และ Skeen, 1999) สารเทอร์ปินที่สกัดได้จากน้ำมันหอมระเหยของพืช (Suttinun, 2003) และเบนซิลแอลกอฮอล์ Tejasen, 2003) เป็นต้น พบว่าได้ผลดีเช่นเดียวกัน โดยงานวิจัยของ Tejasen(2003) พบว่า จุลินทรีย์ที่โตบนฟีนอลแต่ไม่โตบนโทลูอีนสามารถใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นขั้วเสถียรแทนฟีนอลในกระบวนการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศได้ อีกทั้งมีการรายงานค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ทำให้สามารถนำค่ามาเปรียบเทียบได้ ในขณะที่สารอื่น ๆ ไม่ได้มีการรายงานค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการนำเบนซิลแอลกอฮอล์มาใช้แทนโทลูอีนเพื่อเป็นขั้วเสถียร รวมทั้งคำนวณหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์จากแบบจำลองคอมพิวเตอร์และสามารถเปรียบเทียบค่ากับงานวิจัยที่ผ่านมา เพื่อนำข้อมูลที่ได้นำมาประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนไตรคลอโรเอทิลีน ด้วยวิธีการทางชีวภาพแบบใช้อากาศได้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรตแทนโทลูอีนในการบำบัดไตรคลอโรเอทิลีนทางชีวภาพแบบใช้อากาศ
- 1.2.2 เพื่อศึกษาหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน หรือโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ และการย่อยสลายแบบใช้อากาศของโทลูอีนและเบนซิลแอลกอฮอล์ โดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์
- 1.2.3 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศ เมื่อเปลี่ยนซับสเตรตจากโทลูอีนเป็นเบนซิลแอลกอฮอล์

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้เป็นการวิจัยในระดับห้องปฏิบัติการ ใช้การทดลองแบบแบตช์ (Batch) ตลอดการวิจัย เพื่อศึกษาการบำบัดไตรคลอโรเอทิลีนทางชีวภาพแบบใช้อากาศโดยใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรตแทนโทลูอีน ดำเนินการ ณ อุณหภูมิห้อง ของศูนย์อ้างอิงทางห้องปฏิบัติการและพิชวิทยา สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ระหว่างเดือนมกราคมถึงพฤษภาคม 2548

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้กำหนดขอบเขตการวิจัยการวิจัยดังนี้

- 1.3.1 การทดลองเพิ่มจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถโตบนโทลูอีน (Toluene - Grown Mixed Culture) โดยนำเชื้อจุลินทรีย์มาจากน้ำเสียในถังเติมอากาศของโรงควบคุมคุณภาพน้ำสี่พระยา สำนักการระบายน้ำ กรุงเทพมหานคร
- 1.3.2 การทดลองหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ได้แก่ ค่ายิลด์ (growth yield ; Y) ค่าคงที่อัตราการย่อยสลายจำเพาะสูงสุด (maximum specific degradation rate ; k_{max}) ค่าคงที่การอิ่มตัว (half saturation constant ; K_s) และค่า Transformation capacity (T_c) ของกระบวนการร่วมย่อยสลายแบบใช้อากาศของไตรคลอโรเอทิลีน และการย่อยสลายแบบใช้อากาศของโทลูอีนและเบนซิลแอลกอฮอล์

- 1.3.3 การทดลองนี้ใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM 2.1b ซึ่งพัฒนาโดย Peter Reichert : Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology (EAWAG) Switzerland ในการคำนวณหาค่าตัวแปรทาง จลนพลศาสตร์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 สามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพในกระบวนการร่วมย่อยสลายไตรคอลลโรเอทิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่ใช้โกลูอื่น หรือเบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรต
- 1.4.2 สามารถเปรียบเทียบค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ในกระบวนการร่วมย่อยสลายไตรคอลลโรเอทิลีนแบบใช้อากาศระหว่างจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอื่น หรือโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์
- 1.4.3 สามารถนำแบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM 2.1b มาใช้ในการคำนวณหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์
- 1.4.4 สามารถนำค่าผลการทดลองที่ได้ไปเป็นแนวทางในการออกแบบระบบบำบัด ในกรณีที่มีการปนเปื้อนของสารไตรคอลลโรเอทิลีนในภาคสนามเกิดขึ้นต่อไปในอนาคตได้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไตรคลอโรเอทิลีน (Trichloroethylene)

ไตรคลอโรเอทิลีน (Trichloroethylene ; TCE) จัดเป็นสารอินทรีย์สังเคราะห์ (Xenobiotic Compound) มีสถานะเป็นของเหลวใส ไม่นำไฟฟ้า ไม่มีสี มีกลิ่นเฉพาะตัวคล้ายอีเธอร์ ละลายน้ำได้พอสมควร ประเทศไทยยังไม่มีการผลิตสารไตรคลอโรเอทิลีน ดังนั้นจึงได้นำเข้าจากต่างประเทศ อาทิ เช่น ประเทศญี่ปุ่น สหราชอาณาจักร และประเทศเนเธอร์แลนด์ เป็นต้น (กรมควบคุมมลพิษ, 2547) คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไตรคลอโรเอทิลีน ดังแสดงในตารางที่ 2.1

2.1.1 การนำไปใช้ประโยชน์

ไตรคลอโรเอทิลีนถูกนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ดังนี้

1. ในทางอุตสาหกรรม ประมาณร้อยละ 85 - 90 ใช้ไตรคลอโรเอทิลีนในการกำจัดคราบ ทำความสะอาดส่วนประกอบที่เป็นโลหะของอุปกรณ์ต่าง ๆ หรือชิ้นส่วนอิเล็กทรอนิกส์
2. เป็นตัวทำละลายในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น หมึกพิมพ์ สี แล็กเกอร์ กาว น้ำยาทำความสะอาดพรม น้ำยากำจัดคราบเปื้อน น้ำยาฆ่าเชื้อ และใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับสกัดคาเฟอีนจากกาแฟ
3. เป็นสารสำหรับยุดิปฏิกิริยาถูกใช้ในการผลิตโพลีไวนิลคลอไรด์ (Polyvinylchloride)
4. ใช้เป็นสารตั้งต้น หรือตัวกลาง (Intermediate) เพื่อสังเคราะห์สารอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ เช่น เพนตะคลอโรอีเทน (Pentachloroethane) เป็นต้น
5. ใช้เป็นสารทดแทนสารซีเอฟซี (Chlorofluorocarbon ; CFC) เพื่อลดผลกระทบของสภาวะก๊าซเรือนกระจกในอุตสาหกรรมผลิตชิ้นส่วนอิเล็กทรอนิกส์ ฟอกหนัง ทำสารเคลือบกระดาษและกาว เป็นต้น

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติของไตรคลอโรเอทิลีน (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)

ชื่อสามัญ	Trichloroethylene
CASRN (Chemical Abstracts Service Registry Number)	79-01-6
สูตรโมเลกุล	C ₂ HCl ₃
สูตรโครงสร้าง	$\begin{array}{c} \text{H} & & \text{Cl} \\ & \diagdown & / \\ & \text{C}=\text{C} & \\ & / & \diagdown \\ \text{Cl} & & \text{Cl} \end{array}$
MCL (Maximum contaminant level) ⁽³⁾	0.005 มก./ล. ⁽¹⁾
MCLG (Maximum contaminant level goal) ⁽⁴⁾	zero ⁽¹⁾
TLV-STEL (Threshold Limit Value, Short Term Exposure Limit) ⁽⁵⁾	200 มก./ล.
TLV-TWA (Threshold Limit Value , Time Weighted Average) ⁽⁶⁾	50 มก./ล.
น้ำหนักโมเลกุล	131.39
จุดเดือด	86.9°C
จุดหลอมเหลว	-84.8°C
จุดวาบไฟ	-
อุณหภูมิติดไฟได้เอง	410°C
ช่วงความเข้มข้นที่ติดไฟ	8 - 10.5 % ในอากาศ
ความดันไอ (ที่ 20°C)	57.8 มม.ปรอท
ความสามารถในการละลายน้ำ (ที่ 25°C)	1.1 กรัม/ลิตร
ความหนาแน่นไอ	4.53 กรัม/ลบ.ม.
ความถ่วงจำเพาะ (ที่ 20°C)	1.4642
ค่าคงที่ของเฮนรี (ที่ 25°C บรรยากาศ x ลูกบาศก์เมตร / โมล)	1.03 x 10 ⁻² ⁽²⁾
ค่า Organic Carbon-Water Partition Coefficient (K _{oc})	93

(1) U.S.EPA, 2002 (2) U.S.EPA, 2000

(3) MCL : The recommended maximum contaminated level allowed in drinking water.

(4) MCLG : The future goal of recommended maximum contaminated level allowed in drinking water.

(5) TLV-TWA : The average concentration under which most people can work consistently for eight hours, day in, day out, with no harmful effects.

(6) TLV-STEL : The maximum concentration permitted for a continuous 15-minute exposure period.

2.1.2 ความเป็นพิษ และอันตรายต่อสุขภาพอนามัย

การเข้าสู่ร่างกายของสารไตรคลอโรเอเททิลีนในระยะเวลาสั้น ๆ ยังไม่มีการยืนยันว่าถูกสะสมในอวัยวะต่าง ๆ เนื่องจากไตรคลอโรเอเททิลีนถูกขับออกทางลมหายใจ และสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว แต่การได้รับไตรคลอโรเอเททิลีนเป็นเวลานานจะมีการสะสมในอวัยวะต่าง ๆ ได้ ส่วนใหญ่ไตรคลอโรเอเททิลีนผ่านเข้าสู่ร่างกายได้โดยการหายใจ และทางผิวหนัง อาการของการได้รับสารไตรคลอโรเอเททิลีนเป็นดังนี้

1. ทางเดินหายใจ การหายใจเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อทางเดินหายใจ ทำให้เกิดอาการปวดศีรษะ เวียนศีรษะ คลื่นไส้ ไอ หายใจติดขัด หมดสติ เป็นลม และอาจเสียชีวิตได้เมื่อสัมผัสกับไอระเหยที่ความเข้มข้นสูง ๆ

2. ทางผิวหนัง การสัมผัสถูกผิวหนังซ้ำหรือเป็นระยะเวลานานจะก่อให้เกิดการระคายเคืองและทำให้ผิวหนังอักเสบเนื่องจากการสูญเสียไขมันของชั้นผิวหนังได้เกิดภาวะภูมิแพ้ต่อการสัมผัส

3. การรับประทานเข้าไป จะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อทางเดินอาหาร และทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ ไอ ปวดท้อง ท้องร่วง และอาจหมดสติได้

4. ไตรคลอโรเอเททิลีนก่อให้เกิดมะเร็งในอวัยวะต่าง ๆ ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม และมีแนวโน้มในการเกิดมะเร็งในมนุษย์ (International Agency for Research on Cancer จัดให้ไตรคลอโรเอเททิลีนเป็นสารในกลุ่ม 2A) (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)

สำหรับค่ามาตรฐานความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเททิลีนในน้ำใต้ดิน กำหนดให้ไม่เกิน 5 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 20 (พ.ศ. 2543)

ไตรคลอโรเอเททิลีนมีพิษเฉียบพลันในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยผลความเป็นพิษแบบเฉียบพลันในสัตว์ทดลองแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ผลความเป็นพิษแบบเฉียบพลันในสัตว์ทดลองของไตรคลอโรเอเททิลีน (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)

ชนิดสัตว์ทดลอง	ลักษณะความเป็นพิษ	ปริมาณที่ก่อให้เกิดพิษ
หนู	inhaleLC ₅₀ ในเวลา 4 ชั่วโมง	6,690 ppm
	oral LD ₅₀	4,920 mg/kg
	ip LD ₅₀	2,725 mg/kg
กระต่าย	dermal LD ₅₀	20 mg/kg

หมายเหตุ

- inhale LC₅₀ คือ ปริมาณสารพิษที่เข้าไปโดยการหายใจซึ่งทำให้สัตว์ทดลองตายไปร้อยละ 50
- oral LD₅₀ คือ ปริมาณสารพิษที่เข้าไปโดยทางปากซึ่งทำให้สัตว์ทดลองตายไปร้อยละ 50
- ip LD₅₀ คือ ปริมาณสารพิษที่เข้าไปโดยการฉีดเข้าช่องท้องซึ่งทำให้สัตว์ทดลองตายไปร้อยละ 50
- dermal LD₅₀ คือ ปริมาณสารพิษที่เข้าไปโดยทางผิวหนังซึ่งทำให้สัตว์ทดลองตายไปร้อยละ 50

2.1.3 การปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม

ไตรโคลอโรเอทิลีนเข้าสู่สิ่งแวดล้อมได้หลายวิธีดังนี้

1. การจัดการของเสียที่ไม่ถูกต้อง เช่น การฝังกลบภาชนะบรรจุที่ยังมีไตรโคลอโรเอทิลีนเหลือ อยู่ การเทไตรโคลอโรเอทิลีนที่เหลือหรือใช้แล้วลงอ่างล้างมือในห้องปฏิบัติการ เป็นต้น ทำให้ไตรโคลอโรเอทิลีนปนเปื้อนในดินและน้ำใต้ดิน
2. การผลิต รวมทั้งการแบ่งบรรจุ โรงงานที่ไม่มีระบบการควบคุมที่ดี จะทำให้ไตรโคลอโรเอทิลีน ระเหยกลายเป็นไอเข้าสู่บรรยากาศ หรือปนเปื้อนในน้ำทิ้งได้
3. การเก็บรักษาและการขนส่ง ได้แก่ การรั่วไหล หรืออุบัติเหตุ
4. การใช้ ทั้งในอุตสาหกรรม ห้องปฏิบัติการ และบ้านเรือน ทำให้ไตรโคลอโรเอทิลีนเข้าสู่สิ่งแวดล้อม โดยการระเหยเข้าสู่บรรยากาศ

ปัญหาต่อน้ำใต้ดินที่ปนเปื้อนไตรโคลอโรเอทิลีน โดยสามารถสรุปตามสมบัติที่ก่อให้เกิดดังนี้

1. ไตรโคลอโรเอทิลีนมีความสามารถในการระเหยกลายเป็นไอได้สูง เพราะมีค่าความดันไอสูง คือ 57.8 มิลลิเมตรปรอท เมื่อเทียบกับน้ำซึ่งมีความดันไอเพียง 12.8 มิลลิเมตรปรอท ดังนั้น ไตรโคลอโรเอทิลีนจะระเหยอยู่ในอากาศได้ง่าย ก่อปัญหาให้เกิดกับร่างกายที่มีโอกาสรับสารเข้าไปทางการหายใจ และใน ขณะเดียวกันหากสารดังกล่าวอยู่ในน้ำใต้ดิน จะกระจายตัวแทรกซึมไปอยู่ช่องว่างของดินหรือรอยแตกของหินได้ดี
2. ไตรโคลอโรเอทิลีนมีค่าความถ่วงจำเพาะสูง (1.46) เมื่อเทียบกับน้ำดังนั้นเมื่อแทรกซึมลงไปถึงชั้นล่างของน้ำใต้ดิน จะไปรวมตัวกันอยู่บนชั้นดินเหนียวหรือหินที่ยอมให้ไตรโคลอโรเอทิลีนซึมผ่านได้ยาก
3. ไตรโคลอโรเอทิลีนมีความสามารถในการละลายน้ำมากกว่ามาตรฐานน้ำใต้ดินมาก และสามารถยึดติดกับชั้นดินได้ดี จึงสามารถละลายออกมาสู่น้ำอย่างช้า ๆ ก่อให้เกิดการปนเปื้อนในน้ำใต้ดินเป็นเวลานาน

ตารางที่ 2.3 ค่าครึ่งชีวิตของไตรคลอโรเอเททิลีนในสิ่งแวดล้อม (กรมควบคุมมลพิษ, 2547)

สิ่งแวดล้อม	ค่าครึ่งชีวิต	คำอธิบาย
อากาศ	1.1 วัน – 11.3 วัน	คำนวณจากปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยแสง กับอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล
น้ำผิวดิน	6 เดือน - 1 ปี	คำนวณจากปฏิกิริยาการย่อยสลายโดยชีวภาพในน้ำแบบใช้ออกซิเจน
น้ำใต้ดิน	10.7 เดือน - 4.5 ปี	คำนวณจากปฏิกิริยาการแตกสลายด้วยน้ำ (10.7 เดือน) และปฏิกิริยาการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจนในตะกอนดิน (4.5 ปี)
ดิน	6 เดือน – 1 ปี	คำนวณจากปฏิกิริยาการย่อยสลายโดยชีวภาพแบบใช้ออกซิเจน

2.2 วิธีการบำบัดสารประกอบคลอรีนไฮโดรคาร์บอนชนิดอะลิฟาติก (Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons ; CAHs) โดยวิธีการทางชีวภาพ

สารประกอบคลอรีนไฮโดรคาร์บอนชนิดอะลิฟาติก (CAHs) ถูกผลิตขึ้นครั้งแรกในศตวรรษที่ 19 สารกลุ่มนี้ได้แก่ เตตระคลอโรเอเททิลีน (Tetrachloroethylene ; PCE) ไตรคลอโรเอเททิลีน (Trichloro ethylene ; TCE) 1,1 ไดคลอโรเอเททิลีน (1,1-Dichloroethylene ; 1,1-DCE) ทรานส์-1,2-ไดคลอโรเอเททิลีน (1,2 tran-Dichloroethylene ; trans-DCE) ซิส-1,2-ไดคลอโรเอเททิลีน (1,2 cis-Dichloro ethylene ; cis-DCE) ไวนิลคลอไรด์ (Vinylchloride ; VC) และ 1,1 ไดคลอโรอีเทน (1,1-Dichloro ethane ; 1,1-DCA) เป็นต้น

สาร CAHs ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด โดยใช้เป็นตัวชะล้างน้ำมันในอุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ เครื่องยนต์ เครื่องกลต่าง ๆ หรือใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมสี อุตสาหกรรมซักล้างเสื้อผ้า เป็นต้น สาร CAHs จัดเป็นสารพิษชนิดหนึ่งที่ก่อปัญหาแก่มนุษย์และสิ่งแวดล้อม ถ้าได้รับในปริมาณมากจะมีผลกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางอย่างรุนแรง หากมีการสะสมในร่างกายเป็นเวลานานจะมีผลทำลายตับและไต อีกทั้งพบว่าเป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมซึ่งอาจรวมถึงมนุษย์ด้วย สาร CAHs เหล่านี้ สามารถถูกบำบัดได้โดยวิธีการทางชีวภาพ ซึ่งแบ่งเป็น 3 วิธีหลัก ๆ ตามตารางที่ 2.4 ดังนี้

2.2.1 การใช้เป็นซับสเตรต (Usage as Primary Substrate)

เป็นกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในระบบบำบัดน้ำเสียชุมชน และระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมโดยจุลินทรีย์สามารถใช้สาร CAHs เป็นซับสเตรต เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงานสำหรับการเจริญเติบโต

ตารางที่ 2.4 การย่อยสลายสาร CAHs ทางชีวภาพในสภาวะต่าง ๆ

(McCarty, 1997; Coleman, 2002a)

สารประกอบ CAHs	สูตร โครงสร้าง	การใช้เป็น ซับสเตรต	การร่วมย่อย ภายใต้สภาวะใช้ อากาศ	การแทนที่ฮาโลเจน อะตอมด้วยไฮโดรเจน อะตอมในสภาวะ ไร้อากาศ
Carbon tetrachloride	CCl_4	-	0	xxxx
Chloroform	CHCl_3	-	x	xx
Methylene chloride	CH_2Cl_2	ได้	xxx	-
1,1,1-Trichloroethane	CH_3CCl_3	-	x	xxxx
1,1-Dichloroethane	CH_3CHCl_2	-	x	xx
1,2-Dichloroethane	$\text{CH}_2\text{ClCH}_2\text{Cl}$	ได้	x	x
Chloroethane	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{Cl}$	ได้	xx	-
Tetrachloroethylene	$\text{CCl}_2=\text{CCl}_2$	-	0	xxx
Trichloroethylene	$\text{CHCl}=\text{CCl}_2$	-	xx	xxx
1,2-Dichloroethylene	$\text{CHCl}=\text{CHCl}$	ได้	xxx	xx
1,1-Dichloroethylene	$\text{CH}_2=\text{CCl}_2$	-	x	xx
Vinylchloride	$\text{CH}_2=\text{CHCl}$	ได้	xxxx	x

หมายเหตุ 0-น้อยมาก ; x-น้อย ; xx-ปานกลาง ; xxx-ดี ; xxxx-ดีมาก

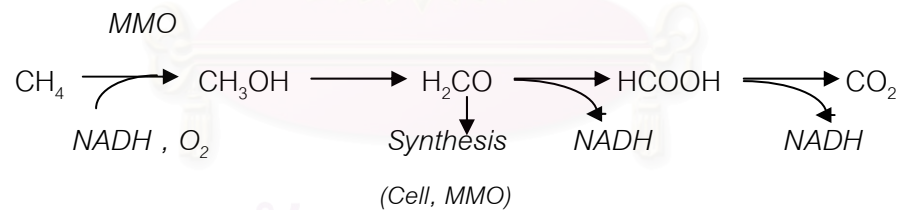
จากตารางที่ 2.4 พบว่าสาร CAHs ที่มีจำนวนอะตอมของคลอรีน (Cl) รวมอยู่ในโมเลกุลน้อย สามารถเป็นซับสเตรตได้ ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ เช่น เมทิลีนคลอไรด์ (DCM) 1,2-ไดคลอโรอีเทน (1,2-DCA) คลอโรอีเทน (CA) ซิส-1,2-ไดคลอโรเอทิลีน (*cis*-1,2 -DCE) และ ไวนิลคลอไรด์ (VC) (Hartmans, 1992 ; Coleman, 2002b ; Verce, 2000) แต่จุลินทรีย์ที่ใช้สาร

CAHs เป็นซัสเตรตได้นั้นพบได้น้อยในธรรมชาติ โดยส่วนมากสาร CAHs สามารถถูกบำบัดด้วยกระบวนการร่วมย่อยสลายแบบใช้ออกาศ (Aerobic Cometabolism) และกระบวนการแทนที่ฮาโลเจนอะตอมด้วยไฮโดรเจนอะตอมในสภาวะแบบไร้ออกาศ (Anaerobic Reductive Dehalogenation) (McCarty, 1997)

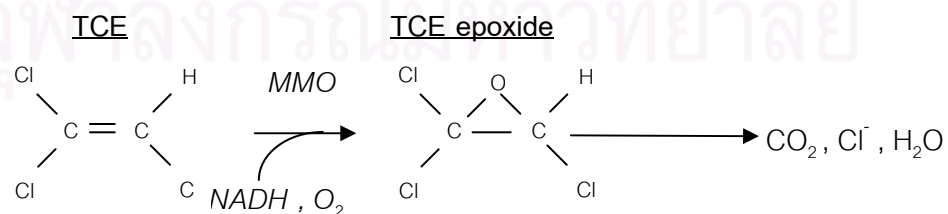
2.2.2 กระบวนการร่วมย่อยสลายภายใต้สภาวะที่ใช้ออกาศ (Aerobic Cometabolism)

กระบวนการร่วมย่อยสลายภายใต้สภาวะที่ใช้ออกาศ คือ การที่จุลินทรีย์ได้รับแหล่งอินทรีย์คาร์บอน และแหล่งพลังงานจากซัสเตรต (Growth substrate) เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต และสร้างเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารอื่น (Non-growth substrate) ที่ไม่มีประโยชน์ต่อตัวจุลินทรีย์เองได้

การศึกษากระบวนการร่วมย่อยสลายเริ่มมีตั้งแต่ปีพ.ศ. 2493 มีจุดมุ่งหมาย เพื่อใช้สำหรับอุตสาหกรรมเคมี เช่น สารอะโรมาติก สารอินทรีย์คลอรีน เป็นต้น รวมทั้งอุตสาหกรรมผลิตปุ๋ย และอุตสาหกรรมปิโตรเลียม (Arp และคณะ, 2001) และมีการค้นพบกระบวนการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนแบบใช้ออกาศเป็นครั้งแรกในปีพ.ศ. 2528 (Wilson และ Wilson, 1985) โดยชนิดก๊าซธรรมชาติ และออกซิเจนลงไปในคอลัมน์ดินที่มีไตรคลอโรเอทิลีนปนเปื้อนอยู่ เพื่อกระตุ้นให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในดินสร้างเอนไซม์ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน ซึ่งกระบวนการดังกล่าวอธิบายได้ดังรูปที่ 2.1 และ 2.2



รูปที่ 2.1 ปฏิกริยาออกซิเดชันของมีเทน (McCarty, 1997)



รูปที่ 2.2 ปฏิกริยาการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน (McCarty, 1997)

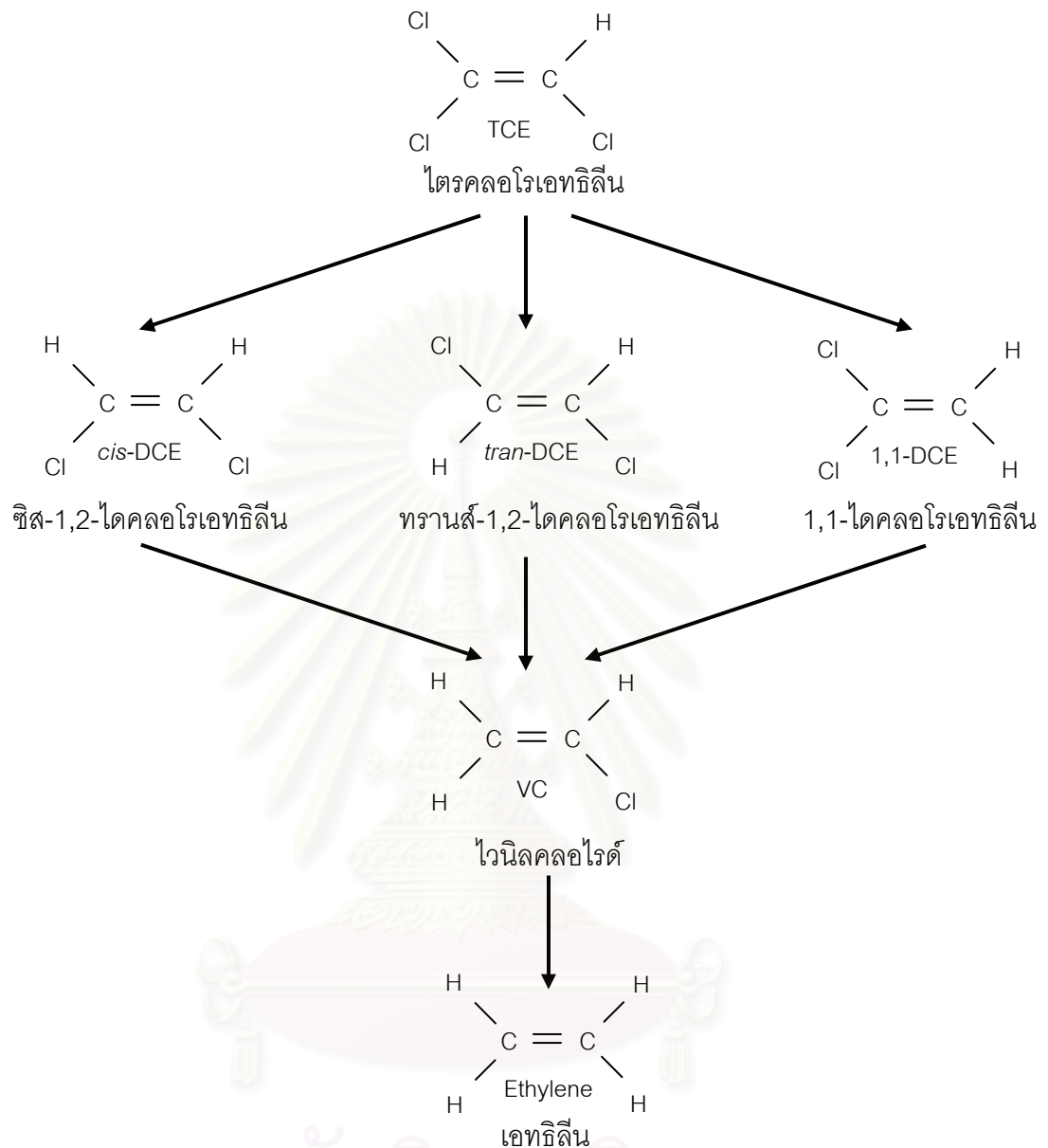
รูปที่ 2.1 เป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันของมีเทน ซึ่งใช้มีเทนเป็นซับสเตรตโดยเมทาโนโทรฟ(Methanotroph) ใช้เอนไซม์ MMO (Methane Monooxygenase) และพลังงานในรูปของ NADH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide) โดยได้ผลผลิต คือ การสังเคราะห์ของเซลล์ MMO และพลังงานที่เพิ่มขึ้นในรูปของ NADH

รูปที่ 2.2 เป็นปฏิกิริยาการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนโดยเอนไซม์ MMO และพลังงานในรูปของ NADH ที่ได้จากกระบวนการ Methane Oxidation จะเปลี่ยนรูปไตรคลอโรเอทิลีน (TCE) ให้อยู่ในรูปของ TCE epoxide ซึ่งเป็นสารที่ประกอบด้วยอะตอมของออกซิเจน 1 อะตอม และอะตอมของคาร์บอน 2 อะตอมในลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยม ที่ไม่เสถียรและเปลี่ยนรูปได้เร็วเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) คลอไรด์ (Cl⁻) และน้ำ (H₂O)

สาร CAHs ที่สามารถถูกย่อยสลายได้โดยกระบวนการนี้ ได้แก่ คลอโรฟอร์ม เมทิลคลอไรด์ (DCM) 1,1,1-ไตรคลอโรอีเทน(1,1,1-TCA) 1,1-ไดคลอโรอีเทน(1,1-DCA) 1,2-ไดคลอโรอีเทน(1,2-DCA) คลอโรอีเทน(CA) ไตรคลอโรเอทิลีน(TCE) ซิส-1,2-ไดคลอโรเอทิลีน (*cis*-1,2 -DCE) ซิส-1,1-ไดคลอโรเอทิลีน(*cis*-1,1 -DCE) และไวนิลคลอไรด์(VC) เป็นต้น

2.2.3 การแทนที่ฮาโลเจนอะตอมด้วยไฮโดรเจนอะตอมในสภาวะไร้อากาศ (Anaerobic Reductive Dehalogenation)

การแทนที่ฮาโลเจนอะตอมด้วยไฮโดรเจนอะตอม เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในสภาวะไร้อากาศโดย ฮาโลเจนอะตอม จะถูกแทนที่ด้วยไฮโดรเจนอะตอม สาร CAHs ที่สามารถถูกย่อยสลายได้โดยกระบวนการนี้ ได้แก่ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ คลอโรฟอร์ม 1,1,1-ไตรคลอโรอีเทน (1,1,1-TCA) 1,1-ไดคลอโรอีเทน (1,1-DCA) 1,2-ไดคลอโรอีเทน (1,2-DCA) เตตระคลอโรเอทิลีน (PCE) ไตรคลอโรเอทิลีน (TCE) ซิส-1,2-ไดคลอโรเอทิลีน (*cis*-1,2 -DCE) ซิส-1,1-ไดคลอโรเอทิลีน (*cis*-1,1 -DCE) และ ไวนิลคลอไรด์ (VC) เป็นต้น ผลผลิตจากการย่อยสลายของไตรคลอโรเอทิลีนโดยวิธีนี้ตามลำดับ ได้แก่ ไดคลอโรเอทิลีนไอโซเมอร์ (Dichloroethylene isomers ; DCEs) ประกอบด้วย 1,1-ไดคลอโรเอทิลีน (1,1-DCE) ทรานส์-1,2-ไดคลอโรเอทิลีน (tran-DCE) ซิส-1,2-ไดคลอโรเอทิลีน (*cis*-DCE) และไวนิลคลอไรด์ (VC) ซึ่งเป็นสารที่เป็นอันตรายและเอทิลีน (Ethylene) จะเป็นสารที่ไม่เป็นอันตรายซึ่งเป็นสารยุติของกระบวนการนี้ ดังรูป ที่ 2.3



รูปที่ 2.3 การแทนที่ฮาโลเจนอะตอมด้วยไฮโดรเจนอะตอมในสถานะไร้อากาศ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อัตราการเปลี่ยนรูปของ CAHs โดยวิธีการแทนที่ฮาโลเจนอะตอมด้วยไฮโดรเจนอะตอมในสถานะไร้อากาศ จะเกิดขึ้นเร็วสำหรับสารประกอบที่มีคลอรีนอะตอมจำนวนมาก และช้าสำหรับสารประกอบที่มีจำนวนคลอรีนอะตอมน้อย ดังนั้นกระบวนการนี้จึงมักจะส่งผลให้เกิดการสะสมของ DCEs และ VC (Semprini, 1997)

2.3 ซับสเตรตที่ใช้ในกระบวนการร่วมย่อยสลายภายใต้สภาวะที่ใช้อากาศ

ซับสเตรต (Growth substrate) เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน เพื่อใช้ในการเติบโตของจุลินทรีย์ รวมทั้งเป็นตัวเหนี่ยวนำให้จุลินทรีย์สร้างเอนไซม์ในกระบวนการร่วมย่อยสลายภายใต้สภาวะที่ใช้อากาศของไตรคัลอโรเอทิลีน จากการศึกษาที่ผ่านมา มีซับสเตรตหลายชนิด ได้แก่ มีเทน (Chang และ Alvarez-Cohen, 1996 ; Semprini และคณะ, 1990) ฟีนอล (Ayoubi และ Harker, 1998 ; Folsom และคณะ, 1990; Hopkins และคณะ, 1993a) บิวเทน (Kim และคณะ, 2000) เอทิลีน (Ensign และคณะ, 1992) โพรเพน (Tovanabootr และ Semprini, 1998 ; Wackett และคณะ, 1989a) โทลูอีน (Nelson และคณะ, 1987 ; Wackett และ Gibson, 1988 ; Shields และคณะ, 1989) คลีซอล (Folsom และคณะ, 1990 ; Wackett and Gibson, 1988 ; Nelson และคณะ, 1988) แอมโมเนีย (Arciero และคณะ, 1989 ; Nelson และคณะ, 1988 ; Wackett และ Gibson, 1988) ไฮโดรเจน (Ewers และคณะ, 1991) กลูโคส (Ensign, 1996 ; Gao and Skeen, 1999) โพรพีลีน (Ensign และคณะ, 1992) ไวนิลคลอไรด์ (Hartmans and Bony, 1992 ; Coleman และคณะ, 2002 ; Verce และคณะ, 2000) เป็นต้น

ซับสเตรตที่กล่าวมานี้ มีเทนเป็นซับสเตรตที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง แต่มีการรายงานของ Bielefeldt และคณะ (1995) และ Hopkins และคณะ (1993a) ว่าในการนำไปใช้งานภาคสนาม จุลินทรีย์ที่ใช้ซับสเตรตประเภทอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ได้แก่ ฟีนอลและโทลูอีน สามารถบำบัดไตรคัลอโรเอทิลีนได้ดีกว่าจุลินทรีย์ที่ใช้ซับสเตรตประเภทอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน ได้แก่ มีเทนเป็นซับสเตรต

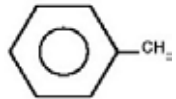
2.4 โทลูอีน (Toluene)

โทลูอีน (Toluene) เป็นไฮโดรคาร์บอนชนิดอะโรมาติก เป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีกลิ่นคล้ายอะโรมาติกเหมือนเบนซีน จัดเป็นสารไวไฟ เสี่ยงต่อการติดไฟและการระเบิด สารนี้สามารถถูกติดไฟได้เมื่อสัมผัสกับความร้อน ประกายไฟ หรือเปลวไฟ โทลูอีนถูกนำไปใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรม ยา เคมี ยาง และพลาสติก เป็นตัวทำละลายหลักในสี แล็กเกอร์ และน้ำยาเคลือบเงา น้ำหมึก และน้ำยาลบคราบเปื้อน รวมทั้งใช้ผสมน้ำมันเชื้อเพลิงของเครื่องยนต์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเผาไหม้ของเชื้อเพลิง (กรมควบคุมมลพิษ, 2545) คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของโทลูอีนแสดงในตารางที่ 2.5

2.4.1 ความเป็นพิษ และอันตรายต่อสุขภาพอนามัย

อันตรายต่อสุขภาพอนามัย (Health Effects) โดยการเข้าสู่ร่างกายของสารโทลูอีนส่วนใหญ่ผ่านเข้าไปโดยการหายใจและสามารถซึมผ่านเข้าไปทางผิวหนัง การหายใจเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคือง เกิดอาการปวดศีรษะ วิงเวียนศีรษะ คลื่นไส้ และมึนงง การสัมผัสผิวหนังจะก่อให้เกิดการระคายเคือง ทำให้เกิดผื่นแดง และผิวหนังอักเสบ การกลืนหรือกินเข้าไปจะก่อให้เกิดการระคายเคือง ทำให้ปวดท้อง ปวดศีรษะ วิงเวียน และมึนงงได้ (กรมควบคุมมลพิษ, 2545)

ตารางที่ 2.5 คุณสมบัติของโทลูอีน (กรมควบคุมมลพิษ, 2545)

ชื่อสามัญ	Toluene
CASRN (Chemical Abstracts Service Registry Number)	108-88-3
สูตรโมเลกุล	C ₆ H ₅ CH ₃
สูตรโครงสร้าง	
MCL (Maximum contaminant level) ⁽³⁾	1 มก./ล. ⁽¹⁾
MCLG (Maximum contaminant level goal) ⁽⁴⁾	1 มก./ล. ⁽¹⁾
TLV-STEL (Threshold Limit Value, Short Term Exposure Limit) ⁽⁵⁾	150 มก./ล.
TLV-TWA (Threshold Limit Value, Time Weighted Average) ⁽⁶⁾	50 มก./ล.
น้ำหนักโมเลกุล	92.13
จุดเดือด	110.4°C
จุดหลอมเหลว	-95°C
จุดวาบไฟ	6 - 10°C
อุณหภูมิติดไฟได้เอง	535°C
ความดันไอ (ที่ 30°C)	36.7 มม.ปรอท
ความสามารถในการละลายน้ำ (ที่ 25°C)	0.526 กรัม/ลิตร ⁽²⁾
ความหนาแน่นไอ	3.2 กรัม/ลบ.ม.
ความถ่วงจำเพาะ (ที่ 20°C)	0.866
ค่าคงที่ของเฮนรี (ที่ 25°C บรรยากาศ x ลูกบาศก์เมตร / โมล)	6.64 x 10 ⁻³ ⁽¹⁾
ค่า Organic Carbon-Water Partition Coefficient (K _{oc})	130

- (1) U.S.EPA, 2002 (2) U.S.EPA, 2000
- (3) MCL : The recommended maximum contaminated level allowed in drinking water.
- (4) MCLG : The future goal of recommended maximum contaminated level allowed in drinking water.
- (5) TLV-TWA : The average concentration under which most people can work consistently for eight hours, day in, day out, with no harmful effects.
- (6) TLV-STEL : The maximum concentration permitted for a continuous 15-minute exposure period.

สำหรับมาตรฐานความเข้มข้นของโทลูอีนที่ยอมให้ปนเปื้อนในน้ำดื่มต้องมีค่าไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 20 (พ.ศ. 2543)

โทลูอีน จัดเป็นสารพิษแบบเฉียบพลันโดยปริมาณความเข้มข้นที่ก่อให้เกิดพิษแบบเฉียบพลันในสัตว์ทดลอง ดังแสดงตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 ผลความเป็นพิษแบบเฉียบพลันในสัตว์ทดลองของโทลูอีน (กรมควบคุมมลพิษ, 2545)

ชนิดสัตว์ทดลอง	ลักษณะความเป็นพิษ	ปริมาณที่ก่อให้เกิดพิษ
หนู	inhal LC ₅₀ ในเวลา 4 ชั่วโมง	4,000 ppm
	oral LD ₅₀	5,000 mg/kg
	ip LD ₅₀	1,640 mg/kg
กระต่าย	dermal LD ₅₀	14,000 mg/kg

หมายเหตุ

- inhal LC₅₀ คือ ปริมาณสารพิษที่เข้าไปโดยการหายใจซึ่งทำให้สัตว์ทดลองตายไปร้อยละ 50
- oral LD₅₀ คือ ปริมาณสารพิษที่เข้าไปโดยทางปากซึ่งทำให้สัตว์ทดลองตายไปร้อยละ 50
- ip LD₅₀ คือ ปริมาณสารพิษที่เข้าไปโดยการฉีดเข้าช่องท้องซึ่งทำให้สัตว์ทดลองตายไปร้อยละ 50
- dermal LD₅₀ คือ ปริมาณสารพิษที่เข้าไปโดยทางผิวหนังซึ่งทำให้สัตว์ทดลองตายไปร้อยละ 50

2.4.2 ข้อดีและข้อเสียของการใช้โทลูอีนเป็นขั้วสเตรตในการร่วมย่อยสลาย ไตรโคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศ

ข้อดีของการใช้โทลูอีนเป็นขั้วสเตรต ได้แก่

1. โทลูอีนเป็นขั้วสเตรตที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดไตรโคลอโรเอทิลีนได้ดี Hopkins และคณะ (1993a) พบว่าการใช้โทลูอีนเป็นขั้วสเตรตมีประสิทธิภาพในการบำบัดไตรโคลอโรเอทิลีนถึงร้อยละ 71 เมื่อเทียบกับการใช้ฟินอล มีเทน และ แอมโมเนียเป็นขั้วสเตรตซึ่งมีประสิทธิภาพร้อยละ 58 6 และ 2 ตามลำดับ
2. โทลูอีนมีสถานะเป็นของเหลว สามารถนำมาใช้งานได้สะดวก

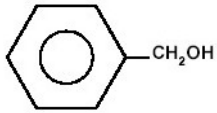
ข้อเสียของการใช้โทลูอีนเป็นขั้วสเตรต ได้แก่

1. โทลูอีนเป็นสารที่เสี่ยงต่อการจุดติดไฟและการระเบิด ซึ่งอันตรายต่อการเก็บ และการนำไปใช้ในภาคสนาม
2. โทลูอีนทำให้ผู้สูดหายใจเข้าไปเกิดอาการมึนงง เหนื่อยล้า อ่อนเพลีย ความรุนแรงขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นและระยะเวลาที่สัมผัสเมื่อได้รับโทลูอีนสะสมเข้าสู่ร่างกายเป็นเวลานานจะก่อให้เกิดโรคมะเร็ง
3. โทลูอีนจัดเป็นสารอันตรายและไม่สามารถใช้ในภาคสนามได้ ถ้าไม่มีการควบคุมตามกฎหมาย

2.5 เบนซิลแอลกอฮอล์ (Benzyl alcohol)

เบนซิลแอลกอฮอล์ (Benzyl alcohol) หรือชื่ออื่น ๆ เช่น Benzenemethanol, Phenylcarbinol; Phenylmethyl alcohol, Alpha-Hydroxytoluene, Benzoyl alcohol, Hydroxytoluene, Benzenecarbinol, Alpha-toluenol, (hydroxymethyl) benzene เป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีกลิ่นหอมหวานของอะโรมาติก เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นสารที่พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ชาเขียวมีเบนซิลแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบอยู่ 1-30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เบนซิลแอลกอฮอล์ถูกใช้เป็นตัวตั้งต้นและเป็นสารตัวกลางที่สำคัญในอุตสาหกรรมสบู่น้ำหอม ยา เครื่องสำอาง ใช้แต่งรสชาติอาหารเช่น หมากฝรั่งมีเบนซิลแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสมอยู่ 1254 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เครื่องดื่มบางชนิดมีเบนซิลแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสมอยู่ 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (European Commission, 2002) รวมทั้งใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมยา คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของเบนซิลแอลกอฮอล์แสดงในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของเบนซิลแอลกอฮอล์ (Chemical Land21, 2000)

ชื่อสามัญ	Benzyl alcohol
CASRN (Chemical Abstracts Service Registry Number)	100-51-6
สูตรโมเลกุล	$C_6H_5CH_2OH$
สูตรโครงสร้าง	
MCL (Maximum contaminant level) ⁽¹⁾	-
MCLG (Maximum contaminant level goal) ⁽²⁾	-
TLV-STEL (Threshold Limit Value, Short Term Exposure Limit) ⁽³⁾	-
TLV-TWA (Threshold Limit Value, Time Weighted Average) ⁽⁴⁾	-
น้ำหนักโมเลกุล	108.14
จุดเดือด	203 - 205°C
จุดหลอมเหลว	-15°C
จุดวาบไฟ	104°C
อุณหภูมิติดไฟได้เอง	436°C
ความดันไอ (ที่ 20°C)	0.099 มม.ปรอท
ความสามารถในการละลายน้ำ	40 กรัม/ลิตร
ความหนาแน่นไอ	3.72 กรัม/ลบ.ม.
ความถ่วงจำเพาะ (ที่ 20°C)	1.046
ค่าคงที่ของเฮนรี่ (ที่ 25°C บรรยากาศ x ลูกบาศก์เมตร / โมล)	3.37×10^{-7}
ค่า Organic Carbon-Water Partition Coefficient (K_{oc})	100

(1) U.S.EPA, 2002

(2) U.S.EPA, 2000

(3) MCL : The recommended maximum contaminated level allowed in drinking water.

(4) MCLG : The future goal of recommended maximum contaminated level allowed in drinking water.

(5) TLV-TWA : The average concentration under which most people can work consistently for eight hours, day in, day out, with no harmful effects.

(6) TLV-STEL : The maximum concentration permitted for a continuous 15-minute exposure period.

2.5.1 ข้อดี และข้อเสียของการใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นชั้นสเตอร์ในการร่วมย่อยสลายไตรโคลโรเอทิลีนแบบใช้อากาศ

ข้อดีของการใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นชั้นสเตอร์ ได้แก่

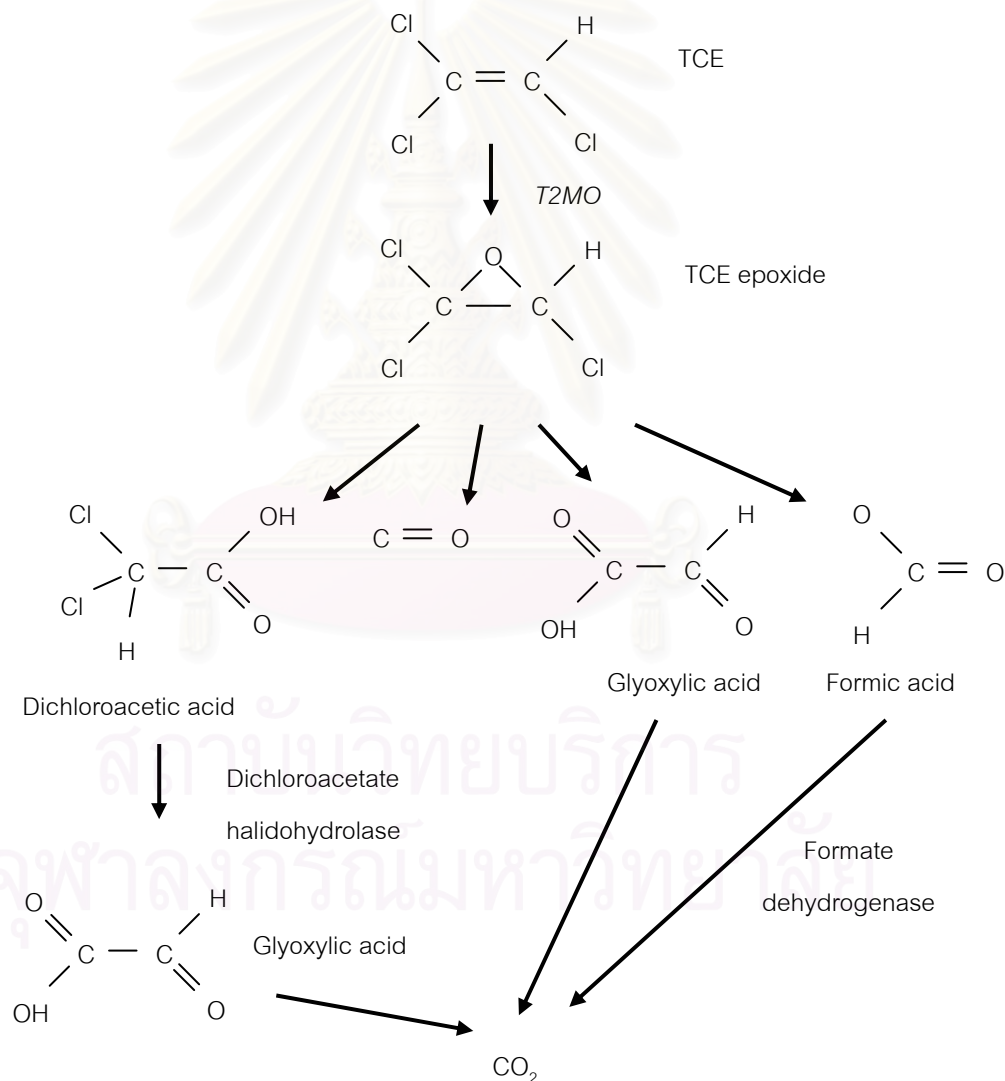
1. เบนซิลแอลกอฮอล์มีสถานะเป็นของเหลวละลายน้ำได้ดี สามารถนำมาใช้งานได้สะดวก
2. เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นสารที่ไม่มีพิษรุนแรง และไม่ก่อให้เกิดมะเร็งของอวัยวะต่าง ๆ ในสัตว์ทดลอง (National Technical Information Service, 1989)

ข้อเสียของการใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นชั้นสเตอร์ ได้แก่

1. เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นชั้นสเตอร์ที่มีประสิทธิภาพการบำบัดไตรโคลโรเอทิลีนต่ำกว่าโทลูอีน Kelly และคณะ (2000) รายงานค่า Transformation capacity (T_c) ของการใช้โทลูอีนเป็นชั้นสเตอร์เท่ากับ 0.035 มิลลิกรัมไตรโคลโรเอทิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์มากกว่าค่า T_c ของการใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นชั้นสเตอร์เท่ากับ 0.030 มิลลิกรัมไตรโคลโรเอทิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ (Tejasen, 2003)

2.6 วิธีการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน (Trichloroethylene Transformation Pathways)

รูปที่ 2.4 เป็นวิธีการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนในกระบวนการร่วมย่อยสลายทางชีวภาพแบบใช้อากาศ โดยไตรคลอโรเอทิลีน (TCE) ถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์ Toluene-2-monooxygenase (T2MO) ให้อยู่ในรูปของ TCE epoxide ที่ไม่เสถียรและสามารถเปลี่ยนรูปได้เร็วให้กลายเป็นก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) กรดฟอร์มิก (Formic acid) กรดไกลออกซาลิก (Glyoxylic acid) และกรดไดคลอโรอะซิติก (Dichloroacetic acid) ก่อนที่จะเปลี่ยนรูปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) คลอไรด์ (Cl) และน้ำ (H₂O) (Whittaker และคณะ, 2003)



รูปที่ 2.4 วิธีการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน (ดัดแปลงจาก Whittaker และคณะ, 2003)

ส่วนไตรคลอโรเอทิลีน (TCE) ที่ถูกออกซิไดซ์ให้อยู่ในรูปของ TCE epoxide โดยเอนไซม์ Toluene dioxygenase (TDO) TCE epoxide จะเปลี่ยนรูปเป็นกรดฟอร์มิก (formic acid) และกรดไกลออกซาลิก (glyoxylic acid) เท่านั้น จะไม่เกิดก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) เป็นผลผลิต (Whittaker และคณะ, 2003)

2.7 วิธีการย่อยสลายโทลูอีน (Toluene Degradation Pathways)

โทลูอีนถูกย่อยสลายทางชีวภาพแบบใช้อากาศได้หลายวิธีดังรูปที่ 2.5 ดังนี้

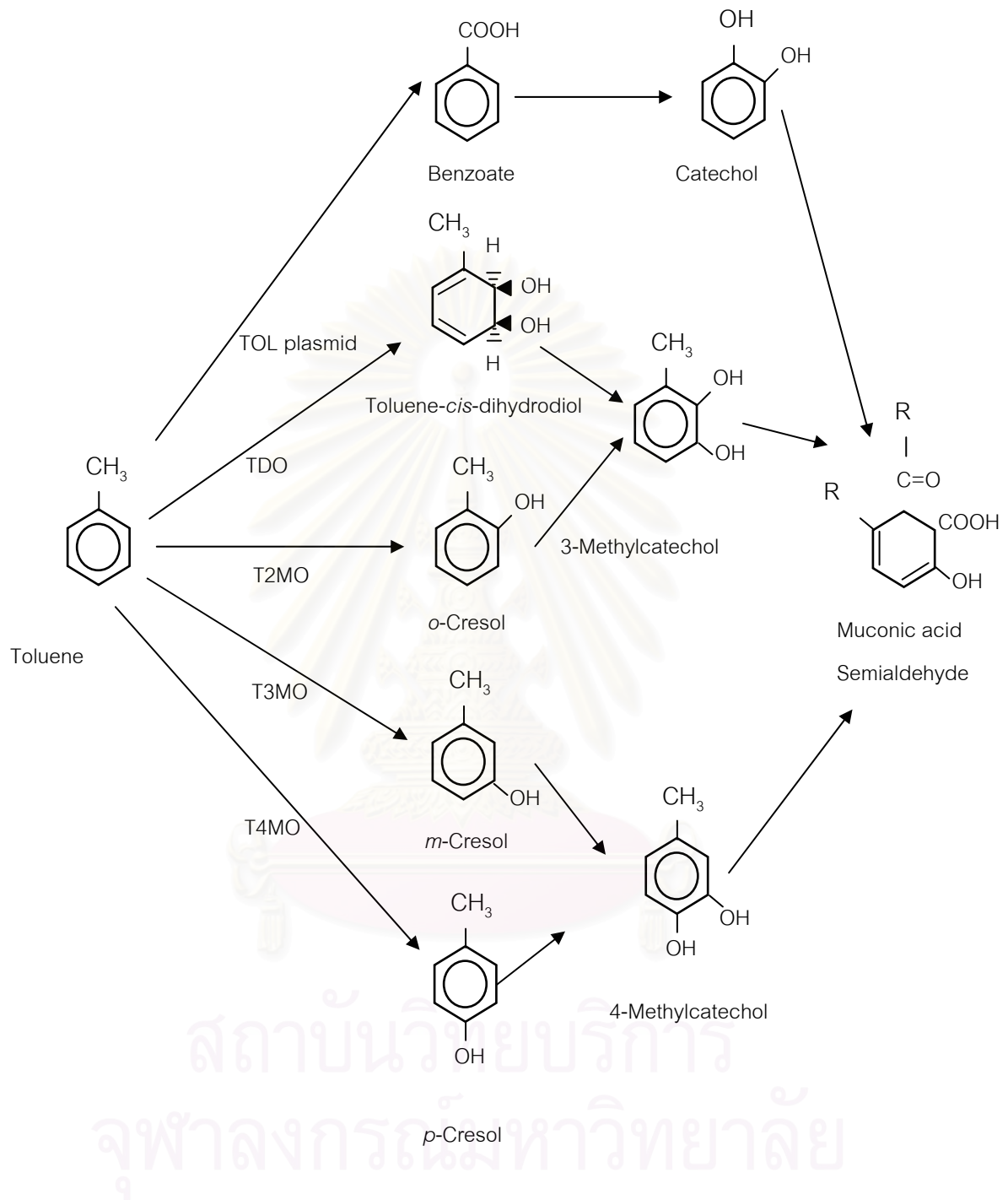
วิธีที่ 1 TOL plasmid *Pseudomonas putida* mt-2 ใช้เอนไซม์ซึ่งสังเคราะห์จากยีนในส่วน TOL plasmid เปลี่ยนรูปโทลูอีนเป็น Benzoate ซึ่งจุลินทรีย์ตัวนี้ออกซิไดซ์โทลูอีนที่ Methyl group (Shield และคณะ, 1989) แต่ไม่สามารถเปลี่ยนรูปไตรคลอโรเอทิลีนได้ จากนั้น Benzoate ถูกเปลี่ยนรูปเป็น Catechol ก่อนที่จะถูกย่อยสลายต่อไป (Nelson และคณะ, 1988)

วิธีที่ 2 TDO *Pseudomonas putida* F1 ใช้เอนไซม์ Toluene dioxygenase เปลี่ยนรูปโทลูอีนเป็น Toluene-*cis*-dihydrodiol ซึ่งเอนไซม์นี้สามารถเปลี่ยนรูป TCE และ *cis*-DCE ได้แต่ไม่สามารถเปลี่ยนรูป VC ได้ จากนั้น Toluene-*cis*-dihydrodiol ถูกเปลี่ยนรูปเป็น 3-methylcatechol โดยเอนไซม์ Toluene-*cis*-dihydrodiol dehydrogenase และ 3-methylcatechol ถูกแตกอะโรมาติกโดย *meta* fission เป็น 2-hydroxy-6-oxohepta-2,4-dienoic acid ต่อไป (Nelson และคณะ, 1987)

วิธีที่ 3 T2MO *Burkholderia cepacia* G4 ใช้เอนไซม์ Toluene-2-monooxygenase เปลี่ยนรูปโทลูอีนเป็น *o*-Cresol ที่ตำแหน่ง *ortho* position จากนั้น *o*-Cresol ถูกเปลี่ยนรูปเป็น 3-methylcatechol โดยเอนไซม์ Toluene monooxygenase และ 3-methylcatechol ถูกแตกอะโรมาติกโดย *meta* fission เป็น Muconic acid Semialdehyde ต่อไป (Nelson และคณะ, 1987)

วิธีที่ 4 T3MO *Ralstonia pickettii* PKO1 ใช้เอนไซม์ Toluene-3-monooxygenase เปลี่ยนรูปโทลูอีนเป็น *m*-Cresol ที่ตำแหน่ง *meta* position จากนั้น *m*-Cresol ถูกเปลี่ยนรูปเป็น 4-methylcatechol โดยเอนไซม์ Toluene monooxygenase และ 3-methylcatechol ถูกแตกอะโรมาติกโดย *meta* fission เป็น Muconic acid Semialdehyde ต่อไป (Nelson และคณะ, 1987)

วิธีที่ 5 T4MO *Pseudomonas mendocina* KR1 ใช้เอนไซม์ Toluene-4-monooxygenase เปลี่ยนรูปโทลูอีนเป็น *p*-Cresol ที่ตำแหน่ง *para* position จากนั้น *p*-Cresol ถูกเปลี่ยนรูปเป็น 4-methylcatechol ต่อไป (Shield และคณะ, 1989)



รูปที่ 2.5 วิธีการย่อยสลายโทลูอีน

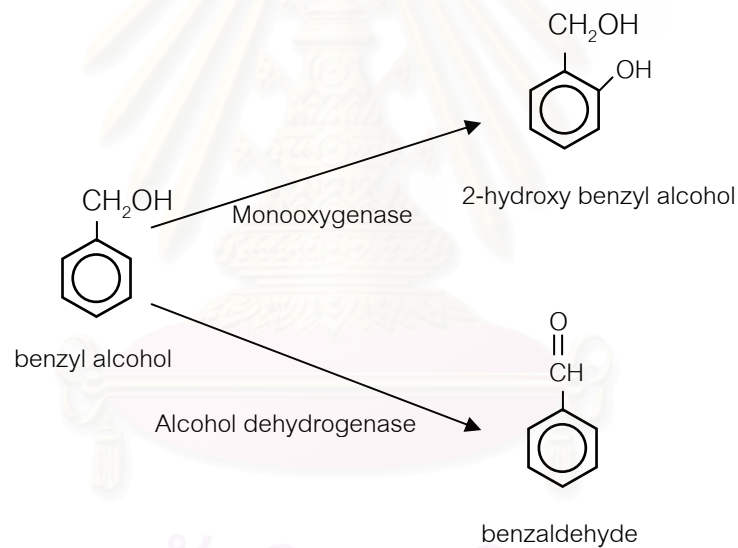
(ดัดแปลงจาก Shields และคณะ, 2001 และ Nelson และคณะ, 1987)

2.8 วิธีการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์ (Benzyl alcohol Degradation Pathways)

เบนซิลแอลกอฮอล์ถูกย่อยสลายทางชีวภาพแบบใช้ออกซิเจนได้อย่างน้อย 2 วิธีดังรูปที่ 2.6 ซึ่งอธิบายได้ดังนี้

วิธีที่ 1 Monooxygenase เบนซิลแอลกอฮอล์เปลี่ยนรูปเป็น 2-hydroxy benzyl alcohol โดยใช้เอนไซม์ monooxygenase ซึ่งเอนไซม์นี้สามารถร่วมย่อยสลาย TCE ได้ (Tejasen, 2003)

วิธีที่ 2 Alcohol dehydrogenase เบนซิลแอลกอฮอล์เปลี่ยนรูปได้อีกรูปหนึ่งเป็น benzaldehyde โดยใช้เอนไซม์ Alcohol dehydrogenase แต่ไม่สามารถร่วมย่อยสลาย TCE ได้ (Tejasen, 2003)



รูปที่ 2.6 วิธีการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์ (Tejasen, 2003)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.9 ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการร่วมย่อยสลายแบบใช้อากาศ (Kinetic Parameters of Aerobic Cometabolism of CAHs)

การศึกษาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์มีความสำคัญในการพิจารณา เพื่อนำไปประยุกต์ใช้กับงานในภาคสนามได้ โดยค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์จะสามารถประมาณปริมาณขั้วเซลล์ที่ใช้ในการเติบโต ปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในปฏิกิริยา และระยะเวลาที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารประกอบคลอรีนไฮโดรคาร์บอนชนิดอะลิฟาติก (CAHs) ซึ่งค่าต่าง ๆ เหล่านี้จะส่งผลต่อของวิธีการบำบัด ค่าใช้จ่ายในการบำบัด ระยะเวลา และลักษณะของระบบ โดยค่าตัวแปรที่ศึกษา ได้แก่ ยิลด์ (growth yield ; Y) ค่าคงที่อัตราการย่อยสลายจำเพาะสูงสุด (maximum specific degradation rate ; k_{max}) ค่าคงที่การอิ่มตัว (half saturation constant ; K_s) และ ค่า Transformation capacity (T_c) สมการต่าง ๆ ใช้ในกระบวนการ ได้แก่

Monod kinetics

ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการร่วมย่อยสลายแบบใช้อากาศของไตรคลอโรเอทิลีน และการย่อยสลายแบบใช้อากาศของโทลูอีน และเบนซิลแอลกอฮอล์ ใช้สมการ Monod kinetics ดังนี้

$$r_c = \frac{-k_{max} \cdot M_x \cdot C}{K_s + C} \quad (2.1)$$

โดยที่

- r_c = Rates of degradation or transformation (mg/d)
- C = Aqueous Trichloroethylene concentration (mg/l)
- k_{max} = Maximum specific rate of degradation or transformation (mg-TCE/mg-cells/d)
- M_x = Cells mass (mg)
- K_s = Half-saturation constant (mg/l)

Cells mass production

อัตราการเติบโตของเซลล์จะขึ้นอยู่กับการใช้ซับสเตรตของเซลล์ ความเป็นพิษของ TCE ต่อเซลล์ และการสลายตัวของเซลล์ ดังสมการ 2.2 (Chang and Alvarez-Cohen, 1995a ; Anderson and McCarty, 1996)

$$r_x = Y \cdot r_g - \frac{1}{T_c} r_c - b \cdot M_x \quad (2.2)$$

โดยที่	r_x	=	The rate of cell production (mg-cells /d)
	r_g	=	Substrate consumption rate (mg-substrate /d)
	r_c	=	TCE transformation rate (mg-TCE /d)
	Y	=	Cellular yield of growth substrate (mg-cells /mg-substrate)
	T_c	=	Transformation capacity of TCE (mg-TCE /mg-cells)
	b	=	Cell decay rate (1 /d)

Transformation capacity(T_c)

เป็นอัตราส่วนระหว่างมวลของ TCE ที่ถูกบำบัดต่อมวลของเซลล์ (Active cells) ที่ลดลง แสดงถึงความเป็นพิษของผลผลิต (Transformation product toxicity) จากการบำบัด TCE ที่มีต่อเซลล์ ทำให้เกิดการลดลงของเซลล์ (Alvarez-Cohen and McCarty, 1991)

$$T_c = \frac{dM_c}{dM_x} \quad (2.3)$$

โดยที่	T_c	=	Transformation capacity of TCE (mg-TCE/ mg-cells)
	dM_c	=	Change in TCE mass during reaction time (mg-TCE)
	dM_x	=	Change in active cell concentration during reaction time (mg-cells)

ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์จะบ่งบอกถึงความรวดเร็วของปฏิกิริยา ในการร่วมย่อยสลาย ระยะเวลา ลักษณะของระบบ ความเข้มข้น และปริมาณของซับสเตรตที่ต้องการ ลักษณะของแบบจำลอง ซึ่งสามารถใช้ประเมินความเสี่ยง และวางแผนการทำงานได้ในงานจริง ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายแบบใช้อากาศทั้งโทลูอีนและเบนซิลแอลกอฮอล์ และกระบวนการร่วมย่อยสลายแบบใช้อากาศของไตรคลอโรเอทิลีนของโทลูอีนและเบนซิลแอลกอฮอล์ ได้รวบรวมและแสดงดังตารางที่ 2.8 และ 2.9

ตารางที่ 2.8 ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายแบบใช้ออกาศของซัลสเตอร์ต

Microorganism	Growth Substrate	Conc. (mg/L)	k_{max} (1/day)	K_s (mg/l)	Y (mg-cells/mg-substrate)	Reference
<i>Pseudomonas putida</i> B2	Toluene	1-50	4.0	2.7	0.62	Kelly และคณะ (2000)
<i>Pseudomonas putida</i> ATCC 23973	Toluene	1-30	10.49	6.0	0.37	Choi และคณะ (1992)
<i>Burkholderia cepacia</i> G4	Toluene	-	8.68	0.074	-	Newman และคณะ (1995)
<i>Pseudomonas cepacia</i> G4	Toluene	-	9.27	2.30	-	Landa และคณะ (1994)
<i>Pseudomonas</i> B1	Toluene	5-20	13.03	1.96	1.22	Chang และคณะ (1993)
<i>Pseudomonas</i> X1	Toluene	5-20	10.84	1.88	0.99	Chang และคณะ (1993)
<i>Pseudomonas putida</i> F1	Toluene	1-43	20.60	13.8	1.28	Reardon และคณะ (2000)
<i>Pseudomonas putida</i> R1	Toluene	4	12.10	0.1	1.20	Pedersen และคณะ (1997)
<i>Pseudomonas putida</i> 54G	Toluene	1-50	10.08	3.98	0.90	Mirpuri และคณะ (1997)
<i>Pseudomonas putida</i> O1	Toluene	5-70	17.28	15.07	0.64	Oh และคณะ (1994)
Mixed culture	Toluene	1-30	0.44	1.02	0.29	Chang และ Alvarez-Cohen (1995b)
Mixed culture	Toluene	7-15	1.5	1.0	0.77	McCarty และคณะ (1998)
Mixed culture	Benzyl alcohol	1-60	1.06	5.29	0.53	Tejasen (2003)

ตารางที่ 2.9 ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศ

Microorganism	Growth Substrate	Conc.TCE (mg/L)	k_{max} (1/day)	K_s (mg/l)	T_c (mg-TCE/mg-Cell)	Reference
<i>Pseudomonas putida</i> B2	Toluene	0-10	1.3	6.4	0.035	Kelly และคณะ (2000)
<i>Burkholderia cepacia</i> G4	Toluene	-	3.50	1.577	-	Newman และคณะ (1995)
<i>Pseudomonas cepacia</i> G4	Toluene	-	0.95	0.80	-	Landa และคณะ (1994)
<i>Pseudomonas cepacia</i> G4	Toluene	0.65-9.85	1.706	3.81	-	Sun และคณะ (1996)
<i>Pseudomonas cepacia</i> KR1	Toluene	0.65-9.85	1.89	1.314	-	Sun และคณะ (1996)
<i>Pseudomonas putida</i> F1	Toluene	0.65-9.85	0.75	0.66	-	Sun และคณะ (1996)
<i>Pseudomonas putida</i> F1	Toluene	1.32-13.14	0.49	10.12	0.0052	Heald และ Jenkins (1994)
<i>Ralstonia pickettii</i> PKO1	Toluene	0-50	0.37	9.80	-	Park และคณะ (2002)
Mixed culture	Toluene	1-30	0.17	8.64	0.0073	Chang และ Alvarez-Cohen (1995b)
Mixed culture	Toluene	0.5-1.5	0.7	10	-	Mccarty และคณะ (1998)
Mixed culture	Benzyl alcohol	0.13-2.0	0.084	0.33	0.03	Tejasen (2003)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.10 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง จำแนกตามซับสเตรต (Growth substrate) ที่ให้พลังงาน และเป็นแหล่งอินทรีย์คาร์บอน สำหรับการเติบโตของจุลินทรีย์ และเป็นตัวเหนี่ยวนำให้จุลินทรีย์สร้างเอนไซม์ของ กระบวนการร่วมย่อยสลายแบบใช้ออกซิเจนของไตรคอลลอโรเอทิลีน ดังนี้

มีเทน (Methane)

Little และคณะ(1988) ทำการศึกษาการย่อยสลายของไตรคอลลอโรเอทิลีน เอนไซม์ Methane monooxygenase (MMO) ทดลองกับน้ำใต้ดินที่มีการปนเปื้อนไตรคอลลอโรเอทิลีน โดยสามารถย่อยสลายไตรคอลลอโรเอทิลีนได้มากกว่าร้อยละ 40 ในระยะเวลา 20 วัน ซึ่งมีอัตราการย่อยสลายสูงสุดในช่วงระยะเวลา 2 ถึง 6 วัน และมีผลผลิตสุดท้ายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณร้อยละ 40.1 ถึง 42.7

Oldenhuis และคณะ(1989) และ Tsien และคณะ (1989) รายงานว่าจุลินทรีย์ชนิด *Mthylsinus trichosporium* OB3b ซึ่งสร้าง soluble methane monooxygenase (sMMO) สามารถย่อยสลายไตรคอลลอโรเอทิลีน ไวนิลคลอไรด์ และไดคลอโรเอทิลีนไอโซเมอร์ได้ และไตรคอลลอโรเอทิลีน อาจเป็นพิษกับ จุลินทรีย์ด้วย ต่อมา DiSpirito และคณะ(1992) รายงานว่า *Mthylsinus trichosporium* OB3b สามารถสร้าง particulate methane monooxygenase (pMMO) ซึ่งย่อยสลายไตรคอลลอโรเอทิลีน ไดคลอโรเอทิลีนไอโซเมอร์ และไวนิลคลอไรด์ได้ในอัตราต่ำกว่าเอนไซม์ sMMO Arp และคณะ (2001) พบว่า sMMO เป็นส่วนย่อยของเมทาโนโทรป และจะเกิดเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของคอปเปอร์ต่ำ ในขณะที่เอนไซม์ pMMO จะพบมากในเมทาโนโทรปและสามารถเกิดในสภาวะทั่วไปที่มีของคอปเปอร์ได้

McCarty และคณะ(1997) พบว่า การใช้เอนไซม์ Methane monooxygenase (MMO) ในการย่อยสลายของมีเทนและการร่วมย่อยสลายไตรคอลลอโรเอทิลีน เกิดการแก่งแย่งกันระหว่างซับสเตรตกับไตรคอลลอโรเอทิลีน (Competition Inhibition) ส่งผลให้อัตราการย่อยสลายของไตรคอลลอโรเอทิลีน ลดลง

โทลูอีน (Toluene) และฟีนอล (Phenol)

Hopkins และคณะ (1993a) ทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการใช้โทลูอีน ฟีนอล มีเทน และแอมโมเนียเป็นซับสเตรตในการร่วมแบบใช้อากาศ ย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน โดยฉีดออกซิเจนและซับสเตรตลงไปในบ่อสังเคราะห์ที่ขุดลงไปใต้น้ำใต้ดิน ณ Moffett Field test site (California) เพื่อกระตุ้นให้จุลินทรีย์สร้างเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน ผลการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์ที่ใช้โทลูอีนและฟีนอลเป็นซับสเตรต เพิ่มจำนวนมากกว่าและเร็วกว่าจุลินทรีย์ที่ใช้มีเทนและแอมโมเนียเป็นสารอาหาร ประสิทธิภาพในการบำบัดไตรคลอโรเอทิลีนร้อยละ 71 , 58 , 6 และ 2 เมื่อใช้โทลูอีน ฟีนอล มีเทน และแอมโมเนียเป็นซับสเตรตตามลำดับ โดยโทลูอีนมี ประสิทธิภาพในการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนดีที่สุด แต่งานวิจัยในภาคสนามนิยมใช้ฟีนอลเป็น สารอาหารเพราะว่าฟีนอลมีพิษน้อยกว่าโทลูอีน ฟีนอลละลายน้ำได้ดีกว่าโทลูอีนและระเหยกลายเป็น ไอได้น้อยกว่าโทลูอีน จึงง่ายที่จะเตรียมเป็น stock solution ไว้สำหรับใช้งานในภาคสนาม

Hopkins และคณะ (1993b) ทำการทดลองต่อเนื่องโดยทำการทดลองในภาคสนามและใน ห้องปฏิบัติการเพื่อนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกัน โดยฉีดฟีนอลความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และออกซิเจน 35 มิลลิกรัมต่อลิตรลงไปในบ่อสังเคราะห์ที่ขุดลงไปใต้น้ำใต้ดินที่ Moffett Field test site (California) พบว่าประสิทธิภาพในการย่อยสลาย TCE ร้อยละ 88 เมื่อความเข้มข้นของ TCE อยู่ ในช่วง 62 ถึง 500 ไมโครกรัมต่อลิตร และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ TCE เป็น 1000 ไมโครกรัมต่อลิตร ประสิทธิภาพในการย่อยสลาย TCE ลดลงเหลือร้อยละ 77 และประสิทธิภาพในการย่อยสลาย TCE เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 90 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของฟีนอลเป็น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ความเข้มข้น ของ TCE ยังคงเท่าเดิมคือ 1000 ไมโครกรัมต่อลิตร

Hopkins and McCarty (1995) ทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้โทลูอีนเป็นซับสเตรตแทนฟีนอล และใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นตัวรับอิเล็กตรอนแทนออกซิเจน จากการศึกษาพบว่าการเปลี่ยน ซับสเตรตจากฟีนอลเป็นโทลูอีนในช่วงเวลาที่ 980 ของการทดลอง จุลินทรีย์สามารถปรับตัวและย่อย สลายไตรคลอโรเอทิลีนได้อย่างต่อเนื่อง และมี *o*-cresol เกิดขึ้นในบ่อ แสดงว่าในน้ำใต้ดินอาจมี จุลินทรีย์ *Pseudomonas cepacia* G4 ใช้ฟีนอลและโทลูอีนเป็นซับสเตรตสร้างเอนไซม์ Toluene *ortho*-monooxygenase ส่วนในช่วงเวลาที่ 1680 ของการทดลองได้ใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แทน ออกซิเจน พบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ใช้เป็นตัวรับอิเล็กตรอนแทนออกซิเจนได้โดยไม่มีผลกระทบต่อ การย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน

Chang and Alvarez-Cohen (1995a) ทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพจุลินทรีย์ที่ใช้ก๊าซมีเทน ก๊าซโปรเพน โทลูอีน และฟีนอล เป็นซับสเตรตในการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน (TCE) 1,2-ไดคลอโรอีเทน (1,2-DCA) และคลอโรฟอร์ม (CF) โดยนำจุลินทรีย์มาจากดินในหลุมฝังกลบขยะที่ Berkley (California) ใช้ก๊าซมีเทนและก๊าซโปรเพนเป็นซับสเตรต และนำจุลินทรีย์มาจากน้ำใต้ดินที่ Livermore (California) ใช้โทลูอีนและฟีนอลเป็นซับสเตรต ผลการทดลองพบว่า จุลินทรีย์ที่ใช้ก๊าซมีเทน ก๊าซโปรเพนเป็นซับสเตรตสามารถสร้างเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายสารประกอบคลอรีนที่อิ่มตัวและไม่อิ่มตัว (saturated and unsaturated chlorinated organics) ได้แก่ ไตรคลอโรเอทิลีน 1,2-ไดคลอโรอีเทนและคลอโรฟอร์ม ส่วนจุลินทรีย์ที่ใช้โทลูอีนและฟีนอลเป็นซับสเตรตสามารถสร้างเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายสารประกอบคลอรีนที่ไม่อิ่มตัวคือไตรคลอโรเอทิลีนได้เท่านั้น ส่วน 1,2-ไดคลอโรอีเทน คลอโรฟอร์ม และสารประกอบคลอรีนที่อิ่มตัวชนิดอื่น จุลินทรีย์ที่ใช้โทลูอีนและฟีนอลเป็นซับสเตรตไม่สามารถย่อยสลายได้

Chang และคณะ (1995b) ได้ศึกษาหาค่า Transformation Capacity ในการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนของจุลินทรีย์ที่ใช้โทลูอีน และฟีนอลเป็นซับสเตรต พบว่า TCE epoxide มีพิษต่อจุลินทรีย์ที่ใช้ทั้งโทลูอีนและฟีนอลเป็นซับสเตรต ผลการศึกษา T_c มีค่าเท่ากับ 0.0073 และ 0.031 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอทิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ ตามลำดับ จากค่า T_c ที่ได้ แสดงให้เห็นว่า TCE epoxide มีพิษต่อจุลินทรีย์ที่ใช้โทลูอีนเป็นซับสเตรตมากกว่าจุลินทรีย์ที่ใช้ฟีนอลเป็นซับสเตรต

Fries และคณะ (1997b) ทำการทดลองโดยนำจุลินทรีย์มาจากน้ำใต้ดินที่ Moffett Field test site (California) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ใช้โทลูอีนและฟีนอลเป็นซับสเตรต มาทำการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการใช้โทลูอีนและฟีนอลเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการย่อยสลายสารไตรคลอโรเอทิลีน ผลการทดลองพบว่าร้อยละ 8 ของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้นั้นเติบโตได้โดยใช้โทลูอีนเป็น ซับสเตรตเพียงชนิดเดียวร้อยละ 35 ของจุลินทรีย์ที่นำมาเติบโตได้โดยใช้ฟีนอลเป็น ซับสเตรตเพียงชนิดเดียว และร้อยละ 57 ของจุลินทรีย์ที่นำมาเติบโตได้โดยใช้ทั้งโทลูอีนและฟีนอลเป็นซับสเตรต จุลินทรีย์ที่เติบโตโดยใช้ฟีนอลเป็นซับสเตรตย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนได้ดีกว่าจุลินทรีย์ที่เติบโตโดยใช้โทลูอีนเป็นซับสเตรต โดยจุลินทรีย์ที่เติบโตโดยใช้โทลูอีนและฟีนอลเป็นซับสเตรตใช้เอนไซม์ชนิดเดียวกันในการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนคือเอนไซม์ Toluene ortho-monooxygenase

Bielefeldt และคณะ (1995) ทำการทดลองใช้จุลินทรีย์ชนิดเส้นใย (Filamentous bacteria) ซึ่งนำมาจากลำธารใน University of Washington ย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีน (TCE) และไดคลอโรเอเททิลีน (DCE) โดยใช้ฟีนอลเป็นซับสเตรต ผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์ชนิดเส้นใยสามารถย่อยสลาย ไตรคลอโรเอเททิลีนได้ในอัตรา 0.28 ถึง 0.51 g-TCE/g-VSS-d และย่อยสลายไดคลอโรเอเททิลีนได้ในอัตรา 0.27 ถึง 1.5 g-DCE/g-VSS-d แต่ไม่สามารถย่อยสลายเตตระคลอโรเอเททิลีน (PCE) 1,1,1-ไตรคลอโรอีเทน (TCA) และคลอโรฟอร์ม (CF) ได้ โดยผลผลิตจากการย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนและไดคลอโรเอเททิลีนไม่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ และเกิดการยับยั้งปฏิกิริยา (Competitive inhibition) ที่ความเข้มข้นของฟีนอลมากกว่า 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเททิลีนมากกว่า 130 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของไดคลอโรเอเททิลีนมากกว่า 83 มิลลิกรัมต่อลิตร

Futamata และคณะ (2001a) ศึกษาและเปรียบเทียบการย่อยสลายของไตรคลอโรเอเททิลีนและการย่อยสลายของฟีนอล พบว่าฟีนอลถูกใช้ เป็นซับสเตรตในการย่อยสลายของเอนไซม์มากกว่า ไตรคลอโรเอเททิลีนแสดงให้เห็นว่า ไตรคลอโรเอเททิลีนไม่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟีนอล และพบว่าความเข้มข้นของฟีนอลจะส่งผลต่อการนำมาใช้ในกระบวนการย่อยสลาย รวมทั้งศึกษาหาค่าค่าคงที่การอิ่มตัว (Half-saturation concentration) ทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการย่อยสลายของไตรคลอโรเอเททิลีนอยู่ระหว่าง 11 ไมโครกรัมและ 800 ไมโครกรัม

cis-Dichloroethylene

Coleman และคณะ (2002a) ได้ทำการทดลองใช้ c-DCE เป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอนในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์ที่ใช้ c-DCE เป็นซับสเตรตได้คือ *Polaromonas vacuolata* strain JS666 โดยใช้เวลาในการเจริญเติบโตประมาณ 73 ชั่วโมง จุลินทรีย์นี้สามารถย่อยสลาย 1,2-ไดคลอโรอีเทน (1,2-DCA) ไตรคลอโรเอเททิลีน ทรานส์-1,2- ไดคลอโรเอเททิลีน (*trans*-DCE) ซิส-1,2-ไดคลอโรเอเททิลีน (*cis*-DCE) และไวนิลคลอไรด์ (VC) ได้ ผลผลิตขั้นแรกที่ได้จากการย่อยสลายคือ Epoxyethane ซึ่งเป็นการประหยัคค่าใช้จ่ายในกรณีที่มีซิส-ไดคลอโรเอเททิลีน (*cis*-DCE) ปนเปื้อนและใช้ซิส-ไดคลอโรเอเททิลีน (*cis*-DCE) เป็นซับสเตรตในการบำบัด

VinylChloride

Hartmans และคณะ (1992) ได้คัดแยกจุลินทรีย์ *Mycobacterium aurum* L1 จากดินที่มีการปนเปื้อน VC และใช้ VC เป็นซับสเตรต พบว่าจุลินทรีย์ชนิดนี้ย่อยสลาย VC เป็น epoxide-chlorooxirane โดยเอนไซม์ alkene monooxygenase และจุลินทรีย์ชนิดนี้ย่อยสลาย DCE ได้แต่ไม่สามารถเติบโตโดยใช้ DCE เป็นซับสเตรต แต่จุลินทรีย์ชนิดนี้ย่อยสลาย TCE ไม่ได้ ต่อมา Coleman และคณะ (2002b) ได้ทำการทดลองใช้ไวนิลคลอไรด์ (VC) เป็นซับสเตรตสำหรับจุลินทรีย์ โดยคัดแยกจุลินทรีย์จากดินที่มีการปนเปื้อน ไวนิลคลอไรด์ และน้ำเสียจากระบบเอเอส (Activated sludge) พบว่าจุลินทรีย์ที่ใช้ VC เป็น ซับสเตรตได้มี 12 ชนิด คือ *Mycobacterium* strains 11 ชนิด และ *Nocardioides* strain 1 ชนิด ซึ่งจุลินทรีย์ทั้ง 12 ชนิดสามารถใช้ ethene เป็นซับสเตรตได้เช่นกันโดยมี VC เป็นตัวชักนำให้จุลินทรีย์สร้างเอนไซม์ ethene monooxygenase ส่วน Verce และคณะ (2000) ได้ทำการทดลองใช้ไวนิลคลอไรด์ (VC) เป็นซับสเตรตสำหรับจุลินทรีย์เช่นเดียวกัน โดยคัดแยกจุลินทรีย์จากน้ำเสียระบบเอเอส (Activated sludge) ที่ Urbana (Illinois) พบว่าจุลินทรีย์ใช้ VC เป็นซับสเตรตได้เช่นกัน โดย VC ถูกย่อยสลายเป็น VC epoxide จุลินทรีย์จะไม่ใช้ VC เป็นซับสเตรต ในกรณีที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน และจุลินทรีย์ที่ใช้ ethene เป็นซับสเตรตสามารถปรับตัวได้อย่างต่อเนื่องเมื่อเปลี่ยนซับสเตรตจาก ethene เป็น VC แต่ VC เป็นซับสเตรตที่มีพิษ มีราคาแพงและจุลินทรีย์ที่ใช้ VC เป็นซับสเตรตมีค่า Y_{obs} ต่ำกว่า ethene ในการทำงานภาคสนามจึงควรใช้ ethene เป็นซับสเตรตเพื่อกระตุ้นให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนก่อนแล้วตามด้วย VC

โพรพิลีน (Propylene)

Ensign และคณะ (1992) ได้ทำการศึกษาจุลินทรีย์ชนิด *Xanthobacter* Strain Py2 ที่ใช้ก๊าซ propylene เป็นซับสเตรตในการย่อยสลายสารประกอบ Chlorinated alkenes ผลปรากฏว่าจุลินทรีย์ได้สร้างเอนไซม์ alkene monooxygenase ย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีน ทรานส์-1,2-ไดคลอโรเอเททิลีน ซิส-1,2-ไดคลอโรเอเททิลีน 1,3-ไดคลอโรโพรพิลีน 2,3-ไดคลอโรโพรพิลีน และ ไวนิลคลอไรด์ ได้ ส่วน 1,1-ไดคลอโรเอเททิลีนและเตตระคลอโรเอเททิลีน นั้นจุลินทรีย์ชนิด *Xanthobacter* Strain Py2 ที่ใช้ก๊าซ propylene เป็นซับสเตรตย่อยสลายไม่ได้เลย เป็นที่สังเกตว่าสารประกอบ Chlorinated alkanes ที่ประกอบด้วยคาร์บอน 2 และ 3 อะตอม (C_2 and C_3 chlorinated alkanes) ไม่สามารถถูกย่อยสลายโดย จุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ alkene monooxygenase เนื่องจากสารประกอบ Chlorinated alkanes บางตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำให้ปฏิกิริยาเกิดช้าลง

บิวเทน(Butane)

Kim และคณะ (2000) ทำการทดลองศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารประกอบ Chlorinated-methane, Chlorinated-ethane และ Chlorinated-ethene โดยใช้ก๊าซบิวเทนเป็นซับสเตรต สำหรับจุลินทรีย์ ผลการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์ที่ใช้ก๊าซบิวเทนเป็นซับสเตรตสามารถย่อยสลายสารประกอบคลอโรมีเทน (CM) ไดคลอโรมีเทน (DCM), คลอโรอีเทน (CA) 1,1-ไดคลอโรอีเทน (1,1-DCA) 1,2-ไดคลอโรอีเทน (1,2-DCA) ไวนิลคลอไรด์ (VC) 1,1-ไดคลอโรเอทิลีน (1,1-DCE) ซิส-ไดคลอโรเอทิลีน (*cis*-DCE) ได้ และเอนไซม์ที่ถูกสร้างในการย่อยสลายสารประกอบดังกล่าวคือ เอนไซม์ Butane monooxygenase แต่จุลินทรีย์ที่ใช้ก๊าซบิวเทนเป็นซับสเตรตไม่สามารถย่อยสลายสารไตรคลอโรเอทิลีนได้ เป็นที่สังเกตได้ว่าสารประกอบ Chlorinated-Hydrocarbon ดังกล่าวที่มีคลอรีนประกอบอยู่ในคาร์บอนหนึ่งอะตอม (All chlorines on one carbon) ถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าสารประกอบ Chlorinated-Hydrocarbon ที่มีคลอรีนประกอบอยู่ในคาร์บอนทั้งสองอะตอม (Chlorine on both carbons)

Tetrabutoxysilane (TBOS)

Vancheewaran และคณะ (1999) ทำการทดลองใช้ tetrabutoxysilane (TBOS) เป็นซับสเตรตสำหรับจุลินทรีย์เพื่อย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน และซิส-ไดคลอโรเอทิลีน (*cis*-DCE) โดยนำจุลินทรีย์ มาจากระบบเอเอส (Activated Sludge) ที่ Corvallis (Oregon) เลี้ยงด้วย TBOS สาร TBOS นี้ชักนำให้ จุลินทรีย์สร้างเอนไซม์ monooxygenase ได้แต่เอนไซม์นี้ไม่จำเป็นในการย่อยสลาย TBOS และ TBOS ถูกไฮโดรไลซิสได้เร็วกลายเป็น 1-butanol ซึ่งใช้เป็นซับสเตรตสำหรับจุลินทรีย์ได้เช่นกัน ผลการทดลองพบว่า จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน และซิส-ไดคลอโรเอทิลีน (*cis*-DCE)

ฟรุกโตส (Fructose)

Muller และ Babel (1995) คำนวณหาค่าคงที่การอิ่มตัว (Half-saturation concentration ; K_s) ทางจลนพลศาสตร์ของการเจริญเติบโตของ *Alcaligenes eutrophus* บนพีนอล กรด 2,4-Dichlorophenoxyacetic และฟรุกโตส ในการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนพบว่ามีค่าเท่ากับ 11, 59 และ 14 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับและตัวคงที่อัตราการเจริญเติบโตสูงสุด เท่ากับ 0.215, 0.39 และ 0.43 ต่อชั่วโมง ซึ่งค่าทางจลนพลศาสตร์บ่งบอกถึงปริมาณความเข้มข้นของซับสเตรต และสามารถทำนายแนวโน้มของกระบวนการได้

กลูโคส(Glucose)

Ensign และคณะ (1996) ได้ทำการศึกษาจุลินทรีย์ชนิด *Xanthobacter* Strain Py2 ที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอนในการเจริญเติบโต และเติมก๊าซ propylene เพื่อเป็นตัวชักนำให้จุลินทรีย์สร้าง เอนไซม์ ผลปรากฏว่าจุลินทรีย์ได้สร้างเอนไซม์ alkene monooxygenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายไตรคลอโรเอเทอรีนได้ ต่อมา Gao และ Skeen (1999) ได้ทำการทดลองใช้กลูโคสเป็น ชั้บสเตรตในการบำบัดซิส - ไคคลอโรเอเทอรีน (*cis*-DCE) เนื่องจากกลูโคสสามารถละลายน้ำได้ดี ไม่ถูกติดไฟและไม่เป็นพิษ โดยจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองนำมาจากตะกอนของ Yakima River delta (Washington State), Dover Air Force Base (Delaware) และ Strother Field (Kansas) ผลการทดลองในชุดการทดลองที่เติมทั้งกลูโคสและออกซิเจนพบว่าซิส-ไคคลอโรเอเทอรีน (*cis*-DCE) ลดลงคลอไรด์ไอออน (Cl⁻) เพิ่มขึ้น จึงสรุปได้ว่าสามารถใช้กลูโคสเป็นชั้บสเตรตในการย่อยสลายซิส-ไคคลอโรเอเทอรีน (*cis*-DCE) ได้ ส่วนผลการทดลองในชุดการทดลองที่ไม่เติมกลูโคสแต่เติมออกซิเจนพบว่าในการทดลองที่ใช้ตะกอนจาก Yakima River delta มีซิส - ไคคลอโรเอเทอรีน (*cis*-DCE) ลดลง อาจเป็นเพราะว่าตะกอนจาก Yakima River delta มีสารอินทรีย์จำพวก cellulose , mannose , xylose , ribose และ galactose เป็นส่วนประกอบซึ่งสารอินทรีย์เหล่านี้สามารถชักนำให้จุลินทรีย์สร้างเอนไซม์ในการย่อยสลายซิส-ไค-คลอโรเอเทอรีน (*cis*-DCE) ได้

เทอร์ปีน (Terpene)

Suttinun (2003) ทำการทดลองศึกษานำสารเทอร์ปีน (Terpene) ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในน้ำมันหอมระเหยของพืชมาเป็นชั้บสเตรตสำหรับการเจริญเติบโต และชักนำให้จุลินทรีย์สร้างเอนไซม์แทนโทลูอิน ฟีนอลและมีเทน และใช้จุลินทรีย์ *Rhodococcus gordoniae* P3 และ *Pseudomonas* sp.T1 ที่คัดแยกได้จากดินในท้องถิ่นมาย่อยสลายสารไตรคลอโรเอเทอรีนในดินที่ปนเปื้อน สารเทอร์ปีนที่นำมาทดสอบคือคิวมิน ไลโมนีน คาร์โวน และไพเนน ทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ ผลการทดลองพบว่าสารเทอร์-ปีนที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ คิวมิน โดยจุลินทรีย์ *Rhodococcus gordoniae* P3 ที่ชักนำด้วยคิวมินความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร และจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.T1 ที่ชักนำด้วย คิวมินความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถย่อยสลายไตรคลอโรเอเทอรีนที่ความเข้มข้น 10 ส่วนในล้านส่วนได้ร้อยละ 76 และร้อยละ 61 ตามลำดับภายในเวลา 24 ชั่วโมง

แล็กเตต (Lactate)

Munakata-Marr และคณะ (1996) ศึกษาการใช้แล็กเตต ในการร่วมย่อยสลายแบบใช้อากาศ ที่ Moffett Field test site (California) ในชั้นดินและชั้นน้ำใต้ดินที่มีการปนเปื้อนสารไตรคลอโรเอทิลีนโดยจุลินทรีย์ชนิด *Burkholderia cepacia* G4 และ PR1₃₀₁ แต่ในระยะยาวความสามารถในการย่อยสลายจะลดลง

เบนซิลแอลกอฮอล์ (Benzyl alcohol)

Tejasen (2003) ได้ศึกษาค้นคว้าหาซบสเตรตชนิดอื่น ๆ มาใช้ในการร่วมย่อยสลายแบบใช้อากาศ ของไตรคลอโรเอทิลีน ซีส-ไดคลอโรเอทิลีน และไวนิลคลอไรด์ ผลการวิจัยพบว่า การบำบัดไตรคลอโรเอทิลีนมีประสิทธิภาพดีจากการใช้เบนซิลแอลกอฮอล์หรือฟินอลเป็นซบสเตรต โดยผลของการบำบัดคิดเป็นอัตราส่วนไวนิลคลอไรด์ ซีส-ไดคลอโรเอทิลีน และไตรคลอโรเอทิลีนที่บำบัดได้ต่อปริมาณเบนซิลแอลกอฮอล์ที่ใช้ 0.048 0.117 และ 0.016 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอทิลีนต่อมิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์ ตามลำดับ เนื่องจากเบนซิลแอลกอฮอล์เป็นสารที่ไม่มีพิษจึงเป็นสารที่น่าสนใจในการบำบัดไตรคลอโรเอทิลีนในภาคสนาม

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

- เครื่อง GC - FID : Gas Chromatography
- เครื่อง HPLC : High Performance Liquid Chromatography
- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)
- เครื่องเขย่า (Rotary Shaker)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Refrigerated Centrifuge)
- เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave)
- เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้าแบบละเอียด (Analytical Balance)
- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow)
- ขวดซีรัม (Serum Bottle)
- แผ่นรองขวดซีรัมชนิดเทฟลอน (Teflon – lined rubber Septum)
- ฝาปิดฝาอลูมิเนียม (Aluminum Crimp Cap)
- เครื่องแก้วตวงวัดปริมาตร
- อุปกรณ์ป้องกันความปลอดภัย (หน้ากาก , แวนตา)

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- ไตรคลอโรเอทิลีน (Trichloroethylene)
- โทลูอีน (Toluene)
- เบนซิลแอลกอฮอล์ (Benzyl alcohol)
- เมอคิวริก คลอไรด์ (Mercuric chloride)
- สารอาหารต่าง ๆ (Nutrients) ตามตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของสารละลาย Basal Salts Medium (Yeager และคณะ, 1999)

ชื่อสารเคมี	สูตรทางเคมี	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)
โปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	KH_2PO_4	6,800
โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	K_2HPO_4	8,700
โซเดียมไนเตรต	NaNO_3	531
แมกนีเซียมซัลเฟต	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	200
แคลเซียมซัลเฟต	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	46.24
ไดโซเดียม อีดีทีเอ	disodium EDTA	10.00
เฟอร์รัสซัลเฟต	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.55
บอริกแอซิด	H_3BO_3	1.43
แมงกานีสซัลเฟต	$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.02
ซิงค์ซัลเฟต	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.32
โคบอลต์ซัลเฟต	$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.10
คอปเปอร์ซัลเฟต	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.08
โซเดียมโมลิบดินัมออกไซด์	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.05

หมายเหตุ ก่อนนำอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal Salts Medium มาใช้ต้องนำไปนึ่งฆ่าเชื้อโรคด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

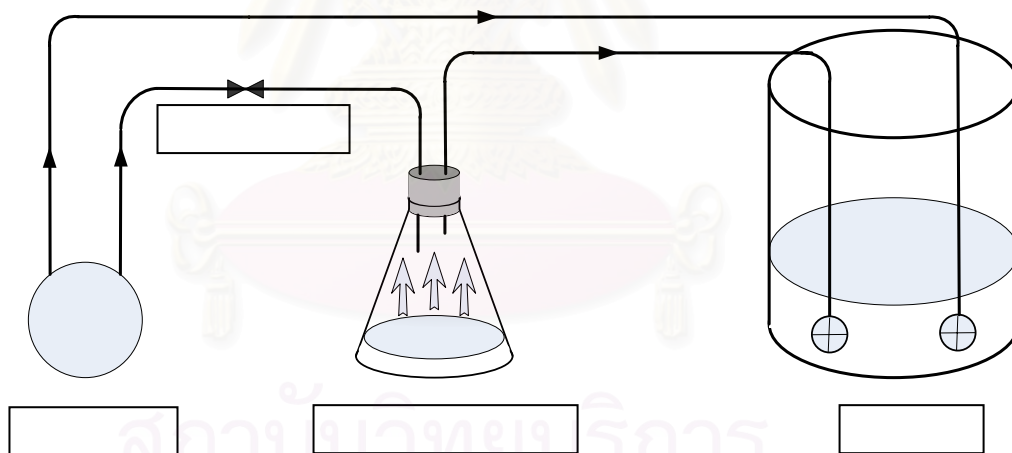
3.2 การดำเนินการทดลอง

การวิจัยในครั้งนี้ดำเนินการที่ศูนย์อ้างอิงทางห้องปฏิบัติการและพิษวิทยา สำนักโรคจากกรประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข โดยกำหนดแผนการวิจัยให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัยดังนี้

3.2.1 การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถโตบนโทลูอีน

(Enrichment of Toluene grown mixed culture)

- (1) นำน้ำเสียในถังเติมอากาศของโรงบำบัดน้ำเสียสี่พระยามาเป็นเชื้อจุลินทรีย์
- (2) เตรียมสารละลาย Basal Salts Medium (BSM) ที่มีส่วนประกอบตามตารางที่ 4.1 เพื่อใช้ในการเลี้ยงเชื้อ
- (3) ปรับ pH ของสารละลาย BSM ให้เป็น 7 ด้วย NaOH
- (4) เติมสารละลาย BSM ปริมาณ 900 มิลลิลิตร และเติมน้ำเสียจากถังเติมอากาศของโรงบำบัดน้ำเสียสี่พระยาปริมาณ 100 มิลลิลิตร ลงในขวดโหลแก้ว พร้อมทั้งเติมอากาศ และทิ้งไว้ 1 วัน
- (5) เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ด้วยไอระเหยของโทลูอีน (ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.5) ดังรูปที่ 3.1 เพื่อกระตุ้นให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถโตบนโทลูอีน ระยะเวลาในการเลี้ยงประมาณ 2-3 เดือน (ลำดับขั้นตอนการทดลองแสดงไว้ดังรูปที่ 3.2)



รูปที่ 3.1 การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถโตบนซีสเตรตชนิดโทลูอีนได้

3.2.2 การทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน (เชื้อจุลินทรีย์จากการทดลองขั้นตอนที่ 3.2.1)

- (1) เตรียมสารละลาย BSM และองค์ประกอบอื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลอง โดยบรรจุลงในขวดทดสอบขนาด 20 มิลลิลิตรจำนวน 9 ขวด ขวดละ 3 ขวดทดสอบ ตามสัดส่วนที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 3.2
- (2) นำขวดทดสอบทั้งหมดใส่ลงในเครื่องเขย่า ตั้งความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าจนกระทั่งขวดทดสอบที่ 5 ถึง 9 มีความขุ่นเกิดขึ้น

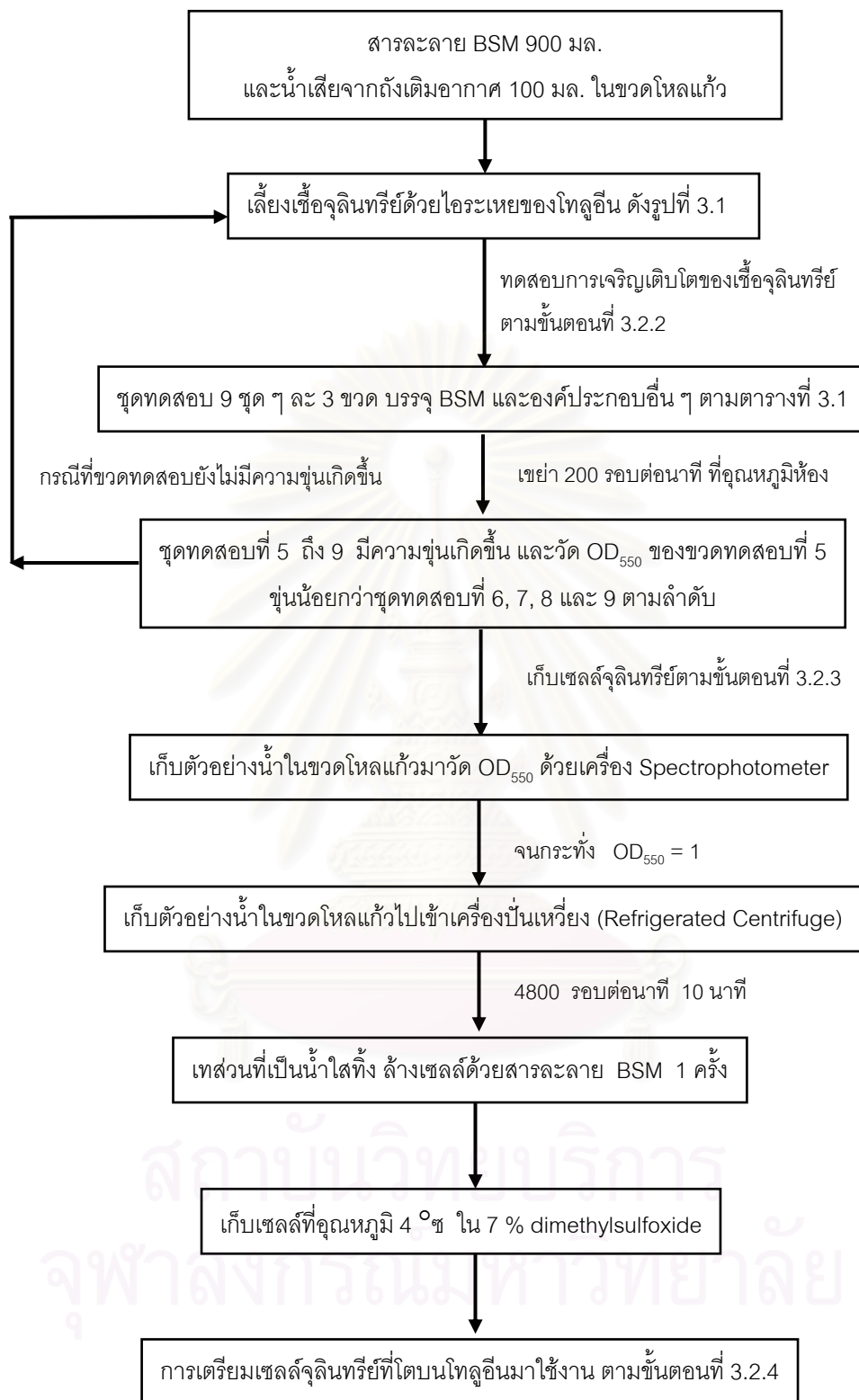
ตารางที่ 3.2 องค์ประกอบที่บรรจุลงในขวดทดสอบจำนวน 9 ขวด ตามสัดส่วนที่ต่างกัน

ชุดที่	BSM (ml)	Toluene (mg/l)	Seed (ml)	HgCl ₂ (mg/l)	หมายเหตุ
1	10	0	0	0	Media control
2	10	100	0	0	Substrate control
3	10	100	0.1	1	Nonbiotic control
4	10	0	0.1	0	Seed control
5	10	10	0.1	0	-
6	10	50	0.1	0	-
7	10	100	0.1	0	-
8	10	300	0.1	0	-
9	10	500	0.1	0	-

- (3) วัดค่าความขุ่นที่เกิดขึ้นโดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร (Optical density ที่ 550 nm ; OD₅₅₀) ของขวดทดสอบทั้งหมด โดยค่า OD₅₅₀ ของขวดทดสอบที่มีความเข้มข้นของโทลูอินน้อยควรมีค่าน้อยกว่าค่า OD₅₅₀ ของขวดทดสอบที่มีความเข้มข้นของโทลูอินมาก ตัวอย่างเช่น ขวดทดสอบที่ 5 ควรจะมีค่า OD₅₅₀ น้อยกว่าขวดทดสอบที่ 6, 7, 8 และ 9 ตามลำดับ สำหรับขวดทดสอบที่ 1 ถึง 4 ซึ่งเป็นชุดควบคุมควรจะมีค่า OD₅₅₀ ได้ใกล้เคียง 0 แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตบนโทลูอินได้ จึงจะนำเชื้อจุลินทรีย์ที่เลี้ยงไว้ในขวดโหลแก้วตามขั้นตอนการทดลองที่ 3.2.1 มาทำการปั่น เหวี่ยง และเก็บเซลล์เพื่อการใช้งานต่อไป (ลำดับขั้นตอนการทดลองแสดงไว้ดังรูปที่ 3.2)

3.2.3 การเก็บเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโหลอิน (เชื้อจุลินทรีย์ที่เลี้ยงไว้จากการทดลองขั้นตอนที่ 3.2.1)

- (1) เก็บตัวอย่างน้ำในขวดโหลแก้วมาวัดความขุ่นโดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตรจนกระทั่งได้ค่าความขุ่นเท่ากับ 1.0 (Optical density ที่ 550 nm ; OD₅₅₀)
- (2) นำน้ำในขวดโหลแก้วไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Refrigerated Centrifuge) โดยตั้งความเร็วรอบที่ 4,800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
- (3) เทส่วนที่เป็นน้ำใส่ทิ้ง ล้างเซลล์ด้วยสารละลาย BSM 1 ครั้งและเก็บเซลล์ไว้ในอุณหภูมิ - 4 องศาเซลเซียส ใน 7 % dimethylsulfoxide เพื่อนำมาใช้งานต่อไป (ลำดับขั้นตอนการทดลองแสดงไว้ดังรูปที่ 3.2)

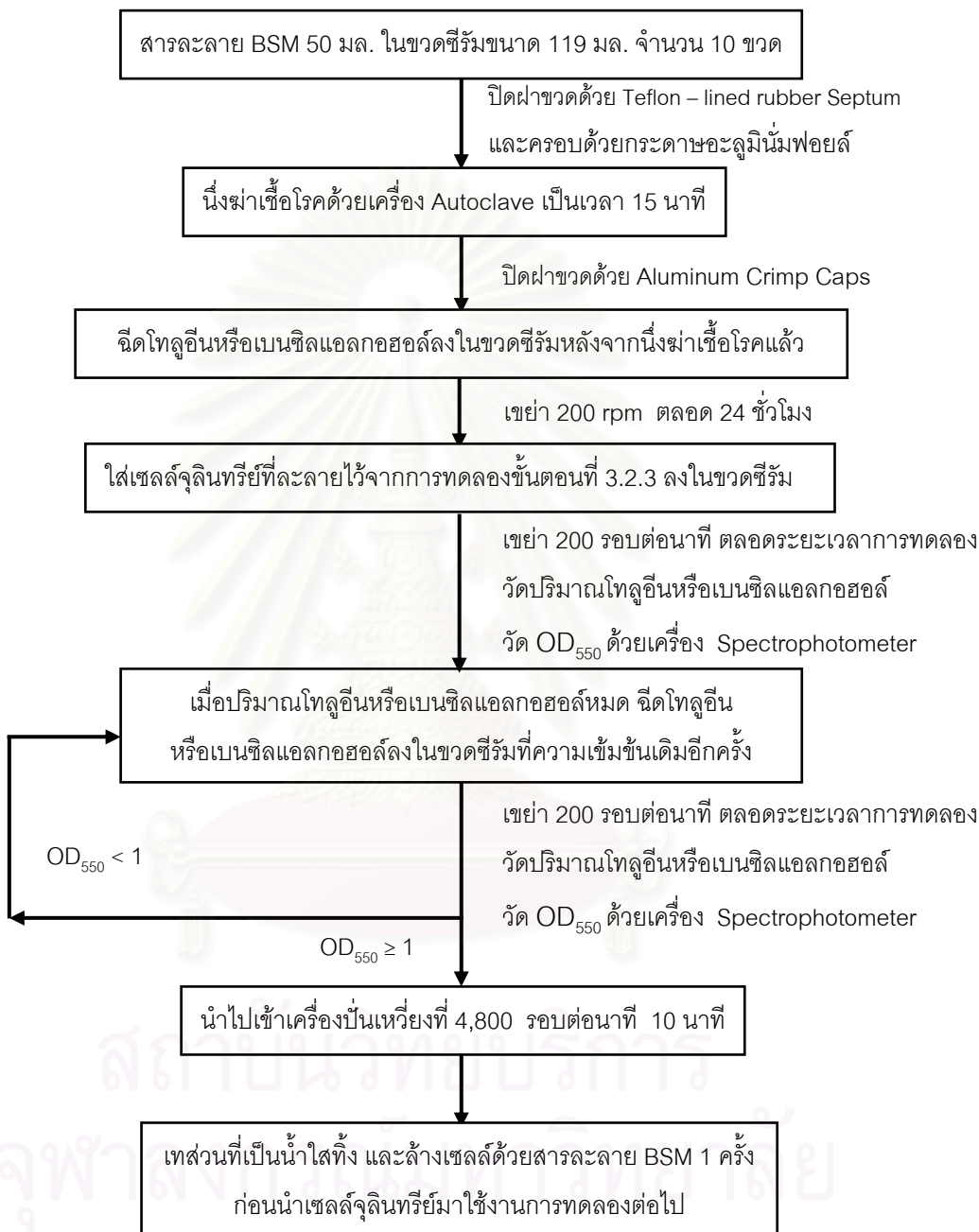


รูปที่ 3.2 แผนภาพขั้นตอนการเพิ่มจำนวน การทดสอบ การเจริญเติบโต และการเก็บเพื่อนำ
มาใช้งานของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่สามารถโตบนโกลูอิน

3.2.4 การเตรียมเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอิน และโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ (เซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินแช่เย็นไว้จากการทดลองขั้นตอนที่ 3.2.3)

- (1) ละลายเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินแช่เย็นไว้จากการทดลองในขั้นตอนที่ 3.2.3 และล้างด้วยสารละลาย BSM 1 ครั้งก่อนนำมาเลี้ยงเชื้อใหม่
- (2) เลี้ยงเซลล์จุลินทรีย์ด้วยโกลูอินหรือเบนซิลแอลกอฮอล์ใหม่ โดยใส่สารละลาย BSM ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ลงในขวดซีรัมขนาด 119 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด ปิดฝาขวด หลวม ๆ ด้วย Teflon – lined rubber septum และครอบด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยล์
- (3) นำขวดซีรัมที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อไปนึ่งฆ่าเชื้อโรคด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที
- (4) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และปิดฝาขวดให้แน่นด้วย Aluminium crimp caps
- (5) ฉีดโกลูอินหรือเบนซิลแอลกอฮอล์ให้เป็นความเข้มข้นประมาณ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในขวดซีรัมหลังจากนึ่งฆ่าเชื้อโรคแล้ว
- (6) นำขวดซีรัมที่ฉีดโกลูอินหรือเบนซิลแอลกอฮอล์แล้วใส่ลงในเครื่องเขย่า ตั้งความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาทีตลอด 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
- (7) ใส่เซลล์จุลินทรีย์แล้วลงในขวดซีรัมความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์เริ่มต้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร
- (8) นำขวดซีรัมใส่ลงในเครื่องเขย่า ตั้งความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ตลอดระยะเวลาการทดลอง ระหว่างการทดลองเติมออกซิเจนบริสุทธิ์เมื่อความดันในขวดซีรัมมีค่าน้อยกว่าความดันบรรยากาศ (เพื่อให้ปริมาณออกซิเจนมีมากพอที่จุลินทรีย์จะนำไปใช้)
- (9) วัดความเข้มข้นโกลูอินในขวดทดสอบด้วยเครื่อง GC-FID หรือเบนซิลแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง HPLC ตั้งแต่เริ่มใส่เซลล์ และเก็บตัวอย่างตามช่วงเวลาที่เหมาะสม จนกระทั่งปริมาณโกลูอินหรือเบนซิลแอลกอฮอล์หมด พร้อมทั้งวัดความขุ่นของน้ำ (OD_{550}) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer
- (10) ทำการเติมโกลูอินหรือเบนซิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรใหม่ จนกระทั่งวัดค่า OD_{550} ได้เท่ากับ 1
- (11) นำไปเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (Refrigerated Centrifuge) โดยตั้งความเร็วรอบที่ 4,800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

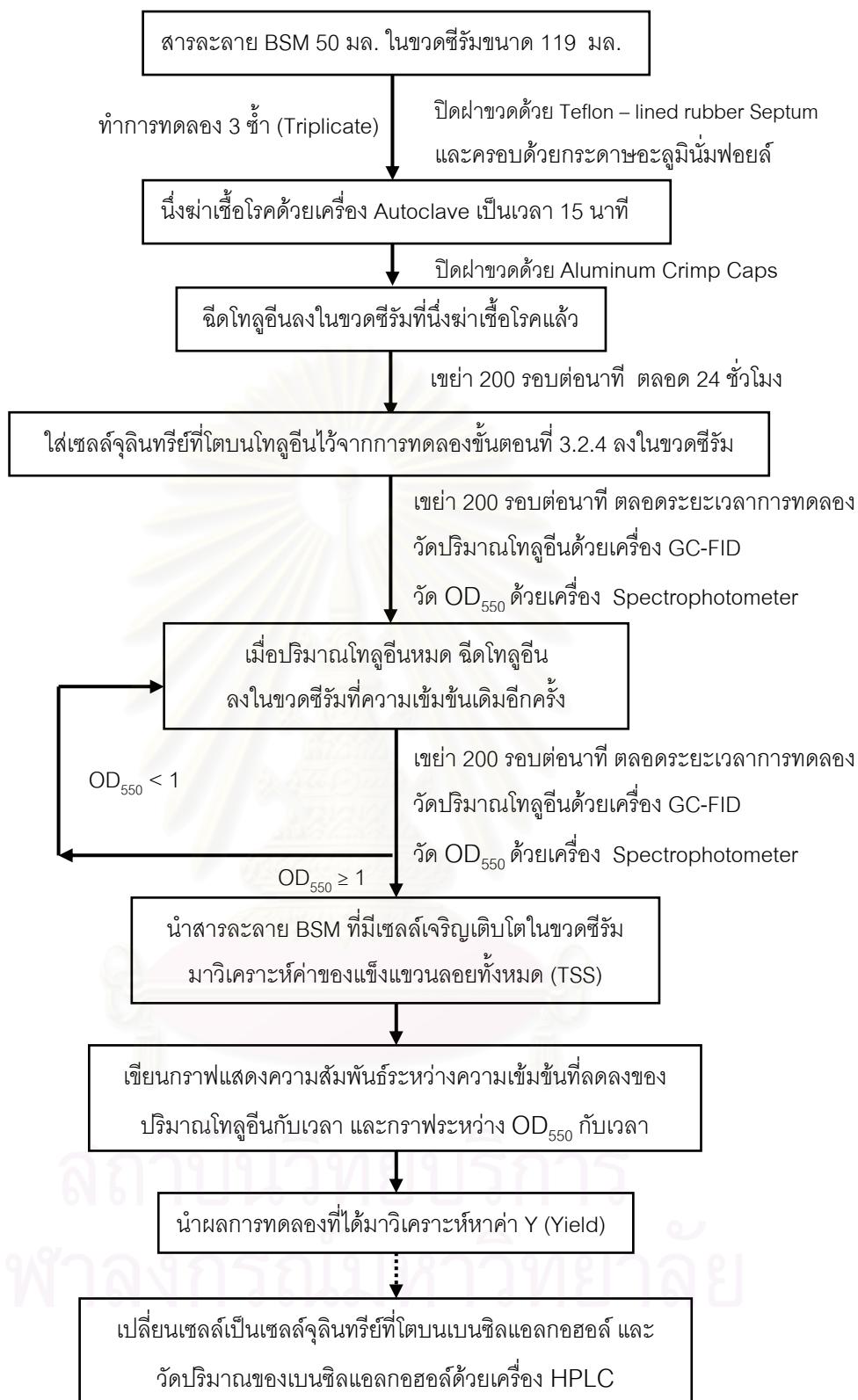
- (12) เทสส่วนที่เป็นน้ำใส่ทั้ง และล้างเซลล์ด้วยสารละลาย BSM 1 ครั้ง นำเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน และโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์มาใช้งานการทดลองต่อไป (ลำดับขั้นตอนการทดลองแสดงไว้ดังรูปที่ 3.3)



รูปที่ 3.3 แผนภาพขั้นตอนการเตรียมเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน และโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์

3.2.5 การทดลองหาค่ายิลด์ของแต่ละซีสเตรต (Growth Yield : Y)

- (1) เตรียมขวดซีรัมขนาด 119 มิลลิลิตรที่บรรจุสารละลาย BSM ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ สำหรับการทดลอง 3 ซ้ำ (Triplicate) และขวดซีรัม 1 ขวดที่ฆ่าเซลล์จุลินทรีย์ ด้วย $HgCl_2$ เพื่อใช้เป็นชุดควบคุม (เช่นเดียวกับการทดลองในขั้นตอนที่ 3.2.4)
- (2) ทำการฉีดโทลูอินลงในขวดซีรัมให้ความเข้มข้นประมาณ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากตั้งทิ้งให้เย็นแล้วและปิดฝาขวดให้แน่นด้วย Aluminium Crimp Caps
- (3) นำขวดซีรัมที่ฉีดโทลูอินแล้วใส่ลงในเครื่องเขย่า ตั้งความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาที ตลอดระยะเวลาการทดลองที่อุณหภูมิห้อง
- (4) ใส่เซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน ซึ่งเตรียมไว้จากการทดลองในขั้นตอนที่ 3.2.4 ลงในขวดซีรัม ที่ความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (การคำนวณแสดงในภาคผนวก ก.)
- (5) นำขวดซีรัมใส่ลงในเครื่องเขย่า ตั้งความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาที ตลอดระยะเวลาการทดลองที่อุณหภูมิห้อง พร้อมทั้งเติมออกซิเจนบริสุทธิ์ระหว่างทำการทดลอง
- (6) วัดความเข้มข้นของโทลูอินในขวดซีรัมด้วยเครื่อง GC-FID ตั้งแต่เริ่มใส่เซลล์ และเก็บตัวอย่างตามช่วงเวลาที่เหมาะสม จนกระทั่งปริมาณโทลูอินที่วัดได้มีค่าลดลงจนเท่ากับศูนย์ พร้อมทั้งวัดการเจริญเติบโตของเซลล์ (OD_{550}) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer
- (7) หลังจากปริมาณโทลูอินหมด ทำการเติมโทลูอินที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเรื่อย ๆ จนกระทั่งวัดค่า OD_{550} ได้เท่ากับ 1
- (8) นำสารละลาย BSM ที่มีเซลล์เจริญเติบโตในขวดซีรัมมาวิเคราะห์ค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (TSS) โดยกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอนเมตร
- (9) นำผลการทดลองที่ได้ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโทลูอินที่ลดลงกับเวลา และกราฟ OD_{550} ที่เพิ่มขึ้นกับเวลา
- (10) นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์หาค่ายิลด์ (Yield)
- (11) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1 – 10 โดยเปลี่ยนเซลล์เป็นเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์และซีสเตรตเป็นเบนซิลแอลกอฮอล์ โดยวัดความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ในขวดซีรัมด้วยเครื่อง HPLC (ลำดับขั้นตอนการทดลองแสดงไว้ดังรูปที่ 3.4)



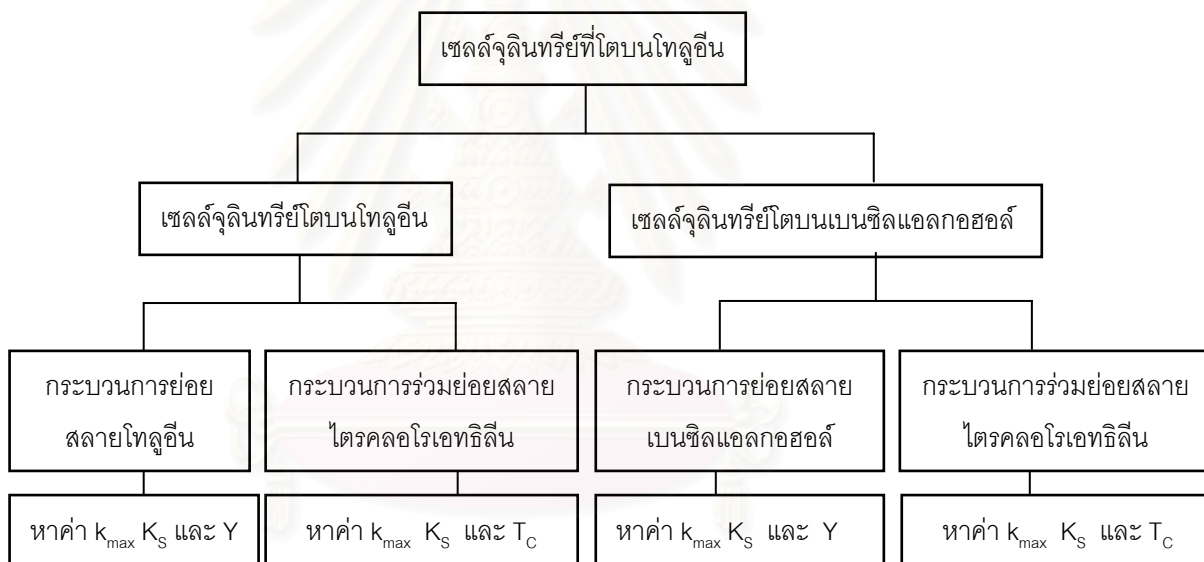
รูปที่ 3.4 แผนภาพขั้นตอนการทดลองหาค่า yield ของจุลินทรีย์ที่ใช้โกลูอิน และ เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นคาร์บอน

3.2.6 การทดลองหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ในกระบวนการร่วมย่อยสลาย ไตรโคลอโรเอเททิลีนทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน และโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์

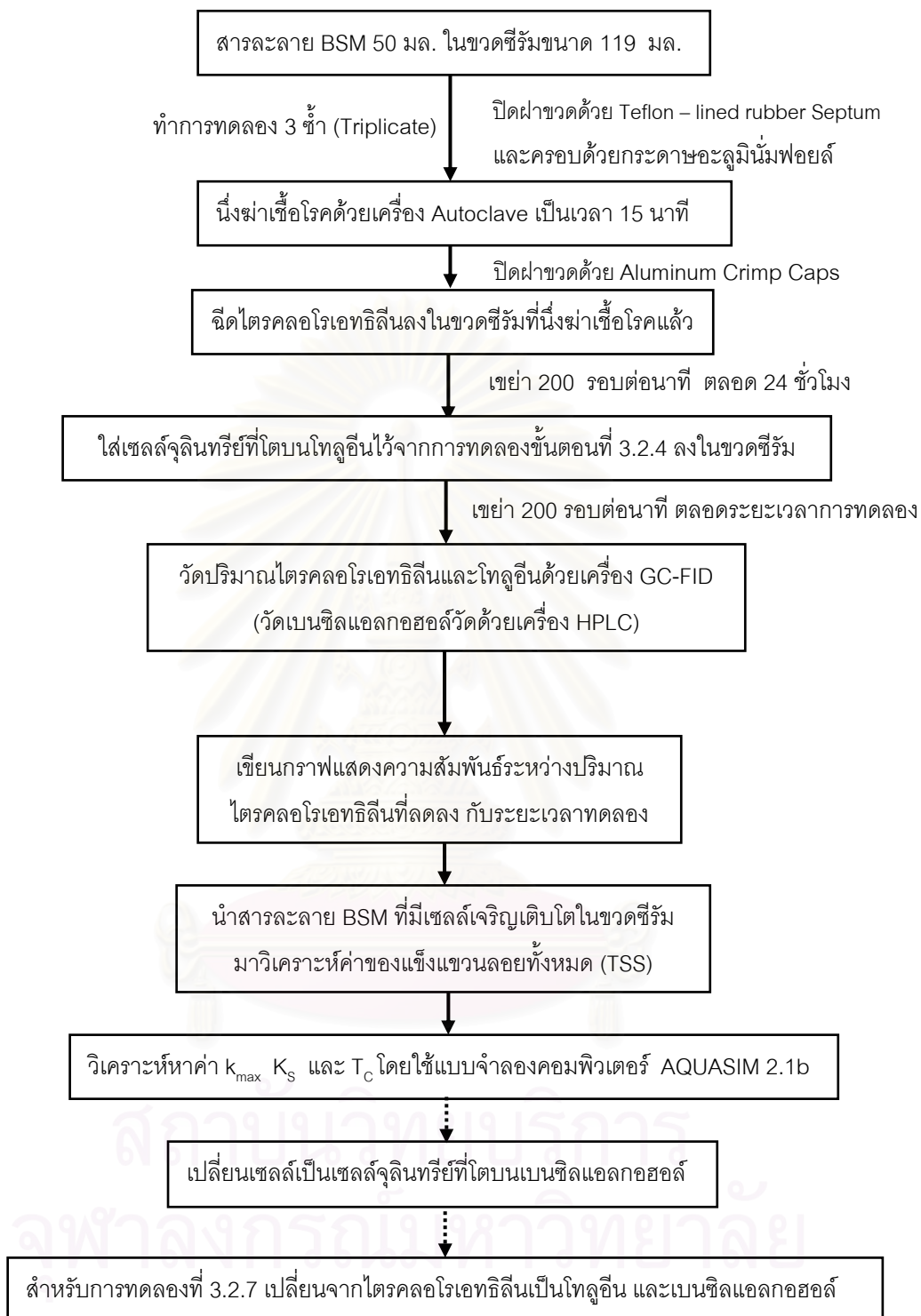
- (1) เตรียมขวดซีรัมขนาด 119 มิลลิลิตรที่บรรจุสารละลาย BSM ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ สำหรับการทดลอง 3 ซ้ำ (Triplicate) และขวดซีรัม 1 ขวดที่ฆ่าเซลล์จุลินทรีย์ ด้วย $HgCl_2$ เพื่อใช้เป็นชุดควบคุม (เช่นเดียวกับการทดลองในขั้นตอนที่ 3.2.4)
- (2) ทำการฉีดโทลูอีนหรือเบนซิลแอลกอฮอล์ ลงในขวดซีรัมให้ความเข้มข้นประมาณ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากตั้งทิ้งให้เย็นแล้ว และปิดฝาขวดให้แน่นด้วย Aluminium Crimp Caps
- (3) ฉีดไตรโคลอโรเอเททิลีนลงในขวดซีรัม โดยความเข้มข้นเริ่มต้นของไตรโคลอโรเอเททิลีน ประมาณ 1.5, 3.0, 6.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
- (4) นำขวดซีรัมใส่ลงในเครื่องเขย่า ตั้งความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาที ตลอดระยะเวลาการทดลองที่อุณหภูมิห้อง
- (5) ใส่เซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีนหรือโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ลงในขวดซีรัม พร้อมชุดควบคุมโดยฆ่าเซลล์จุลินทรีย์ในขวดซีรัมด้วย $HgCl_2$
- (6) นำขวดซีรัมใส่ลงในเครื่องเขย่า ตั้งความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาที ตลอดระยะเวลาการทดลองที่อุณหภูมิห้อง พร้อมทั้งเติมออกซิเจนบริสุทธิ์ระหว่างทำการทดลอง
- (7) วัดปริมาณไตรโคลอโรเอเททิลีนในขวดซีรัมด้วยเครื่อง GC-FID (สำหรับการวัดปริมาณโทลูอีนวัดด้วยเครื่อง GC-FID และเบนซิลแอลกอฮอล์วัดด้วยเครื่อง HPLC) ตั้งแต่เริ่มใส่เซลล์เก็บตัวอย่างตามช่วงเวลาที่เหมาะสมจนกระทั่งปริมาณไตรโคลอโรเอเททิลีนหมดหรือไม่เปลี่ยนแปลง
- (8) นำผลการทดลองที่ได้ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไตรโคลอโรเอเททิลีนที่ลดลง กับระยะเวลาทดลอง
- (9) นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์หาค่า k_{max} K_s และ T_c โดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM 2.1b (ลำดับขั้นตอนการทดลองแสดงไว้ดังรูปที่ 3.6)

3.2.7 การทดลองหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ในกระบวนการย่อยสลายโกลูอิน และเบนซิลแอลกอฮอล์ทางชีวภาพ

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองในขั้นตอนที่ 3.2.6 โดยเปลี่ยนจากไตรคลอโรเอเทอริลีนเป็นโกลูอินหรือเบนซิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นเริ่มต้นประมาณ 5, 15, 30 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้เซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินหรือเบนซิลแอลกอฮอล์ สำหรับการย่อยสลายโกลูอินหรือเบนซิลแอลกอฮอล์ทางชีวภาพ พร้อมทั้งวิเคราะห์หาค่า Y จากการทดลอง และค่า k_{max} และ K_S โดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM 2.1b สรุปการหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ดังรูปที่ 3.5 (ลำดับขั้นตอนการทดลองแสดงไว้ดังรูปที่ 3.6)



รูปที่ 3.5 แผนภาพสรุปการหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์



รูปที่ 3.6 แผนภาพขั้นตอนการทดลองหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์

3.2.8 การศึกษาประยุกต์ใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM 2.1b

การศึกษาประยุกต์ใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM 2.1b ซึ่งพัฒนาโดย Peter Reichert : Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology (EAWAG) Switzerland ในคำนวณค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ คือ k_{max} , K_s และ T_c ทำนายพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง เช่น ความเข้มข้นเริ่มต้น และปริมาณของเซลล์ สมการที่ใช้ในการทำนายพารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้แก่

จากสมการ Monod kinetics

$$r_c = \frac{dM_c}{dt} = \frac{-k_{max} \cdot M_x \cdot C}{K_s + C} \quad (2.1)$$

ความเข้มข้นของไตรคัลอโรเอทิลีนและโทลูอินในสภาวะที่เป็นของเหลว สามารถคำนวณได้จากความเข้มข้นในสภาวะที่เป็นก๊าซ และสมการ Herry's law ในสภาวะสมดุลมวล ดังนี้

$$H_{cc} = \frac{C}{C_{aq}} \quad (3.1)$$

จะได้สมการสำหรับมวลของไตรคัลอโรเอทิลีน และโทลูอิน

$$r_c = \frac{dM}{dt} = (V_l + V_g \cdot H_{cc}) \frac{dC}{dt} \quad (3.2)$$

และสมการสำหรับมวลเซลล์ของเบนซิลแอลกอฮอล์

$$r_c = \frac{dM_c}{dt} = V_l \cdot \frac{dC_{aq}}{dt} \quad (3.3)$$

ดังนั้นสมการสำหรับการร่วมย่อยสลายของไตรคัลอโรเอทิลีนและการย่อยสลายโทลูอิน

$$r_c = \frac{dM_c}{dt} = \frac{-k_{max} \cdot (X \cdot V_l) \cdot C_{aq}}{K_s + C_{aq}} \quad (3.4)$$

$$(V_l + V_g \cdot H_{cc}) \cdot \frac{dC_{aq}}{dt} = \frac{-k_{max} \cdot (X \cdot V_l) \cdot C_{aq}}{K_s + C_{aq}} \quad (3.5)$$

$$\text{จะได้} \quad \frac{dC_{aq}}{dt} = \frac{V_l}{(V_l + V_g \cdot H_{cc})} \cdot \frac{-k_{max} \cdot X \cdot C_{aq}}{K_s + C_{aq}} \quad (3.6)$$

และสมการสำหรับการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์

$$\frac{dC_{aq}}{dt} = \frac{-k_{max} \cdot X \cdot C_{aq}}{K_s + C_{aq}} \quad (3.7)$$

โดยที่ H_{cc} = Herry's law constant

C_g, C_{aq} = Gas phase and Aqueous interest compound concentration (mg/l)

V_l, V_g = Liquid and Headspace volume (l)

M_c = The interest compound mass (mg cells)

X = Cell concentration (mg cells/l)

t = Time (day)

จากสมการอัตราการเติบโตเซลล์ (Cells mass production Equation)

$$\frac{dM_x}{dt} = r_x = Y \cdot r_s - \frac{1}{T_c} r_c - b \cdot M_x \quad (2.2)$$

กรณีเมื่อไม่มีซับสเตรตเหลือ เทอมของอัตราการเจริญเติบโต ($Y \cdot r_s$) จะมีค่าเท่ากับ ศูนย์ ดังนั้นสมการเซลล์ของการร่วมย่อยสลายไตรคัลอโรเอทิลีน คือ

$$\frac{dX}{dt} = \left(\frac{V_l + V_g \cdot H_{cc}}{V_l} \right) \left(-\frac{1}{T_c} \cdot \frac{dC_{aq}}{dt} \right) - bX \quad (3.8)$$

สมการอัตราการเติบโตของโกลูอินเซลล์ เมื่อไม่มีไตรคัลอโรเอทิลีน คือ

$$\frac{dX}{dt} = \left(\frac{V_l + V_g \cdot H_{cc}}{V_l} \right) \left(Y \cdot \frac{dC_{aq}}{dt} \right) - bX \quad (3.9)$$

สมการอัตราการเติบโตของเบนซิลแอลกอฮอล์เซลล์เมื่อไม่มีไตรคัลอโรเอทิลีน คือ

$$\frac{dX}{dt} = Y \cdot \frac{dC_{aq}}{dt} - bX \quad (3.10)$$

ใส่สมการที่ 3.6 ถึง 3.10 ในแบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM 2.1b และหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ต่าง ๆ ซึ่งค่าความผิดพลาดมาตรฐาน (Standard Error of Estimate ; SEE) ของข้อมูลการทดลองกับค่าจากแบบจำลอง ดังสมการ 3.11 (Holman, 2001)

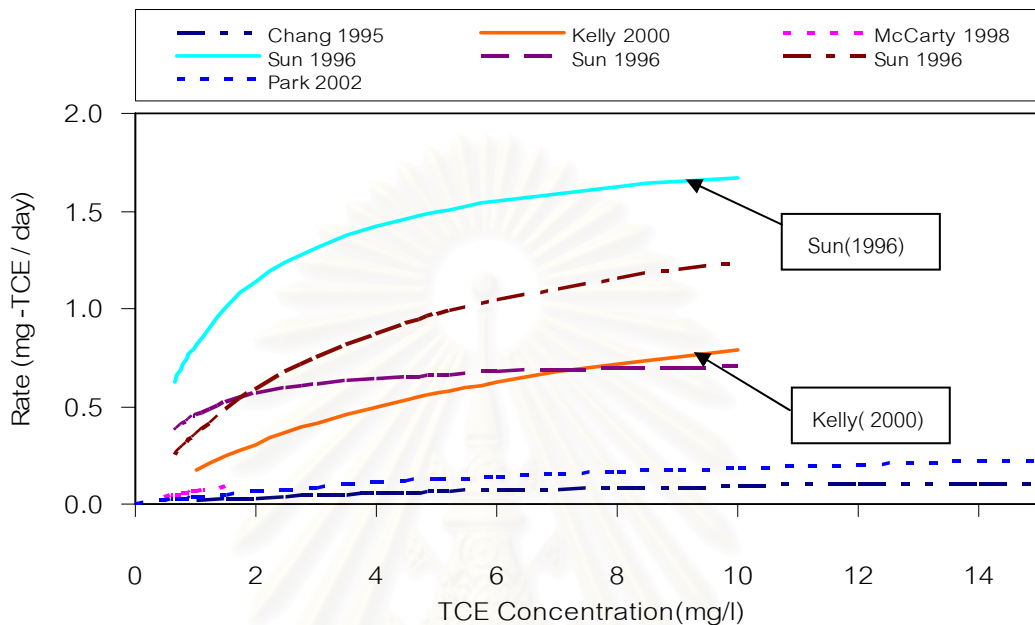
$$SEE = \left[\frac{\sum (C_i - \hat{C}_i)^2}{n - 2} \right]^{1/2} \quad (3.11)$$

โดยที่ C_i = Experimental data

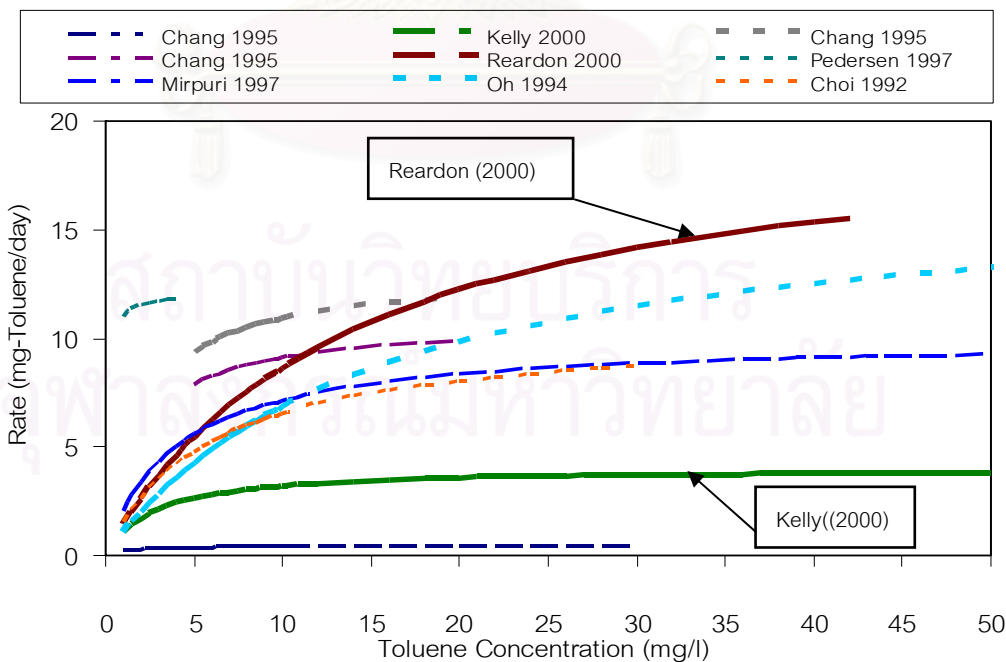
\hat{C}_i = Model prediction data

n = Number of data points

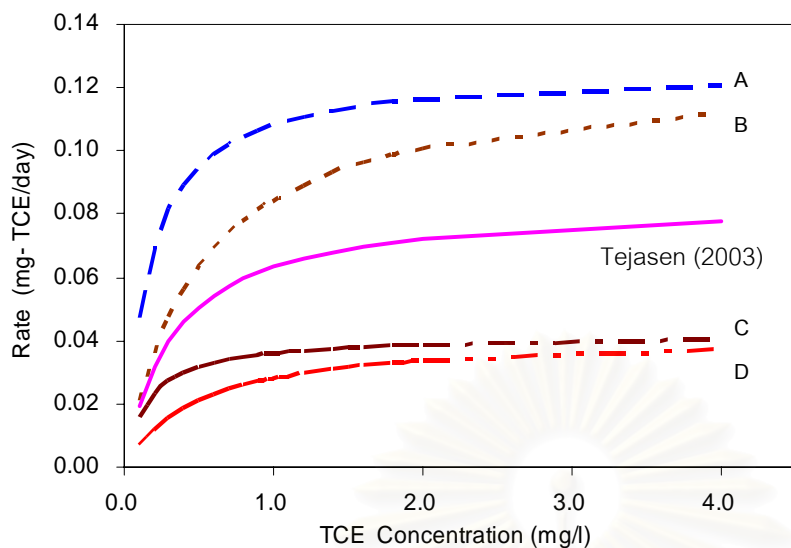
จากสมการที่ 3.6 ถึง 3.10 สามารถเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราปฏิกิริยากับความเข้มข้น เพื่อตรวจสอบขอบเขตของอัตราปฏิกิริยาการร่วมย่อยสลายของ TCE และอัตราปฏิกิริยาการย่อยสลายของโทลูอีนหรือเบนซิลแอลกอฮอล์ที่มีรายงานมาก่อน (ตารางที่ 2.8 และ 2.9) ดังรูปที่ 3.7 ถึง 3.10



รูปที่ 3.7 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราปฏิกิริยาการร่วมย่อยสลายของ TCE โดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีนกับความเข้มข้นของไตรคลอโรเอทิลีน



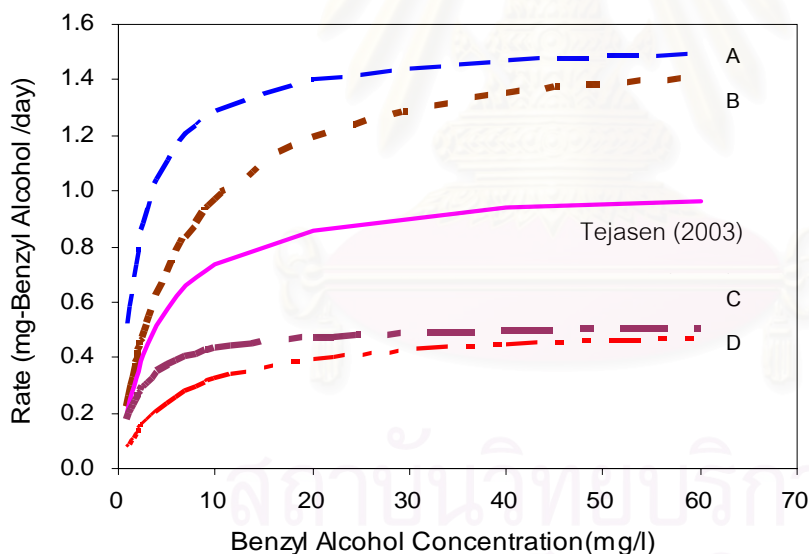
รูปที่ 3.8 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราปฏิกิริยาการย่อยสลายของโทลูอีนกับความเข้มข้นของโทลูอีน



กราฟ	k_{max} (1/d)	K_s (mg/l)
A	0.126	0.165
B	0.126	0.495
Tejasen (2003)	0.084	0.330
C	0.042	0.165
D	0.042	0.495

* กราฟ A – D เป็นการปรับเปลี่ยน
ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ ±50%

รูปที่ 3.9 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราปฏิกิริยาการร่วมย่อยสลายของ TCE โดยจุลินทรีย์ทีโต เบนซิลแอลกอฮอล์กับความเข้มข้นของไตรคลอโรเอทิลีน



กราฟ	k_{max} (1/d)	K_s (mg/l)
A	1.545	2.645
B	1.545	7.935
Tejasen (2003)	1.030	5.290
C	0.515	2.645
D	0.515	7.935

* กราฟ A – D เป็นการปรับเปลี่ยน
ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ ±50%

รูปที่ 3.10 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราปฏิกิริยาการย่อยสลายของเบนซิลแอลกอฮอล์กับความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์

ขอบเขตของอัตราปฏิกิริยาการร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอเททิลีน โดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินดังรูปที่ 3.7 สามารถเลือกใช้ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ (k_{max} และ K_s) ของ Sun และคณะ(1996) และ Kelly และคณะ (2000) เพื่อนำไปประมาณช่วงความเข้มข้นเริ่มต้นของไตรคลอโรเอเททิลีนที่ใช้ในการทดลองเท่ากับ 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตรและระยะเวลาการทดลอง และการเลือกขอบเขตอัตราปฏิกิริยาการย่อยสลายโกลูอินใช้ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ (k_{max} และ K_s) ของ Reardon และคณะ (2000) และ Kelly และคณะ (2000) ดังรูปที่ 3.8 สามารถประมาณช่วงความเข้มข้นเริ่มต้นของโกลูอินที่ใช้ในการทดลองเท่ากับ 1 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับอัตราปฏิกิริยาการร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอเททิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนซิดแอลกอฮอล์ และอัตราปฏิกิริยาการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์ ใช้ค่าของ Tejasen (2003) และทำการปรับเปลี่ยนค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ (k_{max} และ K_s) โดยกำหนดค่าความแปรปรวนร้อยละ ± 50 เนื่องจากเป็นการศึกษาเพียงอันเดียวที่มีข้อมูลของค่าตัวแปรเหล่านี้ จะได้ขอบเขตของอัตราปฏิกิริยาที่กว้างที่สุดดังรูปที่ 3.9 และ 3.10 เพื่อนำไปประมาณความเข้มข้นเริ่มต้นของไตรคลอโรเอเททิลีนที่ใช้ในการทดลองและระยะเวลาการทดลอง ซึ่งสามารถประมาณช่วงความเข้มข้นเริ่มต้นของไตรคลอโรเอเททิลีนเท่ากับ 0.5 - 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และช่วงความเข้มข้นเริ่มต้นของเบนซิลแอลกอฮอล์เท่ากับ 1 - 60 มิลลิกรัมต่อลิตร

สำหรับงานวิจัยนี้กำหนดความเข้มข้นเริ่มต้นของไตรคลอโรเอเททิลีนที่ 1.5, 3.0, 6.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นเริ่มต้นของซีสเตรตทั้งโกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์เท่ากับ 5, 15, 30 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อให้ครอบคลุมขอบเขตความเข้มข้นของงานวิจัยที่ผ่านมา

ค่า T_c , Y และ b สามารถเลือกได้จากงานวิจัยที่ผ่านมาเช่นกัน ดังตารางที่ 3.3 โดยค่า T_c ของการร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอเททิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตโกลูอิน ใช้แต่ค่าของ Kelly และคณะ (2000) เนื่องจาก Sun และคณะ(1996) ไม่มีผลการศึกษา และของจุลินทรีย์ที่โตบนซิดแอลกอฮอล์ใช้ค่าของ Tejasen (2003) เนื่องจากเป็นการศึกษาเพียงอันเดียว ค่า Y ใช้ค่าของ Kelly และคณะ (2000) และ Reardon และคณะ (2000) ส่วนการย่อยสลายของเบนซิลแอลกอฮอล์ใช้แต่ค่าของ Tejasen (2003) เนื่องจากเป็นการศึกษาเพียงอันเดียวเช่นกัน สำหรับค่า b อ้างอิงจากค่าของ Metcalf และ Eddy (2003)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.3 ค่าตัวแปรต่าง ๆ ที่ใช้ในแบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b เพื่อประมาณค่า
ความเข้มข้นของสารต่าง ๆ และระยะเวลาการทดลอง

ตัวแปร	หน่วย	การร่วมย่อยสลายไตรคอลลโรเอทิลีน				การย่อยของซัลเฟต			
		จุลินทรีย์ที่โตบนไทลูอื่น		จุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์		จุลินทรีย์ที่โตบนไทลูอื่น		จุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์	
C	mg/l	1.5, 3.0, 6.0, 10.0		1.5, 3.0, 6.0, 10.0		5, 15, 30, 60		5, 15, 30, 60	
X	mg/l	70, 140, 280, 500		70, 140, 280, 500		50, 100, 150, 200		50, 100, 200, 300	
K_{max}	1/day	1.30 ^(a)	1.89 ^(b)	0.126	0.042	4.00 ^(a)	20.60 ^(c)	1.545	0.515
K_g	mg/l	6.40 ^(a)	1.314 ^(b)	0.165	0.495	2.70 ^(a)	13.80 ^(c)	2.645	7.935
T_c	mg-TCE/mg-cells	0.035 ^(a)		0.030 ^(a)		-		-	
Y	mg-cells /mg-Substrate	-		-		0.62 ^(a)	1.28 ^(d)	0.53 ^(a)	
b	1/day	0.10 ^(d)		0.10 ^(d)		0.10 ^(d)		0.10 ^(d)	

a. Kelly et al. (2000) ; b. Sun et al. (1996) ; c. Reardon et al. (2000) d. Metcalf & Eddy (2003)

การวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ AQUASIM 2.1b ทำให้สามารถประมาณผลการทดลองคร่าว ๆ ได้แก่ ความเข้มข้นเริ่มต้นของเซลล์ ความเข้มข้นเริ่มต้นของไตรคอลลโรเอทิลีน และซัลเฟต รวมทั้งระยะเวลาที่จุลินทรีย์ใช้ในการร่วมย่อยสลายไตรคอลลโรเอทิลีน ซึ่งสามารถนำค่าเหล่านี้ไปประยุกต์ใช้ในการทดลองได้ และเมื่อทำการทดลองแล้วก็สามารถใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM 2.1b คำนวณหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ และตรวจสอบข้อมูลที่ได้จากการทดลองจริงกับแบบจำลองโดยกระบวนการทางทฤษฎีได้

3.3 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตารางที่ 3.4 วิธีการวิเคราะห์ และเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ

พารามิเตอร์	วิธีที่ใช้วิเคราะห์	เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์
Trichloroethylene , Toluene	EPA Method number 1671A Volatile Organic Compound by GC-FID	GC-FID
Benzyl Alcohol	EPA Method number 0532 Benzyl Alcohol compounds in DW by SPE & HPLC/UV	HPLC
Total Suspend Solids (TSS)	Standard Method - 2540D Total Suspend Solids Dried at 103 – 105 °c	-
Optical Density (OD ₅₅₀)	-	Spectrophotometer

หมายเหตุ OD₅₅₀ คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์

4.1 การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน

งานวิจัยนี้ต้องการใช้เบนซิลแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีพิษเป็นอันตรายในการร่วมย่อยสลายไทรโคลอโรเอทธิลีนแทนโทลูอินที่เป็นสารมีพิษ โดยทำการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ด้วยโทลูอินก่อนแล้วจึงนำเชื้อจุลินทรีย์นั้นมาเลี้ยงด้วยเบนซิลแอลกอฮอล์

เมื่อเริ่มต้นการทดลองได้เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ให้คุ้นเคยกับการใช้โทลูอินเป็นซับสเตรต วิธีการเลี้ยงได้กล่าวไว้ในขั้นตอนที่ 3.2.1 โดยใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ (Seed) จากโรงบำบัดน้ำเสียสี่พระยา ตำแหน่งที่เก็บเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ คือ น้ำเสียในถังเติมอากาศ เลี้ยงโดยให้โทลูอินเป็นซับสเตรตอย่างเดียว

ความขุ่นในช่วง 2 เดือนแรกของการเลี้ยงเชื้อไม่มีการเปลี่ยนแปลง คาดว่าเกิดจากการปรับตัวของจุลินทรีย์ เพื่อให้โทลูอินเป็นซับสเตรต เมื่อเข้าสู่เดือนที่ 3 เริ่มสังเกตเห็นการเจริญเติบโตบนโทลูอิน โดยสังเกตได้จากสีของน้ำที่เลี้ยงเปลี่ยนสีจากสีใสเป็นสีน้ำตาลขุ่น ดังรูปที่ 4.1 จากนั้นจึงทำการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ต่อไปจนกระทั่งวัดค่า Optical Density (OD_{550}) ได้เท่ากับ 1 แล้วจึงนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

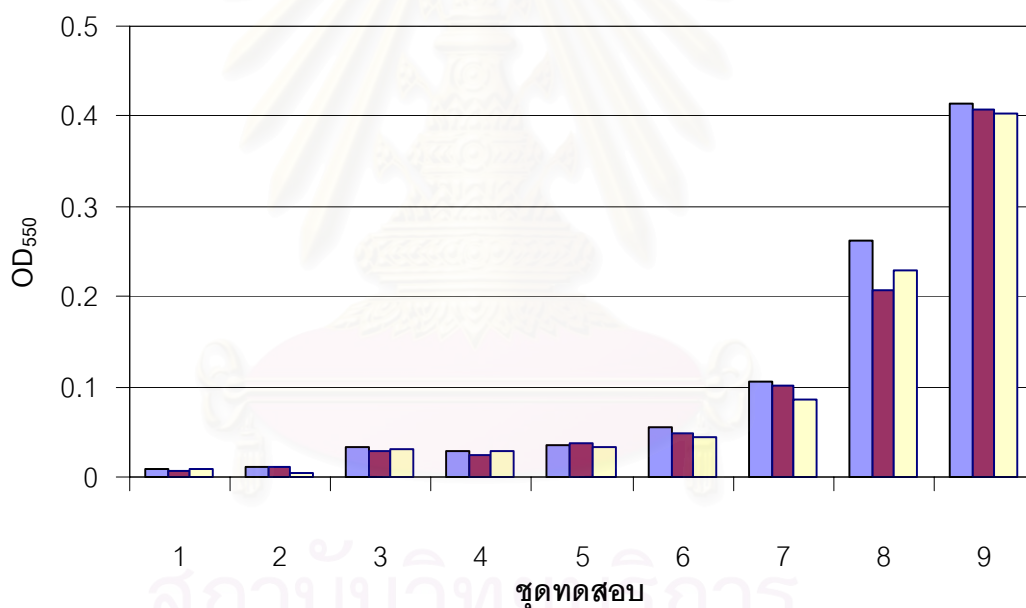


รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงสีของเชื้อจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอินได้

4.2 การทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอิน

นำเชื้อจุลินทรีย์จากขั้นตอนที่ 4.1 มาทดสอบการเจริญเติบโตตามขั้นตอนที่ 3.2.2 เพื่อให้แน่ใจว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่เลี้ยงได้นั้นเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถโตบนโกลูอิน

ชุดทดสอบที่ใช้มีทั้งหมด 9 ชุด ๆ ละ 3 ข้าง โดย ชุดทดสอบที่ 1 ถึง 4 เป็นชุดควบคุม ชุดทดสอบที่ 1 เป็น Media control ซึ่งไม่มีทั้งเซลล์จุลินทรีย์และโกลูอิน ชุดทดสอบที่ 2 เป็น Substrate control มีโกลูอินแต่ไม่มีเซลล์จุลินทรีย์ ชุดทดสอบที่ 3 เป็น Nonbiotic control เป็นชุดที่มีทั้งโกลูอินและเซลล์จุลินทรีย์แต่ทำการฆ่าเซลล์จุลินทรีย์ด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ชุดทดสอบที่ 4 เป็น Seed control คือเป็นชุดที่มีเซลล์จุลินทรีย์แต่ไม่มีโกลูอิน ส่วนชุดทดสอบที่ 5 ถึง 9 เป็นชุดทดสอบที่บรรจุโกลูอินความเข้มข้นแตกต่างกันดังนี้ 10, 50, 100, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ดังแสดงตามตารางที่ 3.2



รูปที่ 4.2 ค่า OD₅₅₀ ของชุดทดสอบหลังจากทำการทดลอง 3 วัน

(■, ชุดทดสอบที่ 1 ; ■, ชุดทดสอบที่ 2 ; □, ชุดทดสอบที่ 3)

ผลการทดสอบพบว่า เมื่อเริ่มทำการทดสอบค่า OD₅₅₀ ของชุดทดสอบทั้งหมดมีค่าใกล้เคียงกันเฉลี่ยประมาณ 0.009 ± 0.004 หลังจากทำการทดสอบ 3 วัน พบว่าค่า OD₅₅₀ ของน้ำในชุดทดสอบที่บรรจุโกลูอินความเข้มข้นแตกต่างกัน จะมีการเจริญเติบโตแตกต่างกันตามไปด้วย ดังรูปที่ 4.2 รายละเอียดผลการทดลองแสดงในตารางที่ ก-1 ในภาคผนวก ก. โดยน้ำในชุดทดสอบที่เชื้อจุลินทรีย์ได้รับโกลูอินเป็นซับสเตรตที่มีความเข้มข้นสูงมีค่า OD₅₅₀ สูงกว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้รับ

โกลูอินเป็นข้อบ่งชี้ที่ความเข้มข้นต่ำ ในขณะที่ชุดทดสอบที่ 1 - 4 ซึ่งเป็นชุดควบคุม วัดค่า OD₅₅₀ ได้ใกล้เคียงกับค่าเริ่มต้น เนื่องจากชุดทดสอบทั้งสี่ขาดองค์ประกอบที่ทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ ชุดทดสอบทั้งสี่จึงไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้น ดังนั้นผลที่ได้จากการทดสอบสามารถสรุปได้ว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่เลี้ยงได้นั้นสามารถโตบนโกลูอินได้ และสามารถนำเชื้อจุลินทรีย์ไปใช้ในการทดสอบขั้นต่อไปได้

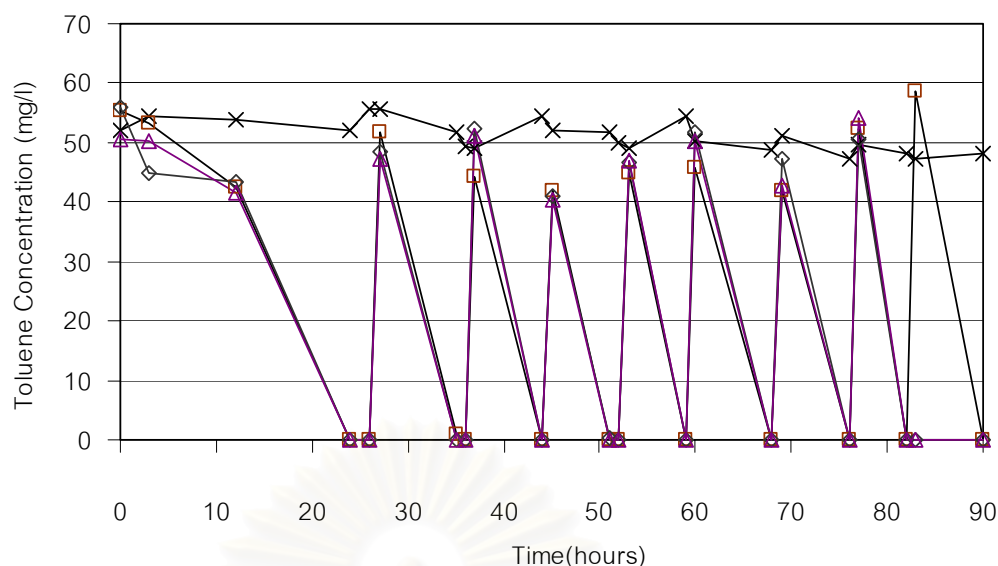
4.3 การศึกษาค่ายิลด์ของแต่ละข้อบ่งชี้ (Growth Yield ; Y)

ค่ายิลด์ หรือค่าสัมประสิทธิ์การเจริญเติบโต (Y) แสดงความสัมพันธ์ทางปริมาณระหว่างมวลของเซลล์จุลินทรีย์ที่ผลิตขึ้น ต่อปริมาณข้อบ่งชี้ที่ถูกใช้ไป สำหรับงานวิจัยในขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาหาค่ายิลด์ของข้อบ่งชี้ 2 ชนิด ได้แก่ โกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด ดังนี้

4.3.1 การศึกษาค่ายิลด์ของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอิน

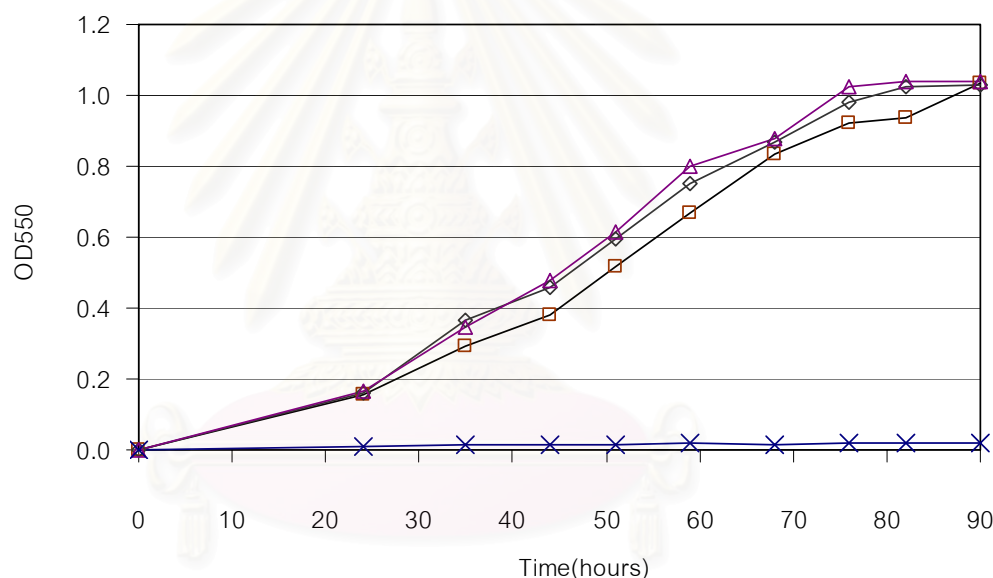
การทดลองชุดนี้ประกอบด้วยขวดซีรัม 4 ขวด โดยมีขวดซีรัม 3 ขวดสำหรับการทดลอง 3 ข้ำ และขวดซีรัม 1 ขวดที่ใส่เซลล์จุลินทรีย์ด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ (HgCl₂) เพื่อเป็นชุดควบคุม (Control) โดยใช้โกลูอินเป็นข้อบ่งชี้ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นประมาณ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นเริ่มต้นของเซลล์จุลินทรีย์ประมาณ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร นำขวดซีรัมทั้งหมดใส่ลงในเครื่องเขย่าตั้งความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 25 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาการทดลอง ทำการเติมโกลูอินและเก็บตัวอย่างเรื่อย ๆ จนกระทั่งค่าวัดค่า OD₅₅₀ ได้เท่ากับ 1

ผลการศึกษาพบว่า เซลล์จุลินทรีย์ใช้เวลาในการย่อยสลายโกลูอินในครั้งแรก นานกว่า 24 ชั่วโมง สาเหตุน่าจะเป็นเพราะความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์มีน้อย และเซลล์จุลินทรีย์มีการปรับตัวให้คุ้นเคยกับสภาวะใหม่ แต่เมื่อเติมโกลูอินครั้งต่อ ๆ ไป เซลล์จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายโกลูอินได้อย่างรวดเร็ว และมีแนวโน้มเร็วขึ้นเรื่อย ๆ ตามปริมาณความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นดังรูปที่ 4.3 และรูปที่ 4.4 ค่า OD₅₅₀ ที่เพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จนกระทั่งวัดค่า OD₅₅₀ มีค่าประมาณ 1 จึงนำเซลล์จุลินทรีย์ในขวดซีรัมมาวิเคราะห์ค่าของแข็งแขวนลอย (TSS) เพื่อหาปริมาณมวลของเซลล์จุลินทรีย์ที่เกิดขึ้น รายละเอียดผลการทดลองแสดงในตารางที่ ข-1 และ ข-2 ในภาคผนวก ข.



รูปที่ 4.3 ความเข้มข้นของโทลูอีนที่เปลี่ยนแปลงกับระยะเวลาการทดลอง

(□ , ขวดที่ 1 ; ◇, ขวดที่ 2 ; △, ขวดที่ 3 ; x , ขวดควบคุม)



รูปที่ 4.4 ค่า OD₅₅₀ ที่เพิ่มขึ้นของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีนกับระยะเวลาการทดลอง

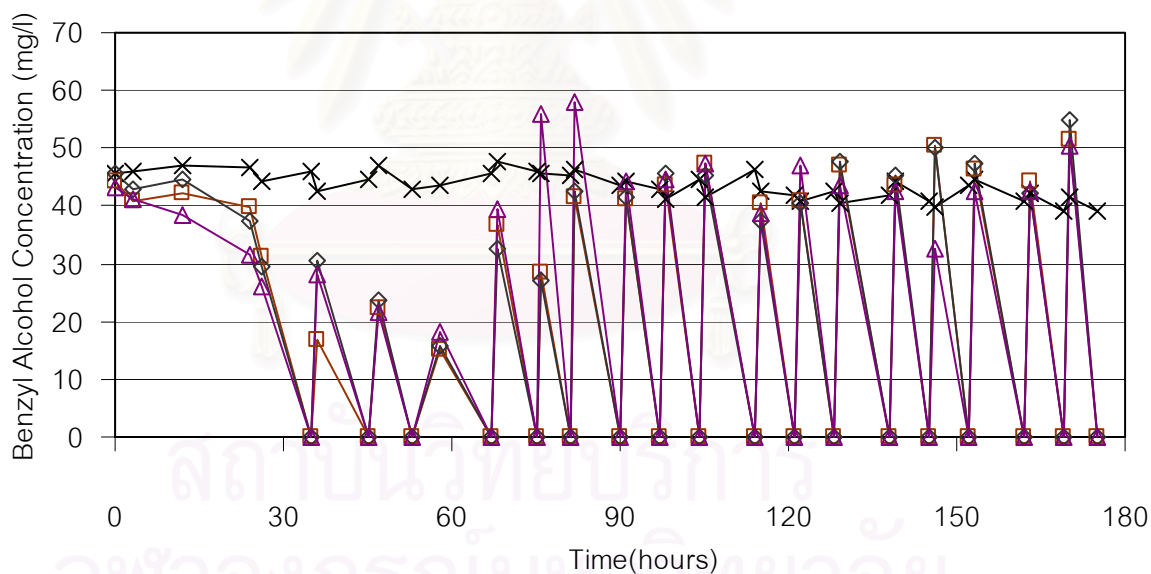
(□ , ขวดที่ 1 ; ◇, ขวดที่ 2 ; △, ขวดที่ 3 ; x , ขวดควบคุม)

ค่า TSS ที่วัดได้มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 20.68 ± 1.89 มิลลิกรัม และมวลของโทลูอีนที่เติมทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 27.81 ± 1.54 มิลลิกรัม ดังนั้นค่ายิลด์ของจุลินทรีย์ที่ใช้โทลูอีนเป็นคาร์บอนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.742 ± 0.028 มิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อมิลลิกรัมโทลูอีน แสดงว่าเซลล์จุลินทรีย์ 1 มิลลิกรัม ใช้ปริมาณของโทลูอีน 1.347 มิลลิกรัมในการเจริญเติบโต ซึ่งผลการทดลองค่ายิลด์ที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับค่ายิลด์ที่ศึกษาโดย McCarty และคณะ(1998) Kelly และคณะ(2000) และ Oh และคณะ(1994) คือ 0.77, 0.62 และ 0.64 มิลลิกรัมเซลล์ต่อมิลลิกรัมโทลูอีน

4.3.2 การศึกษาค่ายิลด์ของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์

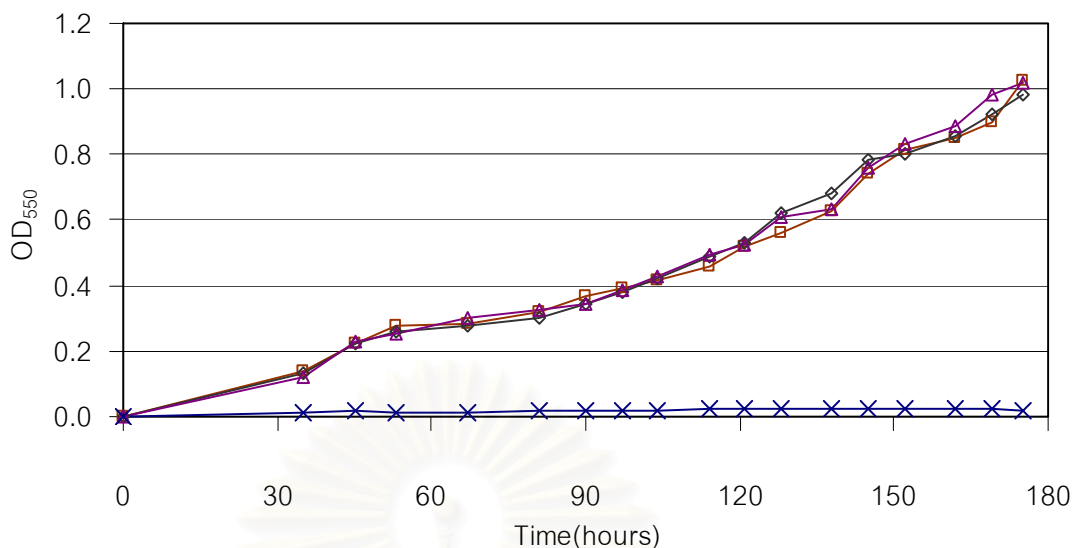
การศึกษาค่ายิลด์ของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองการศึกษาค่ายิลด์ของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอื่น โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ประมาณ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นเริ่มต้นของเซลล์จุลินทรีย์ประมาณ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรเช่นกัน

เซลล์จุลินทรีย์ใช้เวลาในการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์ครั้งแรกนานกว่า 24 ชั่วโมง เนื่องจากความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์น้อย และการปรับตัวให้คุ้นเคยกับสภาวะใหม่ แต่เมื่อเติมเบนซิลแอลกอฮอล์ในครั้งต่อไป เซลล์จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์ได้อย่างรวดเร็ว และมีแนวโน้มเร็วขึ้นเรื่อย ๆ ตามปริมาณความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นดังรูปที่ 4.5 และรูปที่ 4.6 ค่า OD₅₅₀ ที่เพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นถึงการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จนกระทั่งวัดค่า OD₅₅₀ มีค่าประมาณ 1 จึงนำเซลล์จุลินทรีย์ในขวดซีรัมมาวิเคราะห์ค่าของแข็งแขวนลอย (TSS) เพื่อหาปริมาณมวลของเซลล์จุลินทรีย์ที่เกิดขึ้น รายละเอียดผลการทดลองแสดงในตารางที่ ข-3 และ ข-4 ในภาคผนวก ข.



รูปที่ 4.5 ความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ที่เปลี่ยนแปลงกับระยะเวลาการทดลอง

(□ , ขวดที่ 1 ; ◇ , ขวดที่ 2 ; △ , ขวดที่ 3 ; x , ขวดควบคุม)



รูปที่ 4.6 ค่า OD₅₅₀ ที่เพิ่มขึ้นของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์กับ
ระยะเวลาการทดลอง

(□ , ขวดที่ 1 ; ◇ , ขวดที่ 2 ; △ , ขวดที่ 3 ; x , ขวดควบคุม)

ค่า TSS ที่วัดได้มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 21.68 ± 2.47 มิลลิกรัม และมวลของเบนซิลแอลกอฮอล์ที่เติมทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 35.96 ± 1.00 มิลลิกรัม ดังนั้นค่ายิลด์ของจุลินทรีย์ที่ใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรตมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.603 ± 0.070 มิลลิกรัมเซลล์ต่อมิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์ แสดงว่าเซลล์จุลินทรีย์ 1 มิลลิกรัม ใช้ปริมาณของเบนซิลแอลกอฮอล์ 1.658 มิลลิกรัม ในการเจริญเติบโต โดยใช้ปริมาณมากกว่าการใช้โกลูอินเป็นซับสเตรตเมื่อเทียบกับการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ 1 มิลลิกรัม รวมทั้งระยะเวลาในการย่อยสลายนานกว่าด้วย เนื่องจากเซลล์มีความคุ้นเคยกับการใช้โกลูอินเป็นซับสเตรตมากกว่าเบนซิลแอลกอฮอล์ ซึ่งผลการทดลองค่ายิลด์ที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับค่ายิลด์ที่ศึกษาโดย Tejasen (2003) คือ 0.53 มิลลิกรัมเซลล์ต่อมิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์

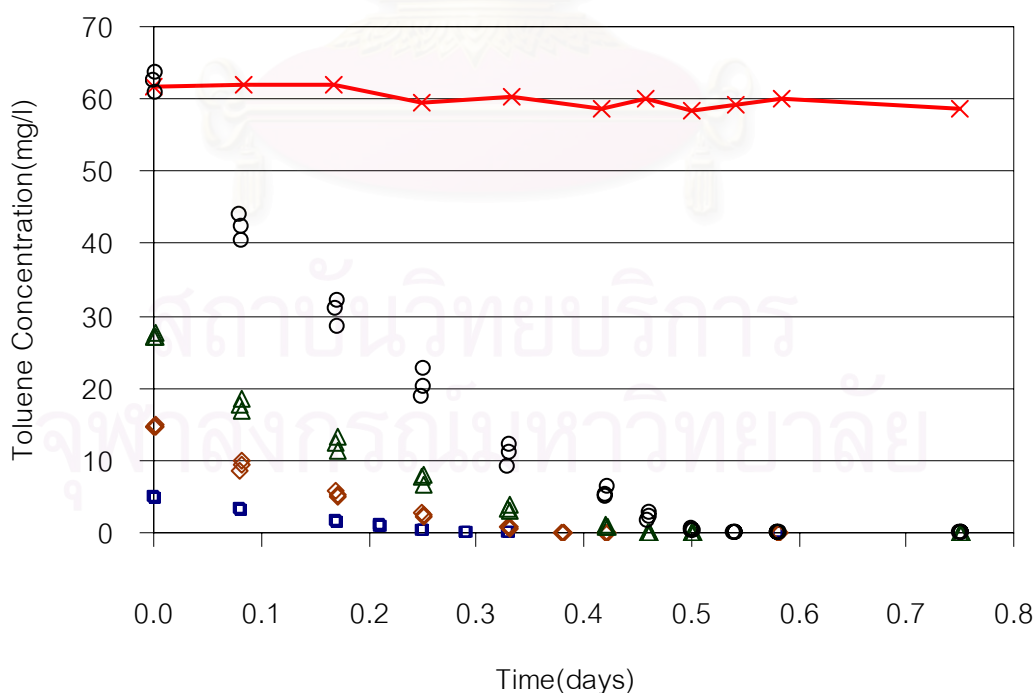
4.4 การศึกษาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายของโกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ

งานวิจัยนี้ศึกษาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ในกระบวนการย่อยสลายแบบใช้อากาศของซับสเตรต 2 ชนิด ได้แก่ โกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์ โดยแบ่งการศึกษา การรายงานผล และการวิเคราะห์ผล ออกเป็น 3 ขั้นตอน ตามลำดับ ดังนี้

4.4.1 การศึกษาการย่อยสลายของโทลูอีนแบบใช้อากาศ

การทดลองชุดนี้ประกอบด้วยขวดซีรัม 13 ขวด โดยใช้ขวดซีรัม 3 ขวดต่อหนึ่งความเข้มข้นของโทลูอีน แต่ละขวดมีสารละลาย BSM 50 มิลลิลิตรและผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยให้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโทลูอีนประมาณ 5, 15, 30 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นเริ่มต้นของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีนประมาณ 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับชุดควบคุม (Control) ใช้ขวดซีรัม 1 ขวดที่ฆ่าเซลล์จุลินทรีย์ด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ทำการทดลองที่ความเข้มข้นประมาณ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นนำขวดซีรัมทั้งหมดใส่ลงในเครื่องเขย่าตั้งความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาทีตลอดการทดลอง ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 25 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างจนกระทั่งความเข้มข้นของโทลูอีนหมด ระหว่างการทดลองมีการฉีดออกซิเจนให้มีปริมาณมากพอเพื่อใช้ในการย่อยสลายโทลูอีน

ผลการศึกษาพบว่า ค่าความเข้มข้นของโทลูอีนลดลงอย่างรวดเร็วดังรูปที่ 4.7 เนื่องจากใช้เชื้อจุลินทรีย์เป็นปริมาณมาก และมีความคุ้นเคยกับการใช้โทลูอีนเป็นแหล่งพลังงานและคาร์บอนในสภาวะแบบใช้อากาศ ซึ่งจุลินทรีย์จะสามารถย่อยสลายโทลูอีนจนหมด โดยชุดที่มีความเข้มข้นของโทลูอีนต่ำจะหมดก่อนชุดที่มีความเข้มข้นสูง และทุกความเข้มข้นใช้เวลาในการย่อยสลายทั้งหมดภายในเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง รายละเอียดผลการศึกษแสดงในภาคผนวก ค.-1 ในภาคผนวก ค

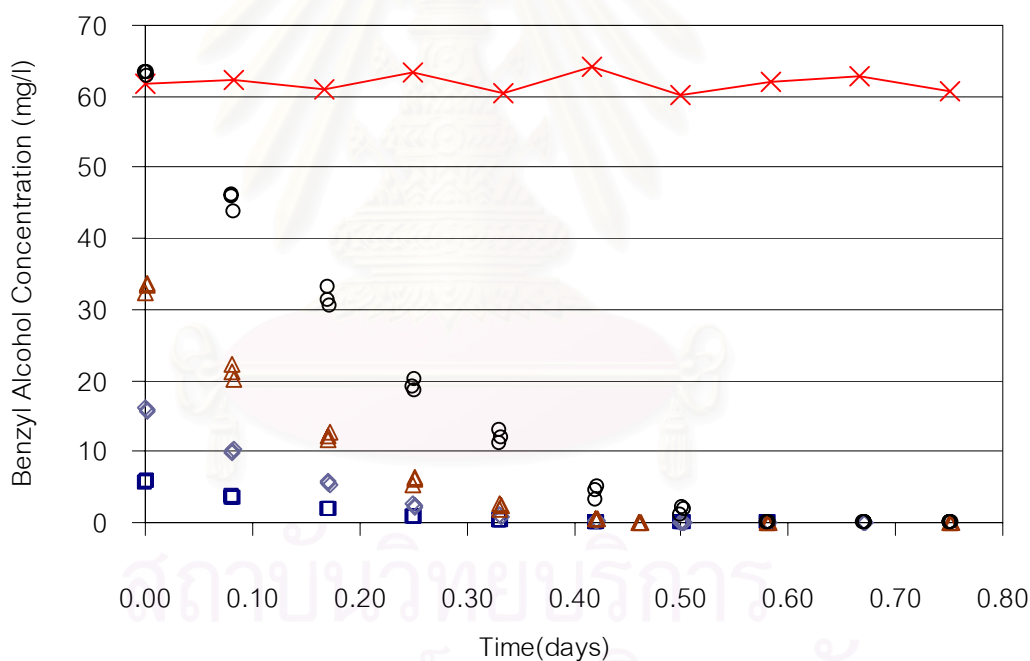


รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโทลูอีนกับระยะเวลาการทดลอง (□, 5 มก.ต่อลิตร ; ◇, 15 มก.ต่อลิตร ; △, 30 มก.ต่อลิตร ; ○, 60 มก.ต่อลิตร ; x, ชุดควบคุม)

4.4.2 การศึกษาการย่อยสลายของเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ

การทดลองชุดนี้ ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองศึกษากระบวนการย่อยสลายของโกลูอื่นแบบใช้อากาศ โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ประมาณ 5, 15, 30 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์ประมาณ 50, 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเก็บตัวอย่างจนกระทั่งความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์หมดเช่นกัน

ผลการศึกษาพบว่า ค่าความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ลดลงอย่างรวดเร็วดังรูปที่ 4.8 เนื่องจากใช้เชื้อจุลินทรีย์เป็นปริมาณมาก และมีความคุ้นเคยกับการใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรต โดยที่ชุดที่มีความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ต่ำ จะหมดก่อนชุดที่มีความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์สูง ซึ่งจะใช้เวลาในการย่อยสลายใกล้เคียงกับการย่อยสลายของโกลูอื่น รายละเอียดผลการศึกษาดังแสดงในภาคผนวก ค.-2 ในภาคผนวก ค



รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์กับระยะเวลาการทดลอง

(□, 5 มก.ต่อลิตร ; ◇, 15 มก.ต่อลิตร ; △, 30 มก.ต่อลิตร ; ○, 60 มก.ต่อลิตร ; x, ชุดควบคุม)

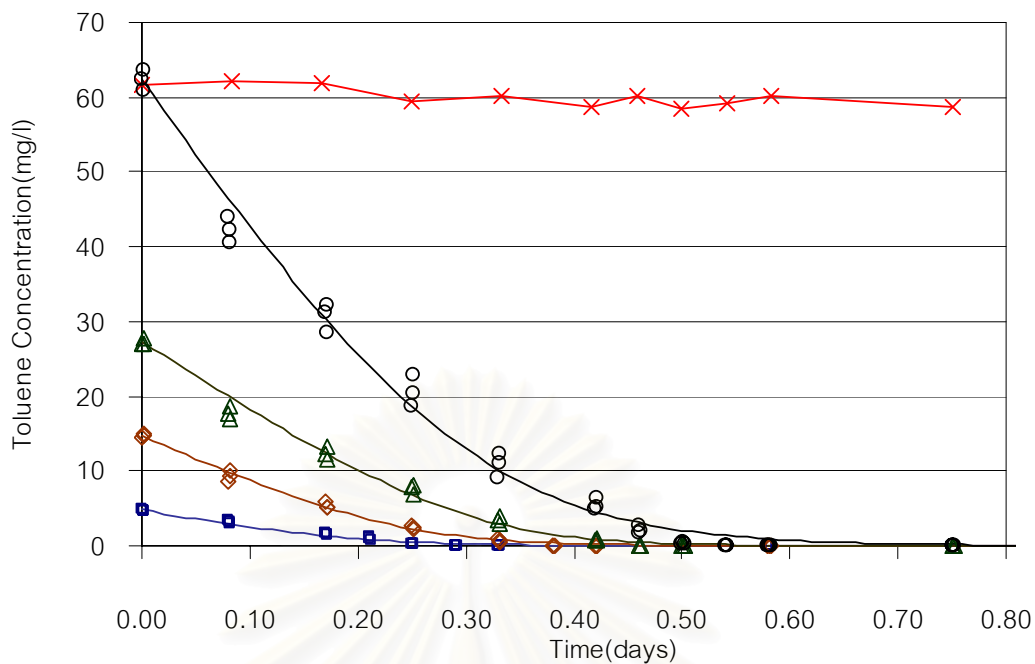
4.4.3 การศึกษาหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายของโกลูอิน และเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศโดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์

งานวิจัยนี้ใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b วิเคราะห์การย่อยสลายของโกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ โดยนำค่าความเข้มข้น และค่ายิลด์ของแต่ละซับสเตรต (Y) ที่ได้จากการทดลองที่ 4.3.1 และ 4.3.2 ป้อนเข้าไปในแบบจำลองคอมพิวเตอร์แล้วทำการหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ที่เหมาะสม (Fitting of model) ทั้งหมด 2 ตัว คือ ตัวคงที่อัตราการย่อยสลายจำเพาะสูงสุด (maximum specific degradation rate ; k_{max}) และ ค่าคงที่การอิ่มตัว (half saturation constant ; K_s) โดยใช้สมการทางจลนพลศาสตร์ ได้แก่ สมการที่ 3.6, 3.7, 3.9 และ 3.10 ดังแสดงรายละเอียดในบทที่ 3

จากการประมาณค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ที่เหมาะสมโดยใช้แบบจำลองได้ดังตารางที่ 4.1 ค่าเฉลี่ยของ k_{max} และ K_s ของการย่อยสลายโกลูอินแบบใช้อากาศ คือ 1.472 ± 0.268 มิลลิกรัมโกลูอินต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวันและ 8.236 ± 4.438 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนค่าเฉลี่ยของ k_{max} และ K_s ของการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ คือ 0.870 ± 0.172 มิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์ต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน และ 6.738 ± 2.212 มิลลิกรัมต่อลิตร กราฟที่แสดงผลการทดลองและกราฟที่ได้จากแบบจำลองคอมพิวเตอร์แสดงดังรูปที่ 4.9 ถึง 4.10

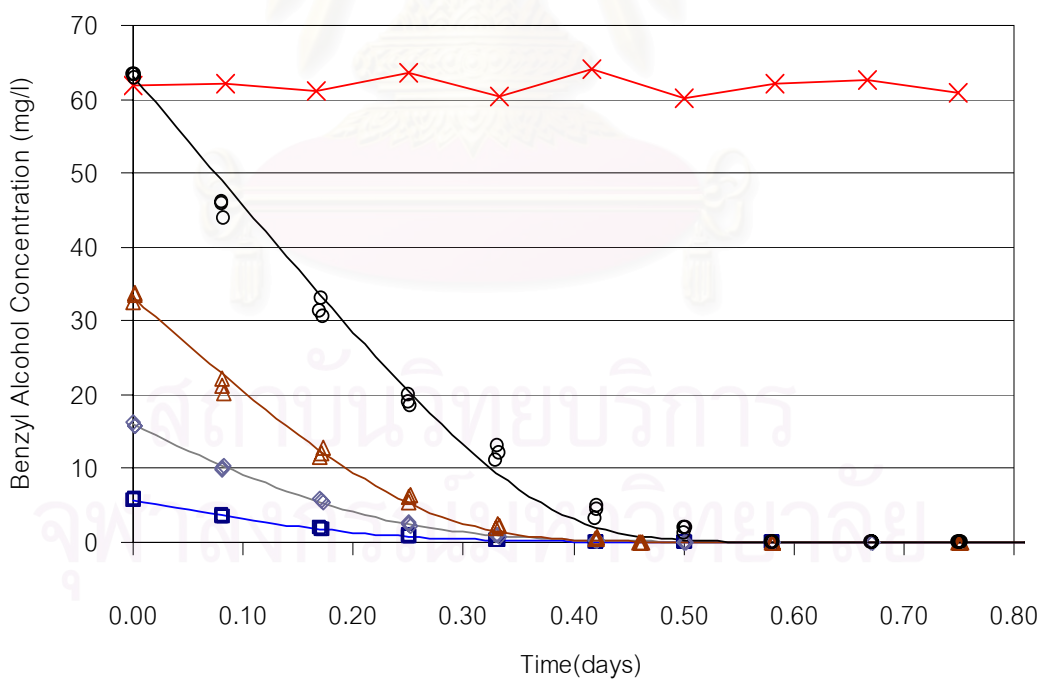
ตารางที่ 4.1 ผลจากการประมาณค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายโกลูอิน และเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ โดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b

ซับสเตรต	ความเข้มข้นซับสเตรต (mg/l)	k_{max} (mg-Subs./mg-Cell /day)	K_s (mg/l)	SEE
โกลูอิน	4.800 ± 0.155	1.659	3.390	0.212
	14.742 ± 0.208	1.727	6.740	0.301
	27.312 ± 0.426	1.155	8.834	0.962
	62.316 ± 1.304	1.349	13.982	2.287
	ค่าเฉลี่ย	1.472 ± 0.268	8.236 ± 4.438	-
เบนซิลแอลกอฮอล์	5.754 ± 0.133	0.915	3.422	0.066
	15.910 ± 0.216	1.077	7.749	0.134
	33.230 ± 0.674	0.823	7.921	0.982
	63.212 ± 0.812	0.667	7.861	2.036
	ค่าเฉลี่ย	0.870 ± 0.172	6.738 ± 2.212	-



รูปที่ 4.9 แบบจำลองคอมพิวเตอร์ของการย่อยสลายโทลูอีนแบบใช้อากาศ

(□, ◇, Δ, O, ความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์จากการทดลอง ; — เส้นกราฟประมาณ
จากแบบจำลอง ; x ,ชุดควบคุม)



รูปที่ 4.10 แบบจำลองคอมพิวเตอร์ของการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ

(□, ◇, Δ, O, ความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์จากการทดลอง ; — เส้นกราฟประมาณ
จากแบบจำลอง ; x ,ชุดควบคุม)

เมื่อพิจารณาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการย่อยสลายของโกลูอิน และเบนซิลแอลกอฮอล์ จากตารางที่ 4.2 พบว่า ค่า K_s ของการย่อยทั้งสองซับสเตรตมีค่าแตกต่างกันและสามารถแบ่งค่าได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มค่า K_s ต่ำ (< 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) กลุ่มค่า K_s ปานกลาง ($0.1 - 1$ มิลลิกรัมต่อลิตร) และกลุ่มค่า K_s สูง (> 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่วนใหญ่มีค่า K_s อยู่ในกลุ่มสูง ซึ่งค่าของ K_s แสดงถึงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและอัตราการย่อยสลายของซับสเตรต คือ กลุ่มที่มีค่า K_s ต่ำบ่งบอกว่า อัตราการย่อยสลายสามารถเกิดขึ้นได้เร็วที่ความเข้มข้นต่ำ สำหรับค่าของ K_s ของการทดลองนี้จัดอยู่ในกลุ่มค่า K_s สูง เช่นเดียวกับค่าของ Choi และคณะ (1992) Mirpuri และคณะ (1997) คือ 6.0 และ 3.98 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในการย่อยสลายโกลูอิน และ Tejasen (2003) คือ 5.29 มิลลิกรัมต่อลิตรในการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์

ส่วนค่า k_{max} ของการย่อยสลายซับสเตรตสามารถแบ่งค่าได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มค่า k_{max} ต่ำ (< 2.0 มิลลิกรัมซับสเตรตต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน) กลุ่มค่า k_{max} ปานกลาง ($2.0 - 10.0$ มิลลิกรัมซับสเตรตต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน) และกลุ่มค่า k_{max} สูง (> 10.0 มิลลิกรัมซับสเตรตต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน) ส่วนใหญ่มีค่า k_{max} อยู่ในกลุ่มสูง สำหรับค่าของ k_{max} ของการย่อยสลายโกลูอินที่ได้ จัดอยู่ในกลุ่มค่า k_{max} ต่ำ เช่นเดียวกับค่าของ McCarty และคณะ (1998) คือ 1.50 มิลลิกรัมโกลูอินต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน ซึ่งใช้จุลินทรีย์พันธุ์ผสมเหมือนกัน ค่าของ k_{max} ของการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์ จัดอยู่ในกลุ่มค่า k_{max} ต่ำ และมีค่าใกล้เคียงกับค่าของ Tejasen (2003) คือ 0.53 มิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์ต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน ขณะที่ค่า K_s ของทั้งสองซับสเตรตจากการทดลองนี้ใกล้เคียงกัน ซึ่งแสดงถึงกลุ่มจุลินทรีย์เดียวกันที่สามารถใช้ทั้งโกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรต แต่ค่า k_{max} ของการย่อยสลายโกลูอินมีค่ามากกว่าของการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์ อาจเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ได้โอบนโกลูอินก่อน จึงมีความคุ้นเคยในการใช้โกลูอินเป็นซับสเตรตมากกว่าเบนซิลแอลกอฮอล์ แสดงว่าอัตราการย่อยสลายของโกลูอินสูงกว่าอัตราการย่อยสลายของเบนซิลแอลกอฮอล์

สำหรับค่าความผิดพลาดมาตรฐาน (SEE) ของค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ที่ได้ พบว่า ในความเข้มข้นสูงมีค่าความผิดพลาดมาตรฐานสูง แต่ในความเข้มข้นต่ำมีค่าความผิดพลาดมาตรฐานต่ำ ความเข้มข้นในการทดลองมีผลต่อค่าความผิดพลาดมาตรฐาน และค่าความผิดพลาดมาตรฐานทั้งหมดมีค่าไม่เกินร้อยละ 10 ของความเข้มข้นเริ่มต้น สำหรับผลกระทบของตัวแปรเหล่านี้ต่อแบบจำลองคอมพิวเตอร์ได้แสดงรายละเอียดในหัวข้อที่ 4.6

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของกระบวนการย่อยสลายของแต่ละสปีชีส์แบคทีเรียที่ได้จากการประมาณด้วยแบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b กับงานวิจัยที่ผ่านมา

Microorganism	Growth Substrate	Conc. (mg/L)	k_{max} (1/day)	K_s (mg/l)	Y (mg-cells/mg-substrate)	Reference
<i>Pseudomonas putida</i> B2	Toluene	1-50	4.0	2.7	0.62	Kelly และคณะ (2000)
<i>Pseudomonas putida</i> ATCC 23973	Toluene	1-30	10.49	6.0	0.37	Choi และคณะ (1992)
<i>Burkholderia cepacia</i> G4	Toluene	-	8.68	0.074	-	Newman และคณะ (1995)
<i>Pseudomonas cepacia</i> G4	Toluene	-	9.27	2.30	-	Landa และคณะ (1994)
<i>Pseudomonas</i> B1	Toluene	5-20	13.03	1.96	1.22	Chang และคณะ (1993)
<i>Pseudomonas</i> X1	Toluene	5-20	10.84	1.88	0.99	Chang และคณะ (1993)
<i>Pseudomonas putida</i> F1	Toluene	1-43	20.60	13.8	1.28	Reardon และคณะ (2000)
<i>Pseudomonas putida</i> R1	Toluene	4	12.10	0.1	1.20	Pedersen และคณะ (1997)
<i>Pseudomonas putida</i> 54G	Toluene	1-50	10.08	3.98	0.90	Mirpuri และคณะ (1997)
<i>Pseudomonas putida</i> O1	Toluene	5-70	17.28	15.07	0.64	Oh และคณะ (1994)
Mixed culture	Toluene	1-30	0.44	1.02	0.29	Chang และ Alvarez-Cohen (1995b)
Mixed culture	Toluene	7-15	1.5	1.0	0.77	McCarty และคณะ (1998)
Mixed culture	Toluene	5-60	1.47	8.24	0.74	This study
Mixed culture	Benzyl alcohol	1-60	1.06	5.29	0.53	Tejasen (2003)
Mixed culture	Benzyl alcohol	5-60	0.87	6.74	0.60	This study

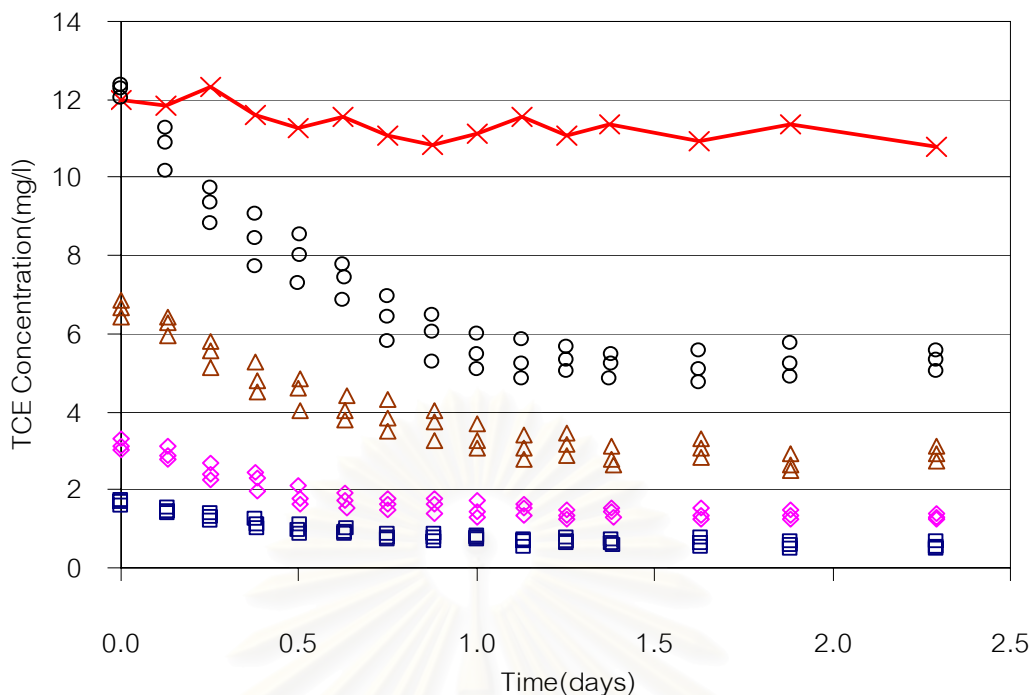
4.5 การศึกษาหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอเททิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอินและโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์

งานวิจัยนี้ศึกษาหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ในกระบวนการร่วมไตรคลอโรเอเททิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอินและโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ โดยแบ่งการศึกษาการรายงานผลและการวิเคราะห์ผล ออกเป็น 3 ขั้นตอน ตามลำดับ ดังนี้

4.5.1 การศึกษาการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน

การทดลองชุดนี้ประกอบด้วยขวดซีรัม 13 ขวด โดยใช้ขวดซีรัม 3 ขวดต่อหนึ่งความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเททิลีน แต่ละขวดมีสารละลาย BSM 50 มิลลิลิตรและผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ความเข้มข้นเริ่มต้นของไตรคลอโรเอเททิลีนประมาณ 1.5, 3.0, 6.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นเริ่มต้นของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอินประมาณ 70, 140, 280 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับชุดควบคุม (Control) ใช้ขวดซีรัม 1 ขวดที่ฆ่าเซลล์จุลินทรีย์ด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ที่ความเข้มข้นประมาณ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตรนำขวดซีรัมทั้งหมดใส่ลงในเครื่องเขย่าตั้งความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาทีตลอดการทดลอง ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 25 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างจนกระทั่งความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเททิลีนมีค่าค่อนข้างคงที่ระหว่างการทดลองฉีดออกซิเจนให้มีปริมาณมากพอเพื่อใช้ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีน

ผลการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเททิลีนลดลงจนกระทั่งคงที่ภายในระยะเวลาประมาณ 2 วัน ดังรูปที่ 4.11 รายละเอียดผลการศึกษาแสดงในภาคผนวก ง.-1 ในภาคผนวก ง และสามารถย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนที่ความเข้มข้น 1.5, 3.0, 6.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นลดลงร้อยละ 62, 58, 57 และ 55 ตามลำดับ การที่การย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนหยุดลง จนทำให้ความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเททิลีนคงที่ น่าจะเกิดจากผลิตภัณฑ์ (TCE Epoxide) ของการย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีน ซึ่งมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ทำลายเอนไซม์และทำให้จุลินทรีย์หมดประสิทธิภาพในการย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีน ซึ่งมีการรายงานโดย Wackett และ Gibson (1988) นอกจากนี้ Wackett และ Householder (1989) และ Heald และ Jenkins (1994) พบว่าพิษจาก TCE epoxide ทำให้จุลินทรีย์ *Pseudomonas putida* F1 ที่ใช้โทลูอินเป็นซับสเตรตนั้นสามารถย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนได้ลดลง Bielefeldt และคณะ (1995) พบว่ายิ่งไตรคลอโรเอเททิลีนถูกย่อยสลายได้มาก ความสามารถในการย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนของจุลินทรีย์จะลดลงและจุลินทรีย์จะหมดความสามารถในที่สุด ส่งผลให้อัตราการย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนลดลง และความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเททิลีนคงที่

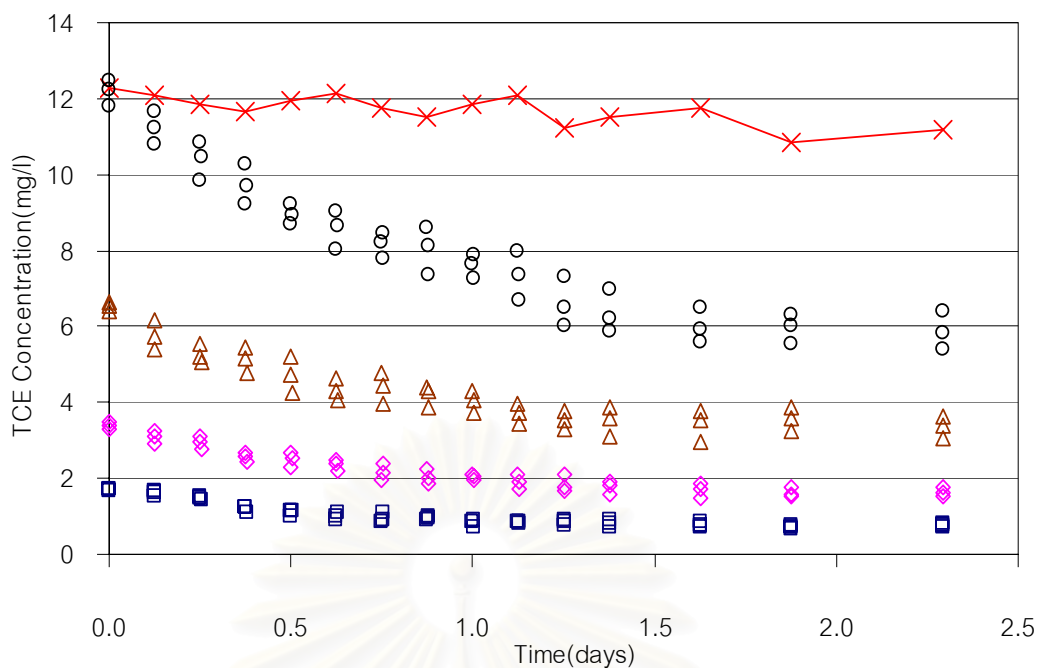


รูปที่ 4.11 การร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอทิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน
(□,1.5 มก.ต่อลิตร ; ◇,3.0 มก.ต่อลิตร ; Δ,6.0 มก.ต่อลิตร ; O,10 มก.ต่อลิตร ; x ,ชุดควบคุม)

4.5.2 การศึกษาการศึกษาการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์

การทดลองชุดนี้ ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองศึกษากระบวนการร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ประมาณ 1.5, 3.0, 6.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์ประมาณ 70, 140, 280 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเก็บตัวอย่างจนกระทั่งความเข้มข้นของไตรคลอโรเอทิลีนมีค่าค่อนข้างคงที่เช่นกัน

ผลการศึกษาพบว่า ค่าความเข้มข้นของไตรคลอโรเอทิลีนลดลงจนกระทั่งคงที่ภายในระยะเวลาประมาณ 2.5 วัน ซึ่งใช้เวลานานกว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน ดังรูปที่ 4.12 รายละเอียดผลการศึกษาแสดงในภาคผนวก ง.-2 ในภาคผนวก ง และสามารถย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนที่ความเข้มข้น 1.5, 3.0, 6.0 และ 10.0 ความเข้มข้นลดลงร้อยละ 56, 51, 48 และ 45 ตามลำดับ โดยจะสามารถย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนได้น้อยกว่าการใช้เซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน และการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนหยุดลง จนทำให้ไตรคลอโรเอทิลีนคงที่ น่าจะเกิดจากผลิตภัณฑ์ (TCE Epoxide) ของการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน ซึ่งมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ทำลายเอนไซม์และทำให้จุลินทรีย์หมดประสิทธิภาพในการย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน



รูปที่ 4.12 การร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอทิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ (\square , 1.5 มก.ต่อลิตร ; \diamond , 3.0 มก.ต่อลิตร ; Δ , 6.0 มก.ต่อลิตร ; \circ , 10 มก.ต่อลิตร ; x, ชุดควบคุม)

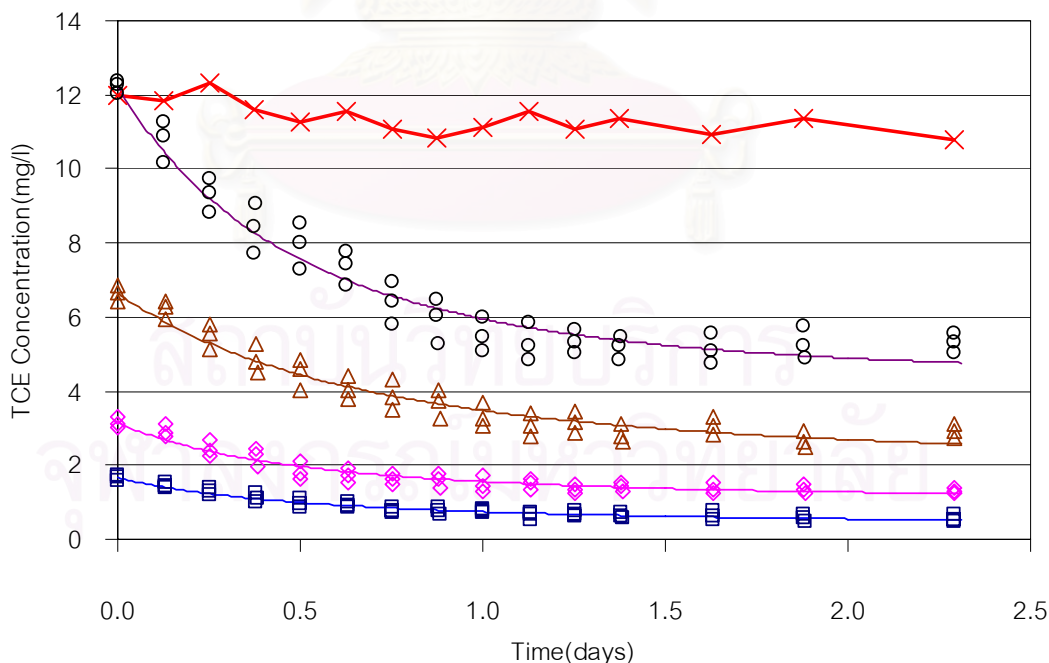
4.5.3 การศึกษาหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศโดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์

งานวิจัยนี้ใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b วิเคราะห์การร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอิน และโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ โดยการนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาป้อนในแบบจำลองคอมพิวเตอร์ และทำการหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ที่เหมาะสมทั้งหมด 3 ตัว คือ ตัวคงที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (maximum specific degradation rate ; k_{max}) ค่าคงที่การอิ่มตัว (half saturation content ; K_s) และค่า Transformation capacity (T_c) โดยใช้สมการที่ 3.6 และ 3.8 ดังแสดงในบทที่ 3

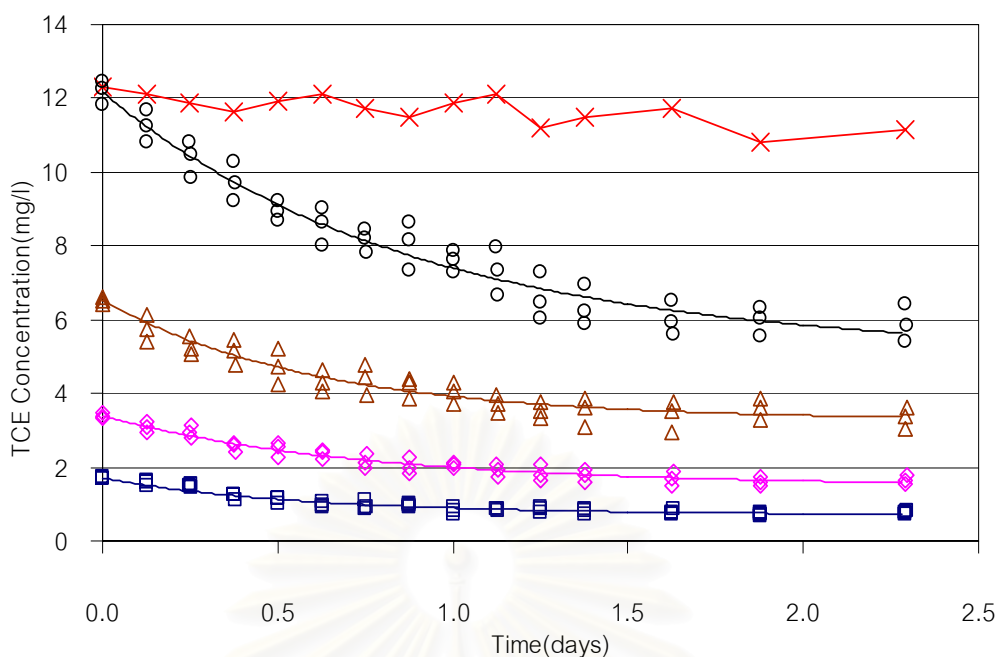
จากการประมาณค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ที่เหมาะสม โดยใช้แบบจำลองได้ดังตารางที่ 4.3 ค่าเฉลี่ยของ k_{max} , K_s และ T_c ของจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอิน คือ 0.283 ± 0.0172 มิลลิกรัมโกลูอินต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน, 10.59 ± 2.508 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.0410 ± 0.0045 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอทิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ ตามลำดับ และของจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ คือ 0.0548 ± 0.0159 มิลลิกรัมโกลูอินต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน 0.5938 ± 0.3989 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.0337 ± 0.0042 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอทิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ ตามลำดับ กราฟที่แสดงผลการทดลองและกราฟที่ได้จากแบบจำลองคอมพิวเตอร์แสดงดังรูปที่ 4.13 กับ 4.14

ตารางที่ 4.3 ผลจากการประมาณค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนโดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b

ซึบสเตรต	ความเข้มข้นของ TCE (mg/l)	k_{max} (mg-TCE/mg-Cell /day)	K_s (mg/l)	T_c (mg-TCE/mg-Cell)	SEE
โกลูอิน	1.661 ± 0.059	0.517	9.040	0.0469	0.042
	3.148 ± 0.145	0.307	10.017	0.0364	0.101
	6.646 ± 0.199	0.137	9.017	0.0415	0.840
	12.231 ± 0.208	0.171	14.286	0.0391	1.795
	ค่าเฉลี่ย	0.283±0.0172	10.59±2.508	0.0410±0.0045	-
เบนซิลแอลกอฮอล์	1.711 ± 0.020	0.0777	0.446	0.0347	0.055
	3.403 ± 0.088	0.0527	0.516	0.0353	0.151
	6.520 ± 0.109	0.0468	0.246	0.0276	0.225
	12.178 ± 0.123	0.0421	1.167	0.0373	1.294
	ค่าเฉลี่ย	0.0548±0.0159	0.5938±0.3989	0.0337±0.0042	-



รูปที่ 4.13 แบบจำลองคอมพิวเตอร์ของการร่วมย่อยสลาย TCE โดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอิน (□, ◇, Δ, O, ความเข้มข้นของโกลูอินจากการทดลอง ; — เส้นกราฟประมาณจากแบบจำลอง ; x, ชุดควบคุม)



รูปที่ 4.14 แบบจำลองคอมพิวเตอรืของการร่วมย่อยสลาย TCE โดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ (\square , \diamond , Δ , O , ความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์จากการทดลอง ; — เส้นกราฟประมาณจากแบบจำลอง ; x ,ชุดควบคุม)

เมื่อพิจารณาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทอริลีนแบบใช้ออกซิเจนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน และโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์เปรียบเทียบกับค่าที่มีการศึกษามา ดังตารางที่ 4.4 พบว่าสามารถแบ่งค่า K_s ได้เป็น 3 กลุ่มเช่นกัน คือ กลุ่มที่มีค่า K_s ต่ำ (< 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) กลุ่มปานกลาง ($1.0 - 2.0$ มิลลิกรัมต่อลิตร) และกลุ่มสูง (> 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่วนใหญ่มีค่าอยู่ในกลุ่มสูง สำหรับค่า K_s ของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทอริลีนแบบใช้ออกซิเจนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอินที่ได้จากการศึกษานี้ จัดอยู่ในกลุ่มที่มีค่า K_s สูง เช่นเดียวกับของ McCarty และคณะ (1998) และ Chang และ Alvarez-Cohen (1995b) ในจุลินทรีย์พันธุ์ผสม (mixed culture) คือ 10.0 และ 8.64 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนของจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์จัดอยู่ในกลุ่มที่มีค่า K_s ต่ำและมีค่าใกล้เคียงกับ Tejasen (2003) ในจุลินทรีย์พันธุ์ผสม คือ 0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร

ส่วนค่าของ k_{max} ของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทอริลีนส่วนใหญ่แบ่งค่าได้เป็น 3 กลุ่มเช่นกัน คือ กลุ่มค่า k_{max} ต่ำ (< 0.1 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทอริลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน) กลุ่มค่า k_{max} ปานกลาง ($0.1 - 1.0$ มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทอริลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน) และกลุ่มค่า k_{max} สูง (> 1.0 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทอริลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน) ส่วนใหญ่มีค่าอยู่ในกลุ่มค่า k_{max} ปานกลาง ยกเว้น *Burkholderia cepacia* G4 ซึ่งมีค่ามากกว่าช่วงที่กำหนดมาก ค่าของ k_{max} ของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทอริลีนของจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอินที่

ได้จากการศึกษานี้ จัดอยู่ในกลุ่มที่มีค่า k_{max} ปานกลาง ใกล้เคียงกับค่าที่ศึกษาโดย Park และคณะ (2002) และ Chang และ Alvarez-Cohen (1995b) คือ 0.37 และ 0.17 มิลลิกรัมไตร-คลอโรเอเทธิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวันและจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์จัดอยู่ในกลุ่มค่า k_{max} ต่ำ ใกล้เคียงกับค่าที่ศึกษาโดย Tejasen (2003) คือ 0.084 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทธิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน

สำหรับค่า Transformation capacity (T_c) แสดงถึงความสามารถในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทธิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินมีค่าเท่ากับ 0.0410 ± 0.0045 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทธิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ ใกล้เคียงกับของจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ ที่มีค่าเท่ากับ 0.0337 ± 0.0042 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทธิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ ประมาณได้ว่าในการย่อยสลายไตรคลอโรเอเทธิลีน 1 มิลลิกรัม ใช้เซลล์จุลินทรีย์ประมาณ 24 และ 30 มิลลิกรัม สำหรับการให้โกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรต ตามลำดับ แสดงว่าจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินมีประสิทธิภาพในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทธิลีน ดีกว่าจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองหาค่า T_c ของ Tejasen (2003) รายงานว่า จุลินทรีย์ที่โตบนฟีนอลแต่ไม่โตบนโกลูอินมีประสิทธิภาพในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทธิลีนดีกว่าจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์แสดงให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์พันธุ์ผสม (mixed culture) มีคุณสมบัติแตกต่างจากการทดลองนี้ แต่จุลินทรีย์ทั้งสองยังสามารถใช้เบนซิลแอลกอฮอล์แทนได้ และมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน ซึ่งทั้งฟีนอลและโกลูอินต่างเป็นสารอะโรมาติกที่นิยมใช้เป็นซับสเตรตในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทธิลีนแบบใช้อากาศ

การประมาณค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์โดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร် AQUASIM2.1b พบว่า ค่า K_s ของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทธิลีนแบบใช้ออกซิเจนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินและจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์มีค่าแตกต่างกันมาก สำหรับค่า k_{max} ที่ลดลงเมื่อความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเทธิลีนสูงขึ้น สาเหตุอาจมาจากความเป็นพิษของไตรคลอโรเอเทธิลีนที่ความเข้มข้นสูง สอดคล้องกับรายงานของ Futamata และคณะ (2001a, b) ศึกษาพบว่า จุลินทรีย์ *Pseudomonas putida* P35X ที่โตบนฟีนอลสามารถร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทธิลีนที่ความเข้มข้นต่ำ (65 มิลลิกรัมต่อลิตร) และมีค่า k_{max} (0.053 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทธิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน) มากกว่า ค่า k_{max} (0.010 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเทธิลีนสูง (200 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ Tejasen (2003) ศึกษาพบว่า การใช้จุลินทรีย์พันธุ์ผสมที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทธิลีนแบบใช้อากาศ เมื่อความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเทธิลีนสูง (15 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะมีค่า k_{max} (0.025 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทธิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน) น้อยกว่าค่า k_{max} (0.060 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเทธิลีนต่ำ (2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งได้ใช้สมการ Haldane kinetics

ในการอธิบายผลของค่า k_{max} ที่ลดลงเมื่อความเข้มข้นของไตรโคลอโรเอทิลีนสูงขึ้น แต่สำหรับงานวิจัยนี้เนื่องจากไม่มีข้อมูลเพียงพอในการวิเคราะห์ผล จึงไม่สามารถใช้สมการ Haldane kinetics ได้

สำหรับค่า T_c มีค่าค่อนข้างคงที่ ถึงแม้ค่า K_s และ k_{max} จะแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Chang และ Alvarez-Cohen (1995b) พบว่า เมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นเริ่มต้นของไตรโคลอโรเอทิลีนและมวลเซลล์แล้ว ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า T_c แสดงว่าค่า K_s และ k_{max} ถึงจะมีค่าแตกต่างกันมาก แต่เชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองจากการทดลองยังมีประสิทธิภาพในการร่วมย่อยสลายไตรโคลอโรเอทิลีนแบบใช้อากาศได้ และมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน (จากค่า T_c)

สำหรับค่าความผิดพลาดมาตรฐาน (SEE) ของค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ที่ได้ พบว่า ในความเข้มข้นไตรโคลอโรเอทิลีนสูงมีค่าความผิดพลาดมาตรฐานสูง และในความเข้มข้นไตรโคลอโรเอทิลีนต่ำมีค่าความผิดพลาดมาตรฐานต่ำ แสดงว่า ความเข้มข้นในการทดลองมีผลต่อค่าความผิดพลาดมาตรฐาน โดยแต่ละความเข้มข้นจะมีค่าความผิดพลาดมาตรฐานประมาณร้อยละ 10 ของความเข้มข้นไตรโคลอโรเอทิลีนเริ่มต้น สำหรับผลกระทบของตัวแปรเหล่านี้ต่อแบบจำลองคอมพิวเตอร์ ได้แสดงรายละเอียดในหัวข้อที่ 4.6

ด้วยคุณสมบัติของเบนซิลแอลกอฮอล์ที่เป็นของเหลว ไม่เป็นพิษ ละลายน้ำได้ดี ไม่ลุกติดไฟ และยังไม่มีการควบคุมการใช้ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้เป็นสับสเตรตแทนโทลูอีนในการบำบัดไตรโคลอโรเอทิลีนในงานภาคสนาม

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนที่ได้จากการประมาณด้วยแบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b กับงานวิจัยที่ผ่านมา

Microorganism	Growth Substrate	Conc.TCE (mg/L)	k_{max} (1/day)	K_s (mg/l)	T_c (mg-TCE/mg-Cell)	Reference
<i>Pseudomonas putida</i> B2	Toluene	0-10	1.3	6.4	0.035	Kelly และคณะ (2000)
<i>Burkholderia cepacia</i> G4	Toluene	-	3.50	1.577	-	Newman และคณะ (1995)
<i>Pseudomonas cepacia</i> G4	Toluene	-	0.95	0.80	-	Landa และคณะ (1994)
<i>Pseudomonas cepacia</i> G4	Toluene	0.65-9.85	1.706	3.81	-	Sun และคณะ (1996)
<i>Pseudomonas cepacia</i> KR1	Toluene	0.65-9.85	1.89	1.314	-	Sun และคณะ (1996)
<i>Pseudomonas putida</i> F1	Toluene	0.65-9.85	0.75	0.66	-	Sun และคณะ (1996)
<i>Pseudomonas putida</i> F1	Toluene	1.32-13.14	0.49	10.12	0.0052	Heald และ Jenkins (1994)
<i>Ralstonia pickettii</i> PKO1	Toluene	0-50	0.37	9.80	-	Park และคณะ (2002)
Mixed culture	Toluene	1-30	0.17	8.64	0.0073	Chang และ Alvarez-Cohen (1995b)
Mixed culture	Toluene	0.5-1.5	0.70	10	-	Mccarty และคณะ (1998)
Mixed culture	Toluene	1.5-10.0	0.283	10.59	0.0410	This study
Mixed culture	Benzyl alcohol	0.13-2.0	0.084	0.33	0.0300	Tejasen (2003)
Mixed culture	Benzyl alcohol	1.5-10.0	0.055	0.594	0.0337	This study

4.6 การทดสอบความถูกต้องของค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์

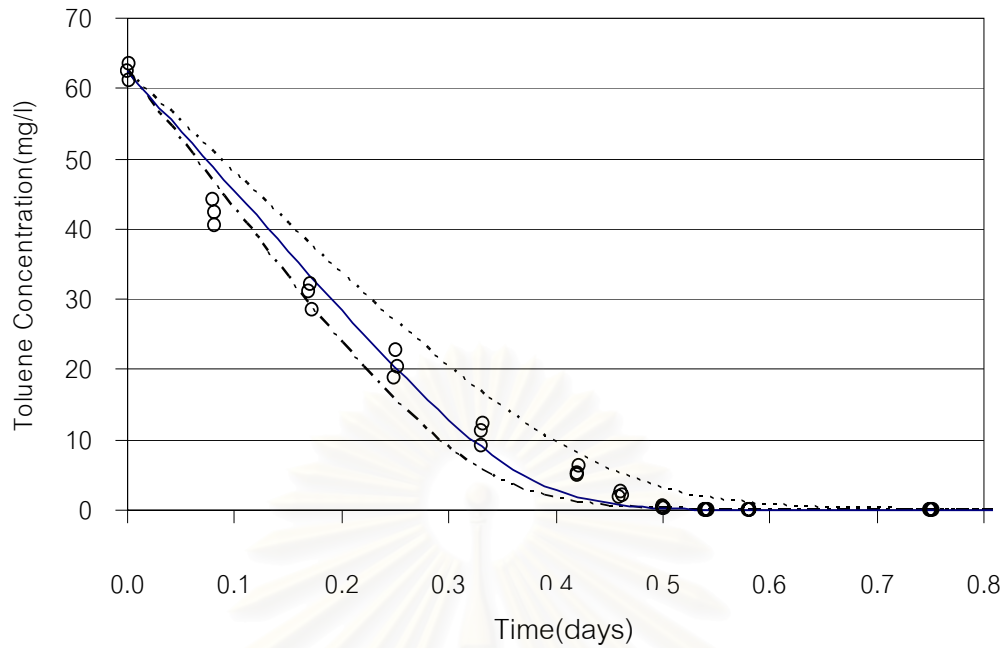
จากการประมาณค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ในกระบวนการย่อยสลายของโกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์ และการร่วมย่อยสลายไตรคโลโรเอทิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินและโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์โดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b พบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าของ k_{max} , K_s และ T_c มีผลต่อแบบจำลองแตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องมีการทดสอบความถูกต้องของค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ เพื่อให้ทราบถึงผลกระทบและขอบเขตของตัวแปรเหล่านี้ต่อแบบจำลองคอมพิวเตอร์

4.6.1 ผลกระทบของค่า k_{max} และ K_s ต่อการย่อยสลายโกลูอิน และเบนซิลแอลกอฮอล์

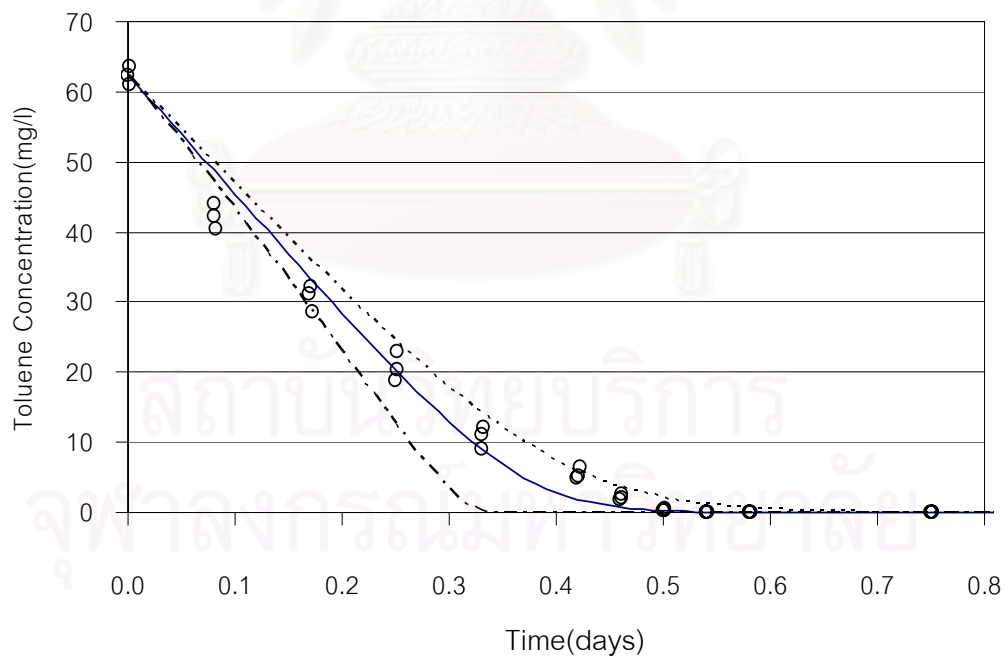
เมื่อพิจารณาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายของโกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์ที่ได้จากการประมาณโดยแบบจำลองคอมพิวเตอร์ สามารถกำหนดขอบเขตค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ ให้ครอบคลุมกับผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 4.5 โดยใช้ค่า K_s เปลี่ยนแปลงค่า k_{max} ดังรูปที่ 4.15 และใช้ค่า k_{max} เปลี่ยนแปลงค่า K_s ดังรูปที่ 4.16

ตารางที่ 4.5 ขอบเขตของค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายของโกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์

ซับสเตรต	ความเข้มข้นซับสเตรต (mg/l)	k_{max} (mg-Substrate/mg-Cell /day)	K_s (mg/l)
โกลูอิน	4.800 ± 0.155	1.4 – 1.9	2.0 – 4.5
	14.742 ± 0.208	1.5 – 2.0	5.0 – 8.5
	27.312 ± 0.426	1.0 – 1.3	6.5 – 12.0
	62.316 ± 1.304	1.1 – 1.5	5.0 – 15.0
เบนซิลแอลกอฮอล์	5.754 ± 0.133	0.8 – 1.1	2.5 – 4.5
	15.910 ± 0.216	0.9 – 1.3	5.5 – 10.0
	33.230 ± 0.674	0.7 – 0.95	5.0 – 12.0
	63.212 ± 0.812	0.55 – 0.75	4.5 – 15.0



รูปที่ 4.15 ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงค่า k_{max} ในการย่อยสลายโทลูอีน
(O, ความเข้มข้นของโทลูอีนจากการทดลอง ; — ค่า k_{max} เท่ากับ 1.47 ต่อวัน ; - - - ค่า k_{max} เท่ากับ 1.50 ต่อวัน ; - . - ค่า k_{max} เท่ากับ 1.10 ต่อวัน)



รูปที่ 4.16 ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงค่า K_s ในการย่อยสลายโทลูอีน
(O, ความเข้มข้นของโทลูอีนจากการทดลอง ; — ค่า K_s เท่ากับ 8.24 มก./ล. ; - - - ค่า K_s เท่ากับ 5.0 มก./ล. ; - . - ค่า K_s เท่ากับ 15.0 มก./ล.)

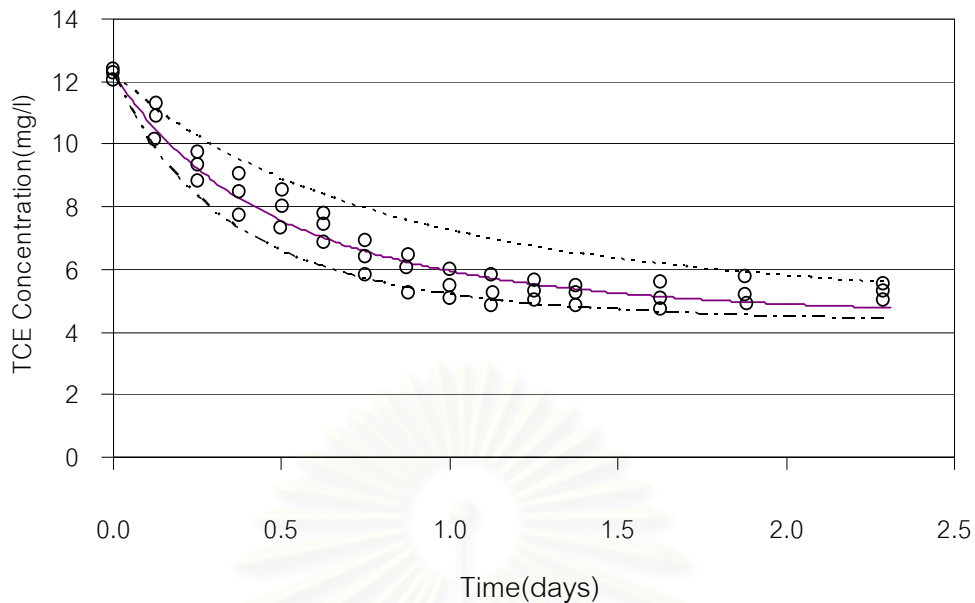
ขอบเขตของค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายของโทลูอีน และเบนซิล แอลกอฮอล์โดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร် AQUASIM2.1b สรุปได้ว่า ขอบเขตของค่า k_{max} ในการย่อยสลายโทลูอีนมีค่าตั้งแต่ 1.0 ถึง 1.9 มิลลิกรัมโทลูอีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน ในขณะที่ขอบเขตของค่า K_s มีค่าตั้งแต่ 2.0 ถึง 15.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และในการย่อยสลายเบนซิล แอลกอฮอล์ ขอบเขตของค่า k_{max} มีค่าตั้งแต่ 0.55 ถึง 1.3 มิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์ต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน ในขณะที่ขอบเขตของค่า K_s มีค่าตั้งแต่ 2.5 ถึง 15.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งขอบเขตทั้งสองนี้สามารถครอบคลุมผลการทดลองส่วนมากไว้ได้ (ร้อยละ 80 ถึง 90 ของข้อมูล) โดยขอบเขตของค่า k_{max} จะแคบกว่าขอบเขตของค่า K_s มาก แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงค่า k_{max} จะส่งผลต่ออัตราการย่อยสลายของซับสเตรตมากกว่าการเปลี่ยนแปลงค่า K_s ดังนั้นค่า k_{max} จึงน่าจะมีการวัดที่ถูกต้องมากกว่าค่า K_s

4.6.2 ผลกระทบของค่า k_{max} , K_s และ T_c ต่อการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีนและโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์

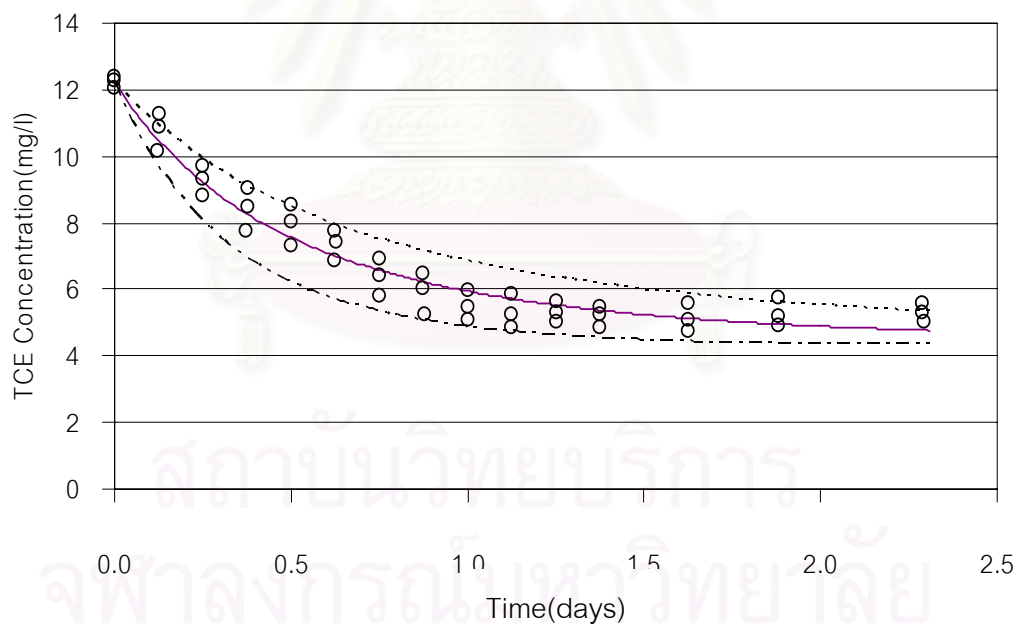
เมื่อพิจารณาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีนและโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ที่ได้ จากแบบจำลอง สามารถกำหนดขอบเขตค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ให้ครอบคลุมกับผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 4.6 โดยใช้ค่า K_s และ T_c เปลี่ยนแปลงค่า k_{max} ดังรูปที่ 4.17 ใช้ค่า k_{max} และ T_c เปลี่ยนแปลงค่า K_s ดังรูปที่ 4.18 และใช้ค่า k_{max} และ K_s เปลี่ยนแปลงค่า T_c ดังรูปที่ 4.19

ตารางที่ 4.6 ขอบเขตของค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีน

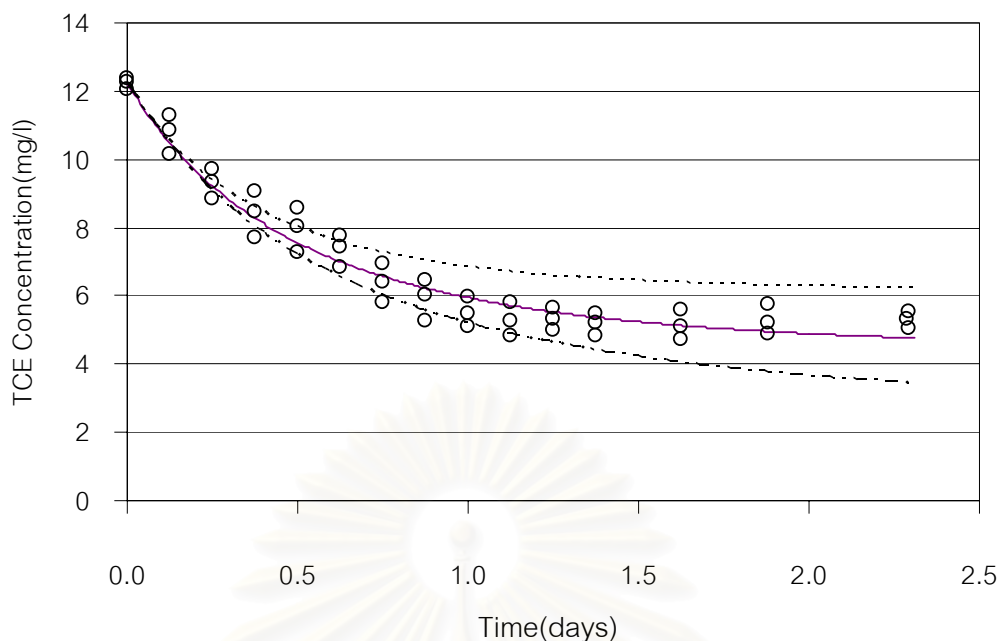
ซับสเตรต	ความเข้มข้นของ TCE (mg/l)	k_{max} (mg-TCE/mg-Cell /day)	K_s (mg/l)	T_c (mg-TCE/mg-Cell)
โทลูอีน	1.661 ± 0.059	0.30 - 0.60	5.0 - 15.0	0.030 - 0.060
	3.148 ± 0.145	0.20 - 0.50	5.0 - 15.0	0.030 - 0.050
	6.646 ± 0.199	0.08 - 0.20	5.0 - 15.0	0.030 - 0.060
	12.231 ± 0.208	0.10 - 0.25	5.0 - 25.0	0.030 - 0.050
เบนซิล แอลกอฮอล์	1.711 ± 0.020	0.05 - 0.12	0.10 - 1.50	0.030 - 0.045
	3.403 ± 0.088	0.04 - 0.08	0.10 - 1.50	0.030 - 0.045
	6.520 ± 0.109	0.03 - 0.08	0.05 - 1.50	0.020 - 0.035
	12.178 ± 0.123	0.03 - 0.06	0.10 - 5.00	0.025 - 0.050



รูปที่ 4.17 ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงค่า k_{max} ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน (O, ความเข้มข้นของไตรคลอโรเอทิลีนจากการทดลอง ; — ค่า k_{max} เท่ากับ 0.28 ต่อวัน ; --- ค่า k_{max} เท่ากับ 0.25 ต่อวัน ; - - - ค่า k_{max} เท่ากับ 0.10 ต่อวัน)



รูปที่ 4.18 ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงค่า K_s ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีน (O, ความเข้มข้นของไตรคลอโรเอทิลีนจากการทดลอง ; — ค่า K_s เท่ากับ 10.6 มก./ล.; --- ค่า K_s เท่ากับ 5.0 มก./ล.; - - - ค่า K_s เท่ากับ 25.0 มก./ล.)



รูปที่ 4.19 ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงค่า T_c ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีน
(O, ความเข้มข้นของไตรคลอโรเอเททิลีนจากการทดลอง ; — ค่า T_c เท่ากับ 0.034
มก.TCE/มก.เซลล์ ; --- ค่า T_c เท่ากับ 0.050 มก.TCE/มก.เซลล์ ; -.- ค่า T_c เท่ากับ
0.030 มก.TCE/มก.เซลล์)

ขอบเขตของค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินและโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ โดยใช้แบบจำลองคอมพิวเตอร์ AQUASIM2.1b สรุปได้ว่า ขอบเขตของค่า k_{max} ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินมีค่าตั้งแต่ 0.08 ถึง 0.60 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเททิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน ในขณะที่ขอบเขตของค่า K_s มีค่าตั้งแต่ 5.0 ถึง 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนขอบเขตของค่า T_c มีค่าตั้งแต่ 0.030 ถึง 0.060 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเททิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ และในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเททิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ ขอบเขตของค่า k_{max} มีค่าตั้งแต่ 0.03 ถึง 0.12 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเททิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน ในขณะที่ขอบเขตของค่า K_s มีค่าตั้งแต่ 0.05 ถึง 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนขอบเขตของค่า T_c มีค่าตั้งแต่ 0.020 ถึง 0.050 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเททิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ ซึ่งขอบเขตทั้งสามสามารถครอบคลุมผลการทดลองส่วนมากไว้ได้ (ร้อยละ 70 ถึง 90 ของข้อมูล) โดยขอบเขตของค่า T_c จะแคบกว่าขอบเขตของค่า k_{max} และ K_s มาก แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงค่า T_c จะส่งผลต่ออัตราการร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอเททิลีนแบบใช้อากาศมากกว่าการเปลี่ยนแปลงค่า k_{max} และ K_s ดังนั้นค่า T_c จึงน่าจะมีความถูกต้องมากกว่าค่า k_{max} และ K_s

ประโยชน์ของค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ที่ใช้ในการเติบโต ปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในปฏิกิริยา และระยะเวลาที่ จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายไตรคอลลอโรเอทิลีน ซึ่งค่าต่าง ๆ เหล่านี้จะส่งผลต่อของวิธีการบำบัด ค่าใช้จ่ายในการบำบัด ระยะเวลา และลักษณะของระบบได้ อย่างไรก็ตามการนำค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์เหล่านี้ไปใช้จะต้องประยุกต์ใช้ด้วยความระมัดระวังโดยต้องทำความเข้าใจหลักการและกลไกของกระบวนการรวมทั้งที่มาที่ไปของข้อมูลให้ดีเสียก่อน หากสามารถวิจัยและทดลองหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ขึ้นมาเองสำหรับงานนั้น ๆ โดยเฉพาะก็สมควรทำเป็นอย่างยิ่งเพราะจะทำให้งานที่ได้มีความถูกต้องแม่นยำ และความน่าเชื่อถือมากขึ้น

ในการนำข้อมูลนี้ไปใช้ออกแบบการทดลองแบบคอลัมน์หรือนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้บำบัดการปนเปื้อนของไตรคอลลอโรเอทิลีนในภาคสนาม ถือได้ว่าข้อมูลนี้เป็นค่าที่ต้องมีการตรวจสอบด้วยการทดลองที่มีสภาพใกล้เคียงกับการนำไปใช้จริง และในการนำไปใช้งานในภาคสนามจริงค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์เหล่านี้มีโอกาสเปลี่ยนแปลงได้อีก จึงควรจะมีการติดตามตรวจสอบอยู่เสมอ ๆ



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการวิจัยในเรื่องการหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการร่วมย่อยสลายไทรคလိုโรเอเทอรีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน หรือโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ ในครั้งนี้สามารถสรุปผลงานวิจัย และมีข้อเสนอแนะในการที่จะทำการศึกษา และวิจัยต่อไปดังนี้

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองการใช้โทลูอีน และเบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรตในการบำบัดไทรคလိုโรเอเทอรีน สามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

1. จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีนสามารถใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรตแทนโทลูอีนในการบำบัดไทรคလိုโรเอเทอรีนได้ โดยมีประสิทธิภาพ (T_C) ใกล้เคียงกัน
2. ค่ายิลด์ (Yield) ของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีนและใช้โทลูอีนเป็นซับสเตรต และของเซลล์จุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์และใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรตมีค่าเท่ากับ 0.742 ± 0.028 มิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อมิลลิกรัมโทลูอีน และ 0.603 ± 0.070 มิลลิกรัมเซลล์ต่อมิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์ ตามลำดับ
3. เมื่อทำการประมาณค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ พบว่า ค่าเฉลี่ยของ k_{max} และ K_S ของการย่อยสลายโทลูอีนแบบใช้อากาศ คือ 1.435 ± 0.299 มิลลิกรัมโทลูอีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน และ 7.026 ± 2.649 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าเฉลี่ยของ k_{max} และ K_S ของการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ คือ 0.870 ± 0.172 มิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์ต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน และ 6.738 ± 2.212 มิลลิกรัมต่อลิตร และของการร่วมย่อยสลายไทรคလိုโรเอเทอรีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอีน ค่าเฉลี่ยของ k_{max} และ K_S คือ 0.283 ± 0.0172 มิลลิกรัมโทลูอีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวันและ 10.59 ± 2.508 มิลลิกรัมต่อลิตร และของจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ คือ 0.0548 ± 0.0159 มิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์ต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน, 0.5938 ± 0.3989 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการคำนวณค่า Transformation Capacity ของการใช้โทลูอีน และเบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรตในการย่อยสลายไทรคလိုโรเอเทอรีนมีค่าเท่ากับ 0.0410 ± 0.0045 มิลลิกรัมไทรคလိုโรเอเทอรีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์และ 0.0337 ± 0.0042 มิลลิกรัมไทรคလိုโรเอเทอรีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์

4. ขอบเขตของค่า k_{max} ในการย่อยสลายโกลูอินมีค่าตั้งแต่ 1.0 ถึง 1.9 มิลลิกรัมโกลูอินต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน ขณะที่ขอบเขตของค่า K_S มีค่าตั้งแต่ 2.0 ถึง 15.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และในการย่อยสลายเบนซิลแอลกอฮอล์ ขอบเขตของค่า k_{max} มีค่าตั้งแต่ 0.55 ถึง 1.3 มิลลิกรัมเบนซิลแอลกอฮอล์ต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน ขณะที่ขอบเขตของค่า K_S มีค่าตั้งแต่ 2.5 ถึง 15.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทอิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินขอบเขตของค่า k_{max} มีค่าตั้งแต่ 0.08 ถึง 0.60 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทอิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน ขณะที่ขอบเขตของค่า K_S มีค่าตั้งแต่ 5.0 ถึง 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนขอบเขตของค่า T_c มีค่าตั้งแต่ 0.030 ถึง 0.060 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทอิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ และในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทอิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ ขอบเขตของค่า k_{max} มีค่าตั้งแต่ 0.03 ถึง 0.12 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทอิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์ต่อวัน ขณะที่ขอบเขตของค่า K_S มีค่าตั้งแต่ 0.05 ถึง 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนขอบเขตของค่า T_c มีค่าตั้งแต่ 0.020 ถึง 0.050 มิลลิกรัมไตรคลอโรเอเทอิลีนต่อมิลลิกรัมมวลเซลล์

5.2 ความสำคัญทางด้านวิศวกรรมและการนำไปใช้

จากงานวิจัยนี้สามารถนำไปประยุกต์ได้ดังนี้

1. เบนซิลแอลกอฮอล์มีสถานะเป็นของเหลวที่ไม่เป็นพิษ ซึ่งง่ายต่อการนำมาใช้ ทั้งละลายน้ำได้ดี ไม่ลุกติดไฟ และยังไม่มีความหมายควบคุมการใช้ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรตแทนโกลูอินในการบำบัดไตรคลอโรเอเทอิลีนในงานภาคสนาม
2. ค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายของโกลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์ การร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอเทอิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินและโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศเป็นข้อมูลเบื้องต้น และตัวแปรสำคัญในการออกแบบระบบในภาคสนาม

5.3 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ได้พบข้อที่น่าสนใจอีกหลายประการ เพื่อเป็นแนวทางในการทำวิจัยต่อไปดังนี้

1. ศึกษาการหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินและโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ โดยใช้จุลินทรีย์พันธุ์บริสุทธิ์ (pure culture) แทนจุลินทรีย์พันธุ์ผสม (mixed culture) ในการทดลองครั้งนี้ เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์ที่ได้
2. ศึกษาการหาค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์แบบคอดัมน์ และสามารถนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้บำบัดการปนเปื้อนของไตรคลอโรเอทิลีนในภาคสนาม
3. ศึกษาความสามารถของการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินและโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ในระยะยาว
4. ศึกษาการใช้สมการ Haldane kinetics ในการอธิบายผลของอัตราการย่อยสลายที่ลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น
5. ศึกษาความสามารถของจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอินและโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์ในของการร่วมย่อยสลายสาร CAHs ชนิดอื่น ๆ เช่น เตตระคลอโรเอทิลีน (PCE), 1,1-ไดคลอโรเอทิลีน (1,1-DCE), ทรานส์-1,2-ไดคลอโรเอทิลีน (trans-DCE), ซิส-1,2-ไดคลอโรเอทิลีน (cis-DCE), ไวนิลคลอไรด์ (VC) และ 1,1 ไดคลอโรอีเทน (1,1-DCA) เป็นต้น
6. ศึกษาการใช้แก๊สไซลีนหรือ BTEX (Benzene-Toluene-Ethylbenzene-Xylene) เป็นซับสเตรตในการบำบัดไตรคลอโรเอทิลีน เนื่องจากอาจมีการรั่วไหลของแก๊สไซลีนและ ไตรคลอโรเอทิลีนปนเปื้อนในน้ำใต้ดินพร้อมกัน ทำให้เป็นผลพลอยได้ในการใช้แก๊สไซลีน หรือ BTEX เป็นซับสเตรตในการบำบัดไตรคลอโรเอทิลีน
7. ศึกษาการใช้สารชนิดอื่นที่ไม่เป็นพิษมาใช้เป็นซับสเตรตในการร่วมย่อยสลายไตรคลอโรเอทิลีนทางชีวภาพ เช่น กลูโคส ฟลูกโตส แล็กเตส เทอร์ปีน เป็นต้น
8. ศึกษาการใช้โปรแกรม AQUASIM2.1b ในการประมาณการเคลื่อนที่ของน้ำใต้ดินที่มีไตรคลอโรเอทิลีนปนเปื้อนอยู่ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์แบบมากขึ้น สามารถนำไปใช้งานในพื้นที่จริงได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กรมควบคุมมลพิษ. (2547). ไตรคลอโรเอทิลีน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ไอเดีย สแควร์.
- กรมควบคุมมลพิษ. (2545). โทลูอีน. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: ไอเดีย สแควร์.
- กรมควบคุมมลพิษ. (2543). มาตรฐานคุณภาพน้ำใต้ดิน[Online]. แหล่งที่มา:
<http://www.pcd.go.th>[31 กรกฎาคม 2547]

ภาษาอังกฤษ

- Alvarez-Cohen, L., and McCarty P. L. (1991). A Cometabolic Biotransformation Model for Halogenated Aliphatic Compounds Exhibiting Product Toxicity. Environ. Sci. Technol., 25(8): 1381-1387.
- Alvarez-Cohen, L., and Speitel, G. E. J. (2001). Kinetics of Aerobic Cometabolism of Chlorinated Solvents. Biodegradation 12(2): 105-126.
- Anderson J. E., and McCarty P. L. (1997). Transformation Yields of Chlorinated Ethenes by a Methanotrophic Mixed Culture Expressing Particulate Methane Monooxygenase. Appl. Environ. Microbiol. 63: 687-693.
- Arciero, D., Vannelli, T., Lagan, M., and Hopper, A. B. (1989). Degradation of Trichloroethylene by the Ammonia Oxidizing Bacterium *Nitrosomonas europaea*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 159(2) 640-643.
- Arp, D. J., Yeager, C. M., and Hyman, M. R. (2001). Molecular and Cellular Fundamentals of Aerobic Cometabolism of Trichloroethylene. Biodegradation 12: 81-103.
- Ayoubi, P. J., and Harker, A. R. (1998). Whole-Cell Kinetics of Trichloroethylene Degradation by Phenol Hydroxylase in a *Ralstonia eutropha* JMP134 Derivative. Appl. Environ. Microbiol. 64(11): 4353-4356.

- Bielefeldt, A. R., Stensel, H. D., and Strand, S. E. (1995). Cometabolic Degradation of TCE and DCE Without Intermediate Toxicity. J. of Environmental Engineering 121(11): 791-797.
- Chang, M. K., Voice, T. C., and Criddle, C. S. (1993). Kinetics of competitive inhibition and cometabolism in the biodegradation of benzene, toluene, and p-xylene by two *Pseudomonas* isolates. Biotechnol. Bioeng. 41: 1057–1065.
- Chang, H. L., and Alvarez-Cohen, L. (1995a). Model for the Cometabolic Biodegradation of Chlorinated Organics. Environ. Sci. Technol. 29: 2357-2367.
- Chang, H. L., and Alvarez-Cohen, L. (1995b). Transformation Capacities of Chlorinated Organics by Mixed Cultures Enriched on Methane, Propane, Toluene or Phenol. Biotechnol. Bioeng. 45: 440-449.
- Chang, H. L., and Alvarez-Cohen, L. (1996). Biodegradation of Individual and Multiple Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons by Methane-Oxidizing Cultures. Appl. Environ. Microbiol. 62(9): 3371-3377.
- Chemical Land21 (2000). Benzyl Alcohol [Online]. Available from: www.chemicalland21.com/arokorhi/industrialchem/solalc/BENZYL%20ALCOHOL.html [2004, July 5]
- Choi, Y. B., Lee, J. Y., and Kim, H. S. (1992). A Novel Bioreactor for the Biodegradation of Inhibitory Aromatic Solvents: Experimental Results and Mathematical Analysis. Biotechnol. Bioeng. 40: 1403–1411.
- Chu, K. H., and Alvarez-Cohen, L. (1996). Trichloroethylene Degradation by Methane Oxidizing Culture Grown with Various Nitrogen Sources. Water Environment Research 68: 76-82.
- Coleman, N. V., Mattes, T. E., Gossett, J. M., and Spain, J. C. (2002a). Biodegradation of *cis*-Dichloroethene as the Sole Carbon Source by a β -Proteobacterium. Appl. Environ. Microbiol. 68(6): 2726-2730.
- Coleman, N. V., Mattes, T. E., Gossett, J. M., and Spain, J. C. (2002b). Phylogenetic and Kinetic Diversity of Aerobic Vinyl Chloride-Assimilating Bacteria from Contaminated Sites. Appl. Environ. Microbiol. 68(12): 6162-6171.

- DiSpirito, A. A., Gullledge, J., Shiemke, A. K., and Murrel, J. C. (1992). Trichloroethylene Oxidation by the Membrane-Associated methane Monooxygenase in Type I, Type II and Type X Methanotrophs. Biodegradation 2, 151-164.
- Ely, R. L., Williamson, K. J., and Arp, D. J. (1997). Cometabolism of Chlorinated Solvents by nitrifying bacteria: Kinetics Substrate Interaction, Toxicity Effects, and Bacterial Response. Biotechnol. Bioeng. 54: 520-534.
- Ensign, S. A., Hyman, M. R., and Arp, D. J. (1992). Cometabolic Degradation of Chlorinated Alkenes by Alkene Monooxygenase in a Propylene-Grown *Xanthobacter* Strain. Appl. Environ. Microbiol. 58(9): 3038-3046.
- Ensign, S. (1996). Aliphatic and Chlorinated Alkenes and Epoxides as Inducers of Alkene Monooxygenase and Epoxidase Activities in *Xanthobacter* Strain Py2. Appl. Environ. Microbiol. 62(1): 61-66.
- European Commission (2002). Opinion of the Scientific Committee on Food on Benzyl alcohol[Online]. Available from:
http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out138_en.pdf [2004, July 3]
- Ewers, J., Clemens, W., and Knackmuss, H. J., Eds. (1991). Biodegradation of Chloroethenes Using Isoprene as Co-Substrate. Vol. 1. International Symposium on Environmental Biotechnology. Ostend, Belgium: Royal Flemish Society of Engineers.
- Folsom, B. R., Chapman, P. J. and Pritchard, P. H. (1990). Phenol and Trichloroethylene Degradation by *Pseudomonas cepacia* G4: Kinetics and Interactions between substrates. Appl. Environ. Microbiol. 56(5): 1279-1285.
- Folsom, B. R., and Chapman, P. J. (1991). Performance Characterization of a Model Bioreactor for the Biodegradation of Trichloroethylene by *Pseudomonas cepacia* G4. Appl. Environ. Microbiol. 57(6): 1602-1608.
- Fries, M. R., Forney, L. J., and Tiedje, J. M. (1997a). Phenol and toluene degrading microbial populations from an aquifer in which successful trichloroethylene cometabolism occurred. Appl. Environ. Microbiol. 63(4):1523-1530.

- Fries, M. R., Hopkins, G. D., McCarty, P. L., Forney, L. J., and Tiedje, J. M. (1997b). Microbial succession during a field evaluation of phenol and toluene as the primary substrates for trichloroethylene cometabolism. Appl. Environ. Microbiol. 63(4):1515-1522.
- Futamata, H., Harayama, S., and Watanabe, K. (2001a). Diversity in Kinetics Trichloroethylene- Degrading Activities Exhibited by Phenol Degrading bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 55: 248-253.
- Futamata, H., Harayama, S., and Watanabe, K. (2001b). Group-Specific Monitoring of Phenol Hydroxylase Genes for a functional Assessment of Phenol-Stimulated Trichloroethylene Bioremediation. Appl. Environ. Microbiol. 67(10) : 4671-4677.
- Gao, J., and Skeen, R. S. (1999). Glucose-Induced Biodegradation of cis-Dichloroethylene Under Aerobic Conditions. Wat. Res. 33(12): 2789-2796.
- Goudar, C. T., Ganji, S. H., Pujar, B. G., and Strevett, K. A. (2000). Substrate Inhibition Kinetics of Phenol Biodegradation. Water Environment Research. 72(1): 50-55.
- Hartmans, S., and Bony, J. A. M. D. (1992). Aerobic Vinyl Chloride Metabolism in *Mycobacterium aurum* L1. Appl. Environ. Microbiol. 58(4): 1220-1226.
- Heald, S., and Jenkins, R. O. (1994). Trichloroethylene Removal and Oxidation Toxicity Mediated by Toluene Dioxygenase of *Pseudomonas putida*. Appl. Environ. Microbiol. 60(12): 4634-4637.
- Holman, J. P. (2001). " Experimental Methods for Engineers." Seventh ed. McGraw-Hill, Boston.
- Hopkins G. D., McCarty P. L. (1995). Field evaluation of in situ aerobic cometabolism of trichloroethylene and three dichloroethylene isomers using phenol and toluene as primary substrates. Environ. Sci. Technol. 29: 1628-1637.
- Hopkins G.D., Semprini L., and McCarty P.L. (1993a). Microcosm and in situ field studies of enhanced biotransformation of trichloroethylene by phenol-utilizing microorganisms. Appl. Environ. Microbiol. 59(7): 2277-2285.
- Hopkins, G. D., Munakata, J., Semprini, L., and McCarty, P. L. (1993b). Trichloroethylene Concentration Effects on Pilot Field Scale In-Situ Groundwater Bioremediation by Phenol-Oxidizing Microorganisms. Environ. Sci. Technol. 27: 2542-2547.

- Kahng, H. Y., Malinverni, J. C., Majko, M. M. and Kukor, J. J. (2001). Genetic and Functional Analysis of the *tbc* Operons for Catabolism of Alkyl- and Chloroaromatic Compounds in *Burkholderia* sp. Strain JS150. Appl. Environ. Microbiol. 67(10): 4805-4816.
- Kelly, C. J., Bienkowski, P. R., and Sayler, G. S. (2000). Kinetic Analysis of a *tod-lux* Bacterial Reporter for Toluene Degradation and Trichloroethylene Cometabolism. Biotechnol. Bioeng. 69(3): 256-264.
- Kim, Y., Arp, D. J., and Semprini, L. (2000). Chlorinated Solvent Cometabolism by Butane Grown Mixed Culture. J. Environmental Engineering 126(10): 934-942.
- Landa, A. S., Sipkema, E. M., Weijma, J., Beenackers, A. C. M., Dolfig, J., and Janssen, D. B. (1994). Cometabolic degradation of Trichloroethylene by *Pseudomonas cepacia* G4 in a Chemostat with Toluene as the Primary Substrate. Appl. Environ. Microbiol. 60(9): 3368-3374.
- Lee, S. B., Strand, S. E., and Stensel, H. D. (2000). Sustained Degradation of Trichloroethylene in a Suspended Growth Gas Treatment Reactor by an Actinomycetes Enrichment. Environ. Sci. Technol. 34(15): 3261-3268.
- Leonard, D., and Lindley, N. D. (1999). Growth of *Ralstonia Eutropha* on Inhibitory Concentrations of Phenol: Diminished Growth Can Be Attributed to Hydrophobic Perturbation of Phenol Hydroxylase Activity. Enzyme and Microbial Technol. 25: 271-277.
- Little, D. C., Palumbo, A. V., Herbes, S. E., Lidstrom, M. E. Tyndall, R.L., and Gilmer, P. J. (1988), Trichloroethylene Biodegradation by a Methane-Oxidizing bacterium. Appl. Environ. Microbiol. 54(4): 951-956.
- McCarty, P. L. (1997). Aerobic Cometabolism of Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons. In Ward, C. H., Cherry, J. A., and Scalf, M. R. (eds), Subsurface Restoration, 373-395. Michigan: Ann Arbor Press.
- McCarty, P. L., Goltz, M. N., Hopkins, G. D., Dolan, M. E., Allan, J. P., Kawakami, B. T., and Carrothers, T. J. (1998). Full-Scale Evaluation of In Situ Cometabolic Degradation of Trichloroethylene in Groundwater through Toluene Injection. Environ. Sci. Technol., 32(1): 88-100.

- Metcalf & Eddy Inc. (2003). "Wastewater Engineering : Treatment and Reuse." (G. Tchobanoglous, and F.L. Burton, Eds.), 4 th ed., McGraw-Hill, Inc, New York.
- Mirpuri, R., Jones, W., and Bryers, J. D. (1997). Toluene degradation kinetics for planktonic and biofilm-grown cells of *Pseudomonas putida* 54G. Biotechnol. Bioeng. 53: 535–546.
- Muller, R. H., Babel, W. (1995). Determination of the Ks Values during the Growth of *Alcaligenes eutrophus* on Phenol, 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid and Fructose. Acta Biotechnol. 4: 347–353.
- Munakata-Mars, A. E., Houwing, J., Dolfing, J., and Janssen, D. B. (1996). Degradation of toluene and trichloroethylene by *Burkholderia cepacia* G4 in growth-limited fed-batch culture. Appl. Environ. Microbiol. 62: 886–891.
- National Technical Information Service (1989). TR-343 Toxicology and Carcinogenesis Studies of Benzyl Alcohol (CAS No. 100-51-6) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies)[Online]. Available from: http://ntp_server.niehs.nih.gov/cgi/iH_Indexes/ALL_SRCH/iH_ALL_SRTR_Frames.html[2004, August 2]
- Nelson, M. J. K., Montgomery, S. O., Mahaffey, W. R., and Pritchard, P. H. (1987). Biodegradation of Trichloroethylene and Involvement of an Aromatic Biodegradative Pathway. Appl. Environ. Microbiol. 53(5): 949-954.
- Nelson, M. J. K., Montgomery, S. O., and Pritchard, P. H. (1988). Trichloroethylene Metabolism by Microorganisms That Degrade Aromatic Compounds. Appl. Environ. Microbiol. 54(2): 604-606.
- Newman, L. M., and Wackett L. P. (1995). Purification and characterization of toluene 2-monooxygenase from *Burkholderia cepacia* G4. Biochemistry. 34: 14066–14076.
- Oh, Y. S., Shareefdeen, Z., Baltzis, B. C., and Bartha, R. (1994). Interactions between benzene, toluene, and p-xylene (BTX) during their biodegradation. Biotechnol. Bioeng. 44: 533–538.
- Oldenhuis, R., Oedzes, J. Y., Waarde, J. J., and Janssen, D. B. (1991). Kinetics of Chlorinated Hydrocarbon Degradation by *Methylosinus trichosporium* OB3b and Toxicity of Trichloroethylene. Appl. Environ. Microbiol. 57: 7-14.

- Oldenhuis, R., Vink, R. L. J. M., Janssen, D. B., and Witholt, B. (1989). Degradation of Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons by *Methylosinus trichosporium* OB3b Expressing Soluble Methane Monooxygenase. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2819-2826.
- Park, J., Jerome, J. K., and Linda M. A. (2002). Characterization of the Adaptive Response to Trichloroethylene-Mediated Stresses in *Ralstonia pickettii* PKO1. Appl. Environ. Microbiol. 68: 5231–5240.
- Pedersen, A. R., Moller, S., Molin, S., and Arvin, E. (1997). Activity of toluene degrading *Pseudomonas putida* in the early growth phase of a Biofilm for waste gas treatment. Biotechnol. Bioeng. 54: 131–141.
- Reardon, K. F., Mosteller, D. C., and Julia, D., and Bull, R. (2000). Biodegradation Kinetics of Benzene Toluene, and Phenol as Single and Mixed Substrates for *Pseudomonas putida* F1. Biotechnol. Bioeng. 69 : 385-400.
- Semprini, L. (1997). Strategies for the Aerobic Co-Metabolism of Chlorinated Solvents. Curr. Op. Biotech. 8(3): 296-308.
- Semprini, L, Roberts, P. V., Hopkins, G. D., and McCarty, P. L. (1990). A Field Evaluation of In-Situ Biodegradation of Chlorinated Ethenes. Ground Water 28(5): 715-727.
- Shields, M. S., Montgomery, S. O., Chapman, P. J., Cuskey, S. M., and Pritchard, P. H. (1989). Novel Pathway of Toluene Catabolism in the Trichloroethylene-Degrading Bacterium G4. Appl. Environ. Microbiol. 55(6): 1624-1629.
- Shurtliff, M. W., Parkin, G. F., Weathers, L. J., and Gibson, D. T. (1996). Biotransformation of Trichloroethylene by a Phenol-Induced mixed Culture. J. Environmental Engineering 122: 581-589.
- Sun, A. K., and Wood, T. K. (1996). Evaluation of trichloroethylene degradation and mineralization by pseudomonads and *Methylosinus trichosporium* OB3b. Appl. Microbiol. Biotech. 45: 248–256.
- Suttinun, O. 2003. Biodegradation of Trichloroethylene Using Plant Terpenes as Inducer. Master's Thesis, Environmental Management (Inter-Department) Chulalongkorn University.

- Tejasen, S. 2003. Aerobic Biotransformation of Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons by a Benzyl alcohol Grown Mixed Culture: Cometabolism, Mechanism, Kinetics, and Modeling. Doctoral dissertation, Department of Civil Engineering Oregon State University.
- Tovanabootr, A., and Semprini, L. (1998). Comparison of TCE Transformation Abilities of Methane- and Propane-Utilizing Microorganisms. *Bioremediation J.* 2(2), 105-124.
- Tsien, H. C., Brusseau, G. A., Hanson, R. S., and Wackett, L. P. (1989). Biodegradation of Trichloroethylene by *Methylosinus trichosporium* OB3b. *Appl. Environ. Microbiol.* 55(12) : 3155-3161.
- U.S.EPA (1999). Integrated Risk Information System (IRIS) on Toluene [Online]. Available from: <http://www.epa.gov/ttn/atm/hlthef/toluene.html>[2004, August 15]
- U.S.EPA (2000). Chemical-Specific Parameters[Online]. Available from: http://www.epa.gov/superfund/resources/soil/part_5.pdf[2004, July 2]
- U.S.EPA (2002). List of Drinking Water Contaminants & MCLs[Online]. Available from: <http://www.epa.gov/Safewater/mcl.html>[2004, July 25]
- Vancheeswaran, S., Halden, R. U., Williamson, K. J., Ingle, J. D., and Semprini, L. (1999). Abiotic and Biological Transformation of Tetraalkoxysilanes and Trichloroethene cis-1,2-Dichloroethene Cometabolism Driven by Tetrabutoxysilane-Degrading Microorganisms. *Environ. Sci. Technol.*, 33(7): 1077-1085.
- Verce, M. F., Ulrich, R. L., and Freedman, D. L. (2000). Characterization of an Isolate That Uses Vinyl Chloride as a Growth Substrate under Aerobic Conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(8): 3535-3542.
- Wackett, L. P., and Gibson, D. T. (1988). Degradation of trichloroethylene by toluene dioxygenase in whole-cell studies with *Pseudomonas putida* F1. *Appl. Environ. Microbiol.* 54(7): 1703-1708.
- Wackett, L. P., Brusseau, G. A., Householder, S. R. and Hanson, R. S. (1989a). Survey of Microbial Oxygenases Trichloroethylene Degradation by Propane-Oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 2960-2964.
- Wackett, L. P., and Householder, S. R. (1989b). Toxicity of Trichloroethylene to *Pseudomonas putida* F1 Is Mediated by Toluene Dioxygenase. *Appl. Environ. Microbiol.* 55(10): 2723-2725.

- Whittaker, M., Monroe, D., Oh, D. J. and Anderson S. (2003). Trichloroethylene Degradation Pathways[Online]. Available from:
http://umbbd.ahc.umn.edu/tce/tce_map.html[2004, July 2]
- Wilson J.T., and Wilson B.H. (1985). Biotransformation of trichloroethylene in soil. Appl. Environ. Microbiol. 49(1): 242-243.
- Yeager, C. M., Bottomley, P. J., Arp, D. J., and Hyman, M. R. (1999). Inactivation of Toluene 2-Monooxygenase in *Burkholderia cepacia* G4 by Alkynes. Appl. Environ. Microbiol. 65(2): 632-639.
- Yeager, C. M., Bottomley, P. J., and Arp, A. J., (2001). Cytotoxicity Associated with trichloroethylene Oxidation in *Burkholderia cepacia* G4. Appl. Environ. Microbiol. 67(5): 2107-2115.

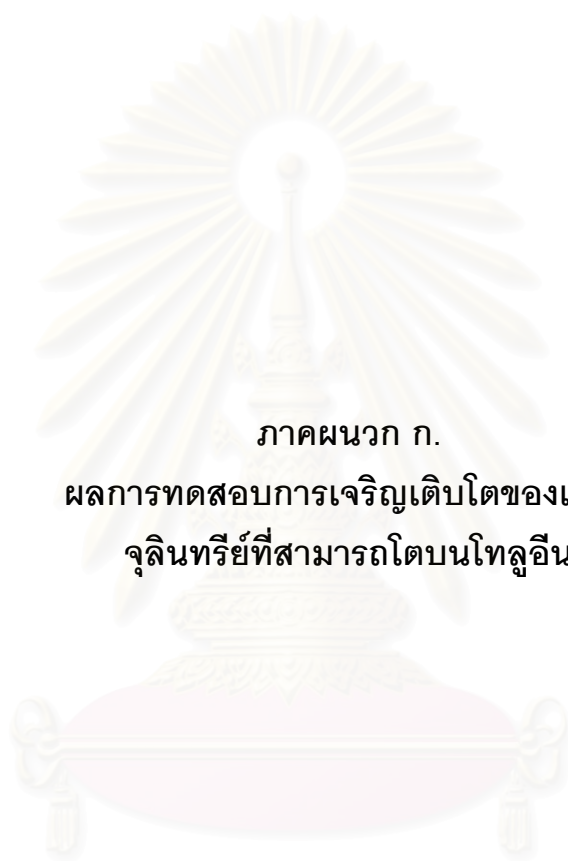


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ก.

ผลการทดสอบการเจริญเติบโตของเซลล์

จุลินทรีย์ที่สามารถโตบนโทลูอีน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ก-1 ค่า OD₅₅₀ ที่เปลี่ยนแปลงในการทดสอบการเจริญเติบโตของเซลล์
จุลินทรีย์ที่สามารถโตบนโกลูอิน

ชุดที่	ขวดทดสอบที่ 1	ขวดทดสอบที่ 2	ขวดทดสอบที่ 3	หมายเหตุ
1	0.009	0.007	0.009	Media control
2	0.011	0.012	0.004	Substrate control
3	0.033	0.029	0.030	Nonbiotic control
4	0.029	0.025	0.029	Seed control
5	0.035	0.038	0.034	-
6	0.055	0.049	0.044	-
7	0.105	0.101	0.086	-
8	0.263	0.206	0.228	-
9	0.415	0.407	0.403	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ข.
ผลการศึกษาค่าyieldของแต่ละชั้นสเตรต
(Growth Yield ; Y)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข-1 ความเข้มข้นของโพลูอินที่เปลี่ยนแปลงในการศึกษาหาค่าฮิลด์

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของโพลูอิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
0	55.221	56.088	50.449	52.016
3	53.249	44.891	50.218	54.473
12	42.468	43.437	41.494	53.869
24	0.037	0.000	0.021	52.159
26	0.000	0.000	0.000	55.746
27	51.805	48.513	47.339	55.547
35	0.752	0.000	0.000	51.751
36	0.000	0.000	0.000	49.342
37	44.168	52.461	51.188	49.092
44	0.000	0.000	0.000	54.360
45	41.772	40.877	40.281	52.103
51	0.042	0.152	0.104	51.861
52	0.000	0.000	0.000	50.051
53	44.782	46.726	47.053	49.111
59	0.000	0.000	0.000	54.570
60	45.748	51.886	50.271	50.309
68	0.000	0.000	0.000	48.677
69	41.871	47.413	42.684	51.115
76	0.000	0.000	0.000	47.238
77	52.330	50.594	54.246	49.629
82	0.000	0.000	0.000	48.227
83	58.592	0.000	0.000	47.211
90	0.000	0.000	0.000	48.018

ตารางที่ ข-2 ค่า OD₅₅₀ ที่เพิ่มขึ้นจากผลการศึกษาค่ายิลด์โดยใช้โกลูอินเป็นซับสเตรต

เวลา (ชั่วโมง)	ค่า OD ₅₅₀			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
0	0	0	0	0.000
24	0.156	0.159	0.167	0.012
35	0.293	0.367	0.346	0.015
44	0.381	0.457	0.479	0.014
51	0.515	0.596	0.616	0.016
59	0.666	0.753	0.798	0.020
68	0.834	0.868	0.876	0.016
76	0.924	0.979	1.024	0.019
82	0.935	1.024	1.038	0.021
90	1.036	1.029	1.039	0.020

ตารางที่ ข-3 ความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ที่เปลี่ยนแปลงในการศึกษาค่ายิลด์

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์(มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
0	44.287	45.501	43.288	45.678
3	40.825	42.895	42.049	45.935
12	42.351	44.641	24.383	46.948
24	39.902	37.329	19.457	46.687
26	31.236	29.568	12.056	44.331
35	0.000	0.000	0.000	45.982
36	16.728	30.614	28.107	42.379
45	0.000	0.000	0.000	44.661
47	22.421	23.753	21.682	46.858
53	0.000	0.000	0.000	42.852
58	14.943	15.799	18.269	43.618

ตารางที่ ข-3(ต่อ) ความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ที่เปลี่ยนแปลงในการศึกษาหา
ค่ายิลด์

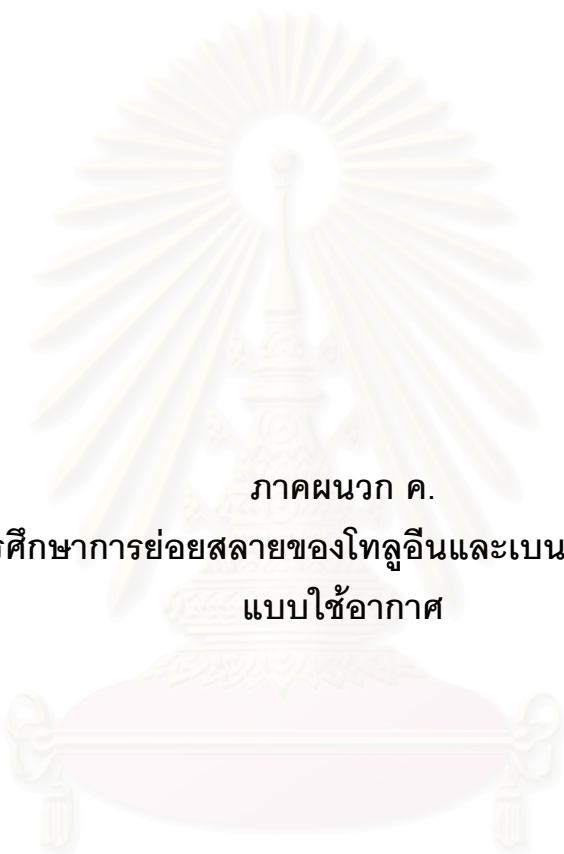
เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
67	0.000	0.000	0.000	45.545
68	36.652	32.455	39.591	47.821
75	0.000	0.000	0.000	46.023
76	28.520	27.176	55.836	45.778
81	0.000	0.000	0.000	45.195
82	41.660	42.627	58.057	46.256
90	0.000	0.000	0.000	43.457
91	41.181	41.360	44.318	44.169
97	0.000	0.000	0.000	42.895
98	43.419	45.732	44.564	41.297
104	0.000	0.000	0.000	44.457
105	47.283	45.127	47.301	41.478
114	0.000	0.000	0.000	46.397
115	40.520	37.500	38.680	42.427
121	0.000	0.000	0.000	41.869
122	40.749	40.380	46.873	40.765
128	0.000	0.000	0.000	42.708
129	46.874	47.667	43.588	40.581
138	0.000	0.000	0.000	41.871
139	43.414	45.266	42.458	44.407
145	0.000	0.000	0.000	40.862
146	50.439	50.048	32.485	39.650
152	0.000	0.000	0.000	43.486
153	46.434	47.209	42.532	44.638
162	0.000	0.000	0.000	40.907
163	44.256	42.037	42.630	42.196

ตารางที่ ข-3(ต่อ) ความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ที่เปลี่ยนแปลงในการศึกษาหาค่ายิลด์

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเบนซิลแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
169	0.000	0.000	0.000	39.023
170	51.616	54.994	50.463	41.375
175	0.000	0.000	0.000	39.165

ตารางที่ ข-4 ค่า OD₅₅₀ ที่เพิ่มขึ้นจากผลการศึกษาค่ายิลด์โดยใช้เบนซิลแอลกอฮอล์เป็นซับสเตรต

เวลา (ชั่วโมง)	ค่า OD ₅₅₀			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
0	0.000	0.000	0.000	0.000
35	0.138	0.133	0.121	0.011
45	0.221	0.222	0.232	0.016
53	0.275	0.262	0.256	0.014
67	0.281	0.278	0.301	0.015
81	0.321	0.303	0.327	0.018
90	0.365	0.345	0.345	0.016
97	0.392	0.378	0.383	0.017
104	0.417	0.422	0.431	0.021
114	0.459	0.486	0.493	0.024
121	0.519	0.533	0.523	0.025
128	0.561	0.621	0.609	0.022
138	0.625	0.684	0.635	0.023
145	0.741	0.782	0.758	0.025
152	0.817	0.801	0.833	0.024
162	0.852	0.857	0.887	0.025
169	0.901	0.923	0.981	0.023
175	1.024	0.982	1.021	0.021



ภาคผนวก ค.
ผลการศึกษการย่อยสลายของโทลูอินและเบนซิลแอลกอฮอล์
แบบใช้อากาศ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค-1 ผลการศึกษาการย่อยสลายของโกลูอินแบบใช้อากาศ

เวลา (วัน)	ความเข้มข้นโกลูอิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นโกลูอิน 15 มิลลิกรัมต่อลิตร			เวลา (วัน)	ความเข้มข้นโกลูอิน 30 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นโกลูอิน 60 มิลลิกรัมต่อลิตร			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3		ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
0.00	4.9751	4.7432	4.6806	14.5784	14.9769	14.6717	0.00	27.0565	27.8037	27.0770	62.4012	63.5449	61.0029	61.7697
0.08	3.3249	3.1078	2.9530	8.6775	9.3079	10.0925	0.08	17.7537	18.5470	16.8828	44.0716	42.2401	40.4244	62.0506
0.17	1.6377	1.5004	1.3708	5.8531	5.2543	5.0786	0.17	12.3588	13.3651	11.4505	31.1167	32.2138	28.5339	61.9005
0.21	1.1506	0.8892	0.7847	2.6523	2.5740	2.1970	0.25	7.8516	8.0241	6.7652	18.7002	22.8011	20.2632	59.5119
0.25	0.3388	0.2404	0.2109	0.9492	0.7143	0.5214	0.33	3.4151	4.0113	3.0275	9.0898	11.1286	12.1808	60.2972
0.29	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.42	0.8477	1.1002	0.7346	4.9757	5.2462	6.3520	58.6215
0.33	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.46	0.0000	0.0000	0.0000	1.7840	2.6811	2.0797	60.1153
0.58	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.50	0.0000	0.0000	0.0000	0.2581	0.6014	0.3133	58.4521
0.75	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.54	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	59.2494
							0.58	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	60.1439
							0.75	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	58.7051

ตารางที่ ค-2 ผลการศึกษาการย่อยสลายของเบนซิลแอลกอฮอล์แบบใช้อากาศ

เวลา (วัน)	ความเข้มข้นเบนซิลแอลกอฮอล์ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นเบนซิลแอลกอฮอล์ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร			เวลา (วัน)	ความเข้มข้นเบนซิลแอลกอฮอล์ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นเบนซิลแอลกอฮอล์ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3		ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
0.00	5.6079	5.8675	5.7873	16.1565	15.8204	15.7535	0.00	32.4667	33.4803	33.7422	63.3030	62.9302	63.4028	61.8209
0.08	3.5693	3.6237	3.3439	9.8167	10.1815	10.4659	0.08	20.1402	21.2574	20.2123	46.0064	45.7854	43.7727	62.1864
0.17	1.9377	1.8407	1.7723	5.7969	5.6169	5.4196	0.17	11.5427	12.0921	12.7046	31.2549	33.1270	30.4713	61.0269
0.25	0.8634	0.7926	0.6722	2.6327	2.4321	2.1424	0.25	5.4277	6.1413	6.4343	19.0435	20.0285	18.4561	63.4836
0.33	0.2318	0.3075	0.2547	1.0624	0.9377	0.7431	0.33	1.9086	2.5271	2.3033	11.0521	13.0983	12.0177	60.4731
0.42	0.0000	0.0000	0.0000	0.2081	0.3472	0.1813	0.42	0.5130	0.6175	0.4947	3.1783	4.4348	5.0211	64.0478
0.50	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.50	0.0000	0.0000	0.0000	1.1164	2.0613	1.8560	60.2185
0.58	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.58	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	62.0870
0.67	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.67	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	62.7156
							0.75	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	60.2140



ภาคผนวก ง.

ผลการศึกษาร่วมย่อยสลายของไตรโคลอโรเอเททิลีนแบบใช้อากาศ
โดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน และโตบนเบนซิลแอลกอฮอล์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ง-1 ผลการศึกษาการร่วมย่อยสลายของไตรโคลโรเอทิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโกลูอิน

เวลา (วัน)	ความเข้มข้นไตรโคลโรเอทิลีน 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรโคลโรเอทิลีน 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรโคลโรเอทิลีน 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรโคลโรเอทิลีน 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
0.00	1.7171	1.6667	1.5928	3.3046	3.1213	3.0178	6.8429	6.4656	6.6503	12.0428	12.2582	12.3929	12.0840
0.13	1.5256	1.4594	1.3808	3.1284	2.8079	2.7846	6.4007	5.9305	6.2651	10.1584	10.8735	11.2857	11.8586
0.25	1.1804	1.3848	1.2923	2.6837	2.4038	2.2476	5.8201	5.5465	5.1212	8.8310	9.3275	9.7327	12.2923
0.38	1.2307	1.0010	1.1247	2.4377	2.2821	1.9701	5.2816	4.8058	4.5049	7.7293	8.4528	9.0529	11.6257
0.50	0.9614	1.1109	0.8762	2.1161	1.7186	1.6504	4.5814	4.0169	4.8383	7.2935	8.0114	8.5018	11.2470
0.63	0.8042	0.9313	1.0148	1.7153	1.9261	1.5282	4.0216	3.8029	4.4019	7.7021	6.8391	7.4187	11.5734
0.75	0.8793	0.7591	0.7095	1.6419	1.4769	1.7663	4.3201	3.5074	3.8567	6.4052	5.7972	6.9280	11.0815
0.88	0.7671	0.8537	0.6508	1.7648	1.6172	1.4087	4.0120	3.7465	3.2432	6.0311	6.4702	5.2697	10.8306
1.00	0.8126	0.7436	0.7136	1.7442	1.4205	1.3018	3.7004	3.2634	3.0918	5.0785	5.9728	5.5694	11.1041
1.13	0.7096	0.6512	0.5420	1.6109	1.5136	1.3205	3.0556	3.4116	2.7808	4.8453	5.8296	5.1386	11.5359
1.25	0.7732	0.6026	0.6752	1.5063	1.3214	1.2514	3.4471	3.1639	2.8834	5.3119	5.6565	5.0124	11.0724
1.38	0.7278	0.6198	0.5654	1.5473	1.4158	1.2825	3.1268	2.7699	2.6142	4.8203	5.2223	5.4645	11.1924

ตารางที่ ง-1 (ต่อ) ผลการศึกษาการร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอเททิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนโทลูอิน

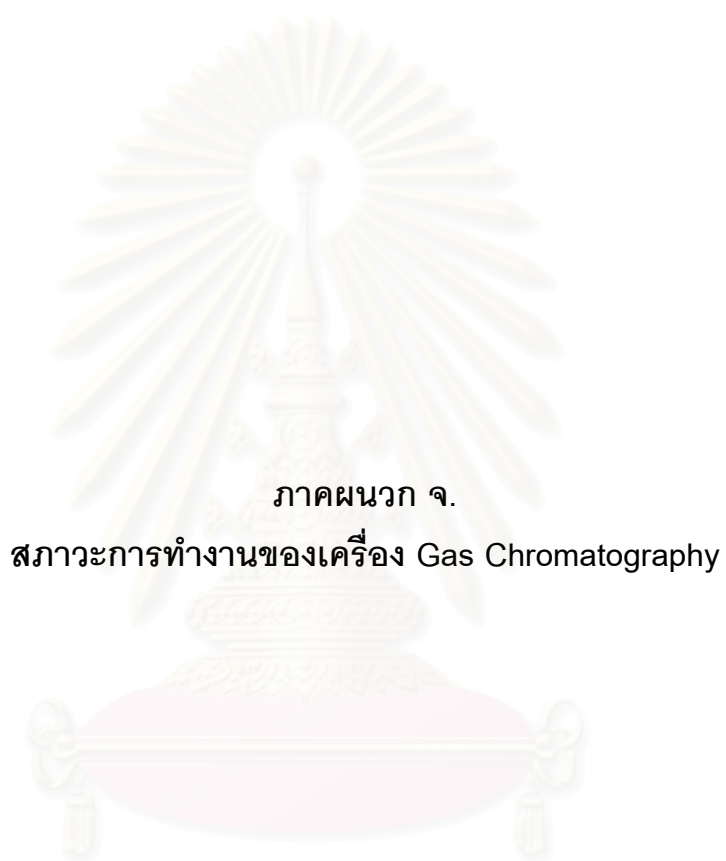
เวลา (วัน)	ความเข้มข้นไตรคลอโรเอเททิลีน 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรคลอโรเอเททิลีน 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรคลอโรเอเททิลีน 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรคลอโรเอเททิลีน 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
1.63	0.7541	0.6229	0.5421	1.5214	1.3412	1.2531	3.3130	3.0824	2.8237	5.0878	5.5782	4.7249	10.9087
1.88	0.6912	0.5847	0.4805	1.4784	1.3570	1.2412	2.6382	2.9072	2.4871	5.2059	5.7461	4.8147	11.1096
2.29	0.6563	0.5213	0.4913	1.3982	1.2901	1.2538	2.9151	3.1132	2.7328	5.3162	5.5042	5.0386	10.7960

ตารางที่ ง-2 ผลการศึกษาการร่วมย่อยสลายของไตรคลอโรเอเททิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซินแอลกอฮอล์

เวลา (วัน)	ความเข้มข้นไตรคลอโรเอเททิลีน 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรคลอโรเอเททิลีน 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรคลอโรเอเททิลีน 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรคลอโรเอเททิลีน 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
0.000	1.6920	1.7112	1.7322	3.3203	3.4962	3.3934	6.6213	6.5130	6.4047	11.8198	12.4727	12.2404	12.2871
0.125	1.5140	1.6092	1.6732	2.9334	3.2390	3.0902	6.1459	5.7381	5.3937	11.2420	11.6715	10.7937	12.0937
0.250	1.4969	1.5251	1.4260	2.9572	3.1262	2.7940	5.5548	5.2168	5.0684	10.8304	9.8288	10.4822	11.8564
0.375	1.2561	1.2390	1.1067	2.5848	2.6584	2.4353	5.1418	5.4319	4.7102	10.2913	9.2345	9.7025	11.6502

ตารางที่ ง-2 (ต่อ) ผลการศึกษาการร่วมย่อยสลายของไตรโคลอโรเอเทธิลีนแบบใช้อากาศโดยจุลินทรีย์ที่โตบนเบนซินแอลกอฮอล์

เวลา (วัน)	ความเข้มข้นไตรโคลอโรเอเทธิลีน 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรโคลอโรเอเทธิลีน 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรโคลอโรเอเทธิลีน 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			ความเข้มข้นไตรโคลอโรเอเทธิลีน 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร			
	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดควบคุม
0.500	1.0096	1.1471	1.1611	2.6562	2.2810	2.5369	5.2146	4.7341	4.2683	9.2041	8.7007	8.9351	11.9305
0.625	0.9266	0.9804	1.0834	2.3930	2.4719	2.2096	4.6342	4.3136	4.0418	9.0424	8.0238	8.6460	12.1310
0.750	0.8684	1.0936	0.9070	1.9543	2.1342	2.3875	4.7568	4.4250	3.9809	8.2906	8.4580	7.8051	11.7346
0.875	0.9042	1.0227	0.9610	2.2648	1.8493	1.9957	4.4022	3.8601	4.2847	8.6236	7.3517	8.1428	11.5049
1.000	0.8386	0.8935	0.7289	2.1252	1.9590	2.0761	4.3131	4.0727	3.7346	7.6450	7.8922	7.2854	11.8691
1.125	0.8660	0.8796	0.8114	2.0818	1.9149	1.7346	3.9476	3.7046	3.4570	7.9776	7.3603	6.6820	12.1039
1.250	0.7673	0.8474	0.9135	1.7623	1.6560	2.0902	3.7637	3.3084	3.5178	7.2901	6.4841	6.0176	11.2093
1.375	0.8105	0.7302	0.8856	1.9208	1.5821	1.7687	3.8514	3.1130	3.6007	6.9684	6.2136	5.8675	11.4930
1.625	0.7239	0.7816	0.8713	1.7069	1.5034	1.8708	3.5170	2.9460	3.7521	6.5173	5.9320	5.5767	11.7494
1.875	0.6787	0.7016	0.7847	1.5937	1.5121	1.7560	3.6022	3.2601	3.8685	6.3213	5.5348	6.0414	10.8140
2.292	0.7166	0.7631	0.8272	1.6303	1.5395	1.7819	3.3864	3.0343	3.6178	6.4015	5.4069	5.8486	11.1637



ภาคผนวก จ.

สภาวะการทำงานของเครื่อง Gas Chromatography

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หลักการการทำงานของเครื่อง Gas Chromatography

Gas Chromatography (GC) เป็นเทคนิคชนิดหนึ่งที่ใช้ในการแยกสารผสมกันออกจากกันโดยสารนั้นต้องสามารถเปลี่ยนเป็นแก๊สเฟสได้ที่อุณหภูมิหนึ่ง ถ้าสารใดเปลี่ยนเป็นแก๊สเฟสได้ยากก็อาจใช้เทคนิคอื่น ๆ บางอย่างเข้าช่วย เช่นอาศัยปฏิกิริยาเคมีเปลี่ยนให้เป็นอนุพันธ์อื่น ๆ หรืออาจใช้หลักการแยกสลายด้วยความร้อน และให้สารที่เปลี่ยนเป็นแก๊สเฟสแล้วนั้นผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ (column) ที่บรรจุด้วยเฟสคงที่ (stationary phase) โดยการพาของเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) หรือแก๊สพา (carrier gas) สารผสมเหล่านั้นจะเกิดการแยกเกิดขึ้น องค์ประกอบของเครื่อง Gas Chromatography มีดังนี้

1. ถังแก๊สที่ใช้บรรจุ แก๊สพา (carrier gas) เพื่อจะพาไอของสารตัวอย่างผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ ได้แก่ ไนโตรเจน ฮีเลียม และอาร์กอน เป็นต้น
2. ส่วนที่ใช้ควบคุมการไหลของแก๊สต่าง ๆ (flow controller) ได้แก่ ไฮโดรเจน อากาศ และไนโตรเจน เป็นต้น
3. ส่วนที่จะฉีดสารตัวอย่างเข้าไป (injection port)
4. คอลัมน์ (column) ซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญที่สุดที่ใช้สำหรับแยกสาร
5. ดีเทคเตอร์ (detector) เป็นส่วนที่ใช้สำหรับตรวจวัดสารแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์
6. ส่วนที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิ (temperature controller) ให้กับคอลัมน์ ดีเทคเตอร์ คอนโทรลเลอร์
7. ส่วนที่ใช้ประมวลผลและข้อมูลต่าง ๆ ได้แก่ อินทิเกรเตอร์ เครื่องบันทึกโครมาโตแกรม หรือเครื่องคอมพิวเตอร์

ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างโดยใช้เทคนิคทาง GC นั้น เมื่อเลือกสภาวะต่าง ๆ ของการวิเคราะห์และจัดสภาวะของเครื่อง GC (method) ให้เรียบร้อยแล้ว จึงนำสารตัวอย่างไปฉีดเข้าที่ sample injector port สารจะกลายเป็นไอ แล้วถูกพาเข้าไปในคอลัมน์ด้วยแก๊สพา (carrier gas) อย่างช้า สารผสมจะถูกแยกออกเป็นส่วน ๆ ที่คอลัมน์นี้ แล้วออกไปสู่ดีเทคเตอร์ (detector) จะทำให้ได้สัญญาณเกิดขึ้น ซึ่งสามารถเขียนออกมาเป็นโครมาโตแกรมด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์ ก็จะทำให้ผู้วิเคราะห์สามารถทราบองค์ประกอบของสารตัวอย่างได้

สภาวะการทำงานของเครื่อง Gas Chromatography รุ่น HP6890

```

=====
6890 GC METHOD
=====

OVEN
  Initial temp: 50 'C (On)           Maximum temp: 320 'C
  Initial time: 6.00 min             Equilibration time: 0.00 min
  Ramps:
    # Rate Final temp Final time
    1 0.0(Off)
  Post temp: 50 'C
  Post time: 0.00 min
  Run time: 6.00 min

FRONT INLET (UNKNOWN)                BACK INLET (SPLIT/SPLITLESS)
  Mode: Split
  Initial temp: 180 'C (On)
  Pressure: 7.96 psi (On)
  Split ratio: 2:1
  Split flow: 3.2 mL/min
  Total flow: 7.7 mL/min
  Gas saver: On
  Saver flow: 20.0 mL/min
  Saver time: 2.00 min
  Gas type: Helium

COLUMN 1                              COLUMN 2
  Capillary Column                    (not installed)
  Model Number: Agilent 19091J-413
  HP-5 5% Phenyl Methyl Siloxane
  Max temperature: 325 'C
  Nominal length: 30.0 m
  Nominal diameter: 320.00 um
  Nominal film thickness: 0.25 um
  Mode: constant pressure
  Pressure: 7.96 psi
  Nominal initial flow: 1.6 mL/min
  Average velocity: 28 cm/sec
  Inlet: Back Inlet
  Outlet: Front Detector
  Outlet pressure: ambient

FRONT DETECTOR (FID)                  BACK DETECTOR (ECD)
  Temperature: 250 'C (On)            Temperature: 250 'C (Off)
  Hydrogen flow: 50.0 mL/min (On)     Anode purge flow: Off
  Air flow: 450.0 mL/min (On)         Makeup flow: Off
  Mode: Constant makeup flow          Makeup Gas Type: Nitrogen
  Makeup flow: 45.0 mL/min (On)       Adjust offset: 60.00
  Makeup Gas Type: Nitrogen           Electrometer: Off
  Flame: On
  Electrometer: On
  Lit offset: 2.0

SIGNAL 1                              SIGNAL 2
  Data rate: 20 Hz                    Data rate: 20 Hz
  Type: front detector                 Type: oven temperature
  Save Data: On                       Save Data: Off
  Zero: 0.0 (Off)                     Zero: 0.0 (Off)
  Range: 0                             Range: 0
  Fast Peaks: Off                     Fast Peaks: Off
  Attenuation: 0                       Attenuation: 0

COLUMN COMP 1                          COLUMN COMP 2
  Derive from front detector           Derive from front detector

THERMAL AUX 1
  Use: Valve Box Heater

```

สภาวะการทำงานของเครื่อง Gas Chromatography รุ่น HP6890 (ต่อ)

Description:
 Initial temp: 50 'C (On)
 Initial time: 0.00 min
 # Rate Final temp Final time
 1 0.0(Off)

VALVES

Valve 1 Gas Sampling
 Description:
 Loop Volume: 0.025 mL
 Load Time: 0.50 min
 Inject Time: 0.50 min
 Inlet: Back Inlet

POST RUN

Post Time: 0.00 min

TIME TABLE

Time	Specifier	Parameter & Setpoint
------	-----------	----------------------

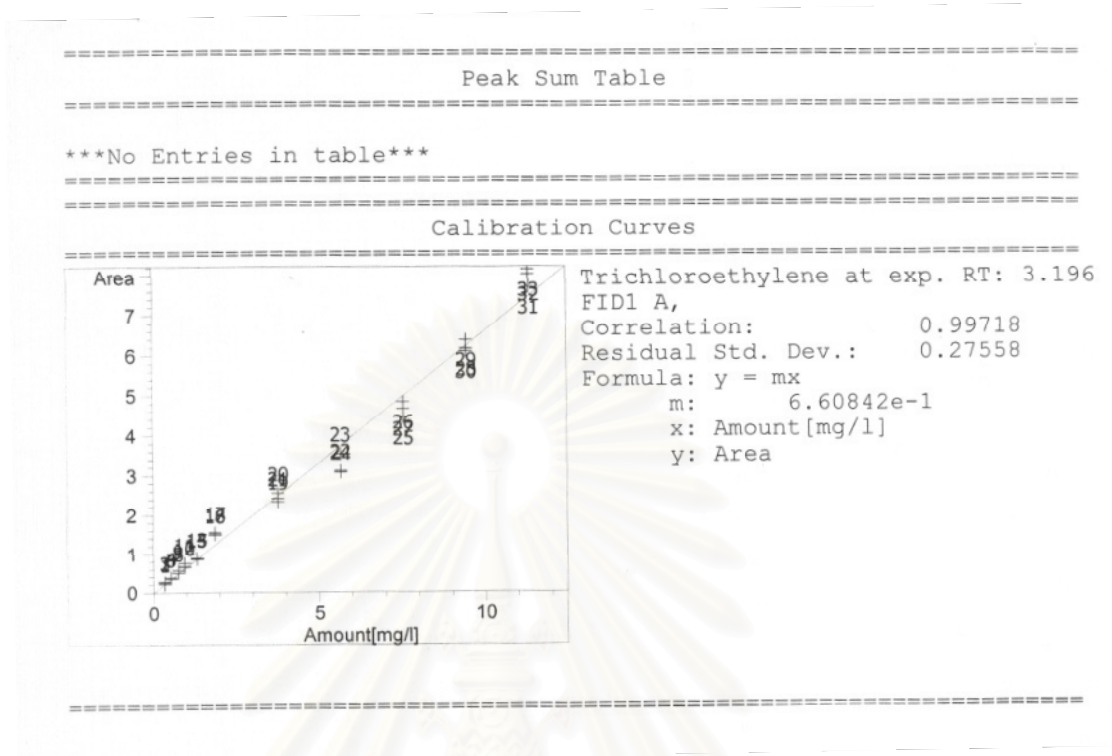


สถาบันวิทยบริการ
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กราฟมาตรฐานของไตรคลอโรเอทิลีน

Calibration Table						
Standard TCE						
Calib. Data Modified	:	6/10/2005 12:41:52 PM				
Calculate Based on	:	External Standard Peak Area				
Rel. Reference Window	:	5.000 %				
Abs. Reference Window	:	0.000 min				
Rel. Non-ref. Window	:	5.000 %				
Abs. Non-ref. Window	:	0.000 min				
Uncalibrated Peaks	:	not reported				
Partial Calibration	:	Yes, identified peaks are recalibrated				
Correct All Ret. Times	:	No, only for identified peaks				
Curve Type	:	Linear				
Origin	:	Forced				
Weight	:	Equal				
Recalibration Settings:						
Average Response	:	Average all calibrations				
Average Retention Time	:	Floating Average New 75%				
Calibration Report Options :						
Printout of recalibrations within a sequence:						
Calibration Table after Recalibration						
Normal Report after Recalibration						
If the sequence is done with bracketing:						
Results of first cycle (ending previous bracket)						
Signal 1: FID1 A,						
RetTime [min]	Lvl Sig	Amount [mg/l]	Area	Amt/Area	Ref Grp	Name
3.196	1	1 3.39680e-1	2.15363e-1	1.57725		Trichloroethylene
		2 3.39680e-1	2.52443e-1	1.34557		
		3 3.39680e-1	2.70055e-1	1.25782		
		4 5.28400e-1	3.78470e-1	1.39615		
		5 5.28400e-1	3.57213e-1	1.47923		
		6 5.28400e-1	3.64549e-1	1.44946		
		7 7.54860e-1	5.05705e-1	1.49269		
		8 7.54860e-1	5.03804e-1	1.49832		
		9 7.54860e-1	5.72118e-1	1.31941		
		10 9.43570e-1	6.54147e-1	1.44244		
		11 9.43570e-1	7.55274e-1	1.24931		
		12 9.43570e-1	6.70908e-1	1.40641		
		13 1.32100	8.87048e-1	1.48921		
		14 1.32100	8.75069e-1	1.50960		
		15 1.32100	8.60310e-1	1.53549		
		16 1.88700	1.49912	1.25874		
		17 1.88700	1.54600	1.22057		
		18 1.88700	1.48910	1.26720		
		19 3.77400	2.32800	1.62113		
		20 3.77400	2.54054	1.48551		
		21 3.77400	2.41610	1.56202		
		22 5.66100	3.10983	1.82036		
		23 5.66100	3.52790	1.60464		
		24 5.66100	3.07388	1.84165		
		25 7.54900	4.44000	1.70023		
		26 7.54900	4.82406	1.56487		
		27 7.54900	4.65299	1.62240		
		28 9.43600	6.16100	1.53157		
		29 9.43600	6.37830	1.47939		
		30 9.43600	6.09800	1.54739		
		31 11.32300	7.69800	1.47090		
		32 11.32300	8.02500	1.41097		
		33 11.32300	8.14400	1.39035		
Instrument 2 6/10/2005 1:03:27 PM Krisadee						

กราฟมาตรฐานของไตรคลอโรเอทิลีน (ต่อ)



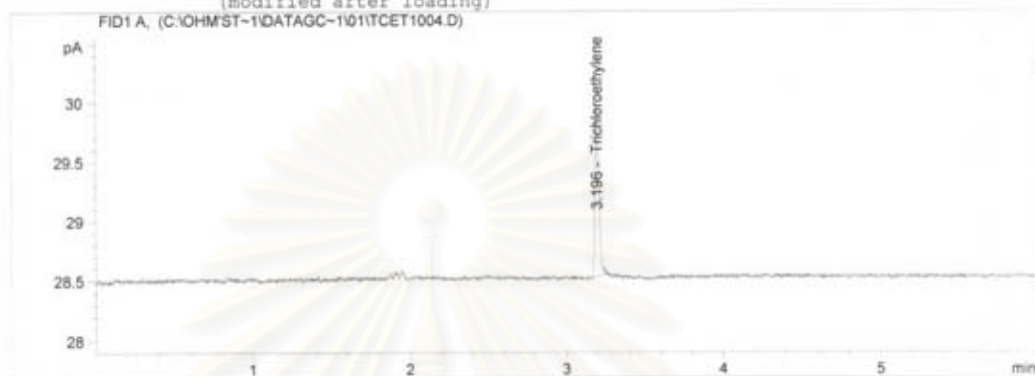
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตัวอย่างโครมาโตแกรมของไตรคลอโรเอทิลีน

```

-----
Injection Date : 3/11/05 10:06:50 PM      Seq. Line : 4
Sample Name    : 1/3.0/1                  Location  : Vial 4
Acq. Operator  : Krisadee                 Inj      : 1
Acq. Instrument : Instrument 1            Inj Volume : Manually
Acq. Method    : C:\HPCHEM\1\METHODS
Last changed   : 3/11/2005 9:31:05 PM by Krisadee
Analysis Method : C:\OHM'ST-1\METHOD
Last changed   : 6/10/2005 1:02:18 PM by Krisadee
                (modified after loading)
-----

```



```

-----
External Standard Report
-----

```

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 6/10/2005 12:41:52 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000

```

Signal 1: FID1 A,

RetTime [min]	Type	Area [pA*s]	Amt/Area	Amount [mg/l]	Grp	Name
3.196	PB	2.38038	1.51322	3.60205		Trichloroethylene

Totals : 3.60205

Results obtained with enhanced integrator!

```

-----
*** End of Report ***
-----

```

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กราฟมาตรฐานของโทลูอีน

----- Calibration Table -----

std toluene

Calib. Data Modified : 6/10/2005 1:08:02 PM

Calculate : External Standard
Based on : Peak Area

Rel. Reference Window : 5.000 %
Abs. Reference Window : 0.000 min
Rel. Non-ref. Window : 5.000 %
Abs. Non-ref. Window : 0.000 min
Uncalibrated Peaks : not reported
Partial Calibration : Yes, identified peaks are recalibrated
Correct All Ret. Times: No, only for identified peaks

Curve Type : Linear
Origin : Forced
Weight : Equal

Recalibration Settings:
Average Response : Average all calibrations
Average Retention Time: Floating Average New 75%

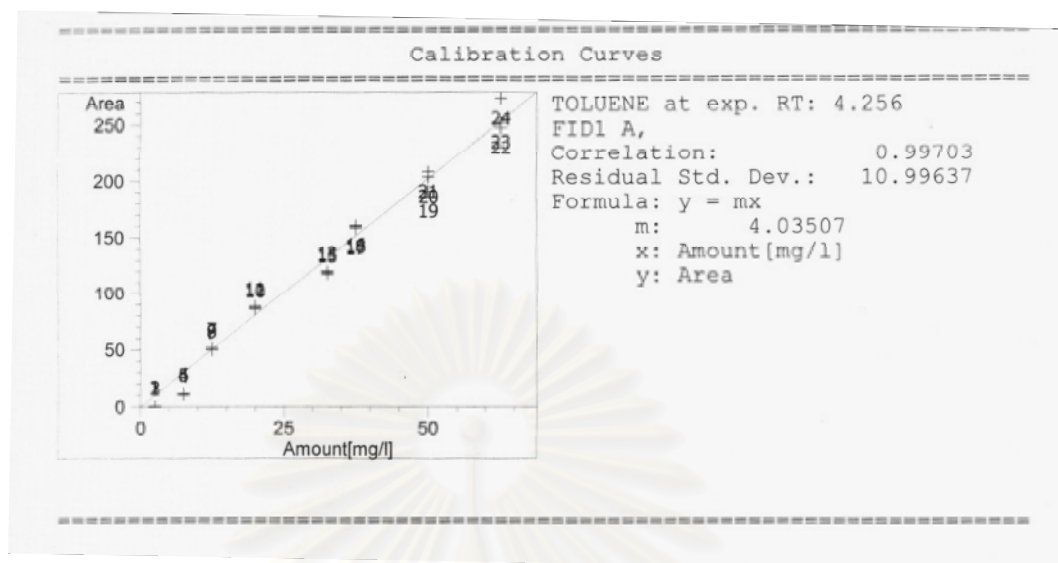
Calibration Report Options :

Printout of recalibrations within a sequence:
Calibration Table after Recalibration
Normal Report after Recalibration
If the sequence is done with bracketing:
Results of first cycle (ending previous bracket)

Signal 1: FID1 A,

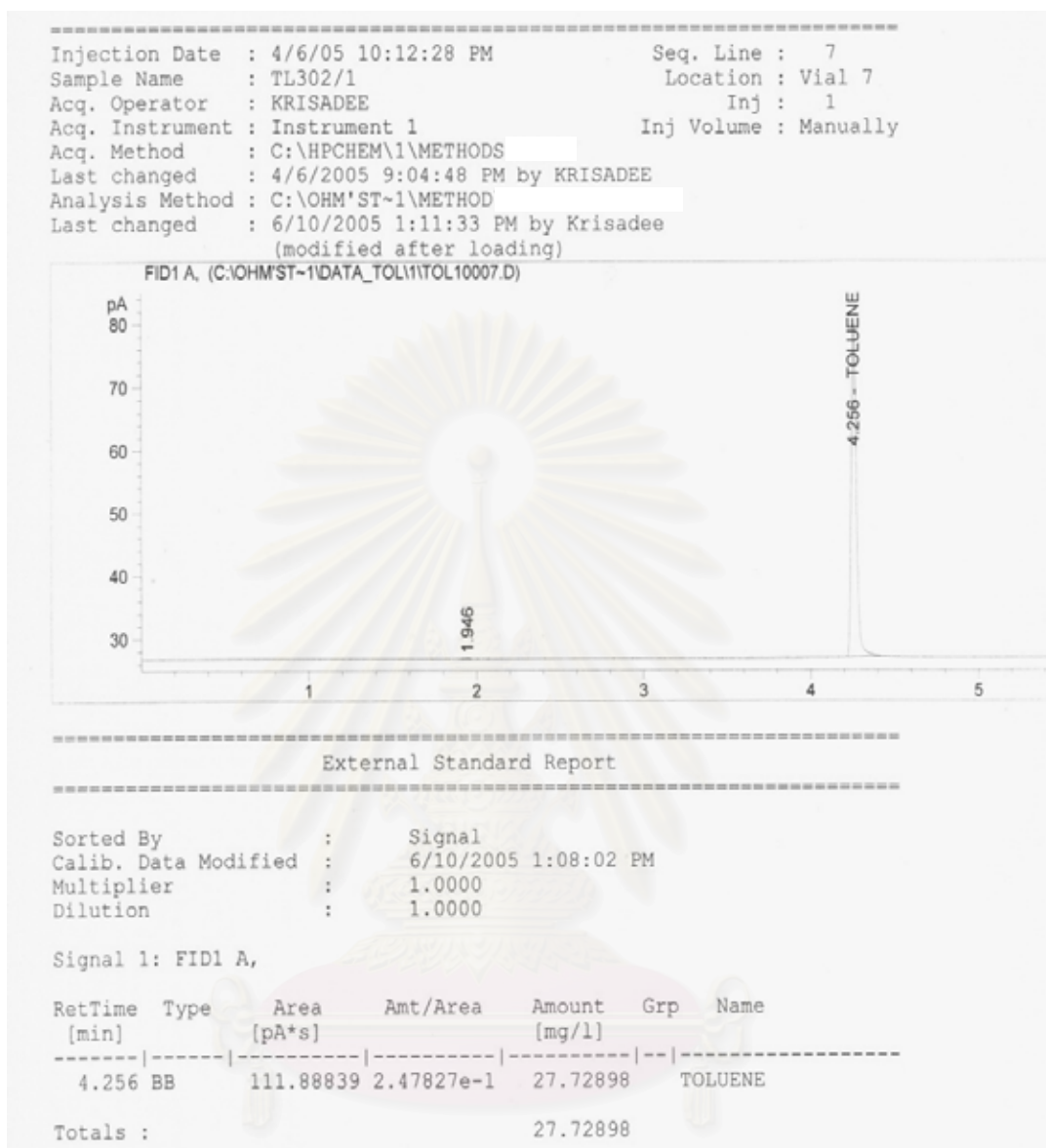
RetTime [min]	Lvl Sig	Amount [mg/l]	Area	Amt/Area	Ref Grp Name	
4.256	1	1	2.50900	1.42210e-1	17.64292	TOLUENE
		2	2.50900	1.59640e-1	15.71661	
		3	2.50900	2.27390e-1	11.03391	
		4	7.52700	10.66000	7.06098e-1	
		5	7.52700	11.61200	6.48209e-1	
		6	7.52700	11.47400	6.56005e-1	
		7	12.54500	51.57600	2.43233e-1	
		8	12.54500	49.97100	2.51046e-1	
		9	12.54500	49.59100	2.52969e-1	
		10	20.07100	85.70600	2.34184e-1	
		11	20.07100	88.46400	2.26883e-1	
		12	20.07100	86.86600	2.31057e-1	
		13	32.61600	119.81000	2.72231e-1	
		14	32.61600	119.06000	2.73946e-1	
		15	32.61600	117.55000	2.77465e-1	
		16	37.63400	160.77000	2.34086e-1	
		17	37.63400	158.42000	2.37558e-1	
		18	37.63400	159.71200	2.35637e-1	
		19	50.17800	190.74000	2.63070e-1	
		20	50.17800	203.52000	2.46551e-1	
		21	50.17800	208.06000	2.41171e-1	
		22	62.72300	247.00000	2.53939e-1	
		23	62.72300	252.05000	2.48851e-1	
		24	62.72300	272.71000	2.29999e-1	

กราฟมาตรฐานของโทลูอีน (ต่อ)




สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตัวอย่างโครมาโตแกรมของโทลูอิน



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก จ.

สภาวะการทำงานของเครื่อง High Performance Liquid Chromatography

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หลักการการทำงานของเครื่อง High Performance Liquid Chromatography

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เป็นวิธีการหนึ่งของการแยกทางโครมาโตกราฟี ที่ใช้เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นของเหลวพาสารละลายตัวอย่างไหลผ่านเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) ที่เป็นอนุภาคขนาดเล็ก ซึ่งบรรจุอัดแน่นในท่อ Stainless ที่เรียกว่าคอลัมน์ (column) ทำให้เกิดการแยกสารประกอบจากสารละลายตัวอย่างเข้าสู่เครื่องตรวจวัดสัญญาณ (detector) การไหลของเฟสเคลื่อนที่นี้ต้องอาศัยแรงดันมากพอควร จึงจะสามารถส่งผ่านไปทั้งระบบได้ ส่วนที่เป็นหลักในการสร้างแรงดันคือปั๊ม (pump) นั่นเอง ชุดเครื่องมือ HPLC มีส่วนประกอบคือ

1. ภาชนะบรรจุเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase reservoirs) ควรเป็นขวดแก้วเพื่อจะไม่เกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับเฟสเคลื่อนที่
2. ระบบปั๊ม (Pumping station) ทำหน้าที่สูบล้นเฟสเคลื่อนที่เข้าคอลัมน์ในอัตราเร็วที่กำหนดได้อย่างแม่นยำ
3. หน่วยฉีดสารตัวอย่าง (Injection unit) การฉีดสารตัวอย่างนั้นต้องมีความเที่ยงตรงและแม่นยำสูง โดยมีทั้งแบบ Manual และ Auto
4. คอลัมน์ (Column) ลักษณะเป็นท่อ Stainless บรรจุเฟสอยู่กับที่ เพื่อแยกสารตัวอย่างผสมออกจากกัน
5. เครื่องตรวจวัดสัญญาณ (Detector) ทำหน้าที่วัดการเปลี่ยนแปลงของสารตัวอย่าง
6. เครื่องบันทึกข้อมูลและประมวลผล (Recorder and data processing) ปัจจุบันการบันทึกข้อมูล และประมวลผลต่าง ๆ สามารถทำได้โดยคอมพิวเตอร์ ทำให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้อง และเที่ยงตรงมากขึ้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สภาวะการทำงานของเครื่อง High Performance Liquid Chromatography รุ่น HPLC 1100

```

=====
HP 1100 High Pressure Gradient Pump 1
=====

Control
Flow           :      1.000 ml/min
Stoptime       :      7.00 min
Posttime       :      1.00 min

Solvents
Solvent A      :      30.0 % (H2O)
Solvent B      :      70.0 % (MeOH)

PressureLimits
Minimum Pressure :      0 bar
Maximum Pressure :      400 bar

Auxiliary
Maximal Flow Ramp :      100.00 ml/min^2
Compressibility A :      50*10^-6/bar
Minimal Stroke A  :      Auto
Compressibility B :      115*10^-6/bar
Minimal Stroke B  :      Auto

Store Parameters
Store Ratio A    :      Yes
Store Ratio B    :      Yes
Store Flow       :      Yes
Store Pressure   :      Yes

HP 1100 Contacts Option
=====

Contact 1       :      Open
Contact 2       :      Open
Contact 3       :      Open
Contact 4       :      Open

=====
HP 1100 Variable Wavelength Detector 1
=====

Signal
Wavelength      :      254 nm
Peakwidth       :      > 0.1 min

Time
Stoptime        :      As pump
Posttime        :      Off

Analog Output
Zero offset analog out.:      5 %
Attenuation analog out.:      1000 mAU

Store Additionally
Signal w/o Reference :      No
Reference             :      No

Autobalance

```

สภาวะการทำงานของเครื่อง High Performance Liquid Chromatography รุ่น HPLC 1100(ต่อ)

```

Prerun balancing      :      Yes
Postrun balancing    :      No

Special Parameters
Margin for negative Absorbance: 100 mAU
Signal Polarity      :      Positive
Enable analysis when lamp is off: No
Scan from            :      190 nm
Scan to              :      400 nm
Scan step            :      2 nm

HP 1100 Contacts Option
=====
Contact 1            :      Open
Contact 2            :      Open
Contact 3            :      Open
Contact 4            :      Open

=====
HP 1100 Autosampler 1
=====

Injection
Injection Mode      :      Needle Wash
Injector volume    :      20.0 µl
Wash Vial           :      61

Auxiliary
Drawspeed           :      200 µl/min
Ejectspeed          :      200 µl/min
Draw position       :      0.0 mm

Time
Stoptime            :      As Pump
Posttime            :      Off

=====
HP 1100 Column Thermostat 1
=====

Temperature settings
Left temperature    :      25.0°C
Right temperature   :      Same as left
Enable analysis     :      When Temp. is within setpoint +/- 0.8°
Store left temperature : Yes
Store right temperature: No

Time
Stoptime            :      As pump
Posttime            :      Off

Column Switching Valve :      Column 1

```

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กราฟมาตรฐานของเบนซิลแอลกอฮอล์

=====
 Calibration Table
 =====

Calib. Data Modified : 6/10/05 1:51:43 PM

Calculate : External Standard
 Based on : Peak Area

Rel. Reference Window : 5.000 %
 Abs. Reference Window : 0.000 min
 Rel. Non-ref. Window : 5.000 %
 Abs. Non-ref. Window : 0.000 min
 Uncalibrated Peaks : not reported
 Partial Calibration : Yes, identified peaks are recalibrated
 Correct All Ret. Times: No, only for identified peaks

Curve Type : Linear
 Origin : Forced
 Weight : Equal

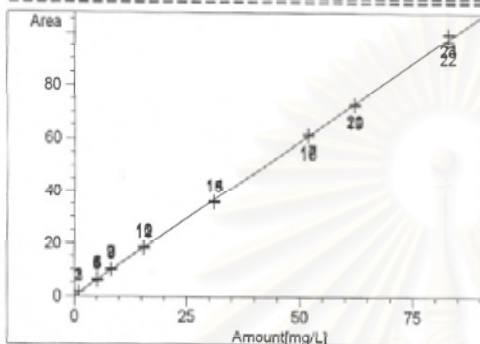
Recalibration Settings:
 Average Response : Average all calibrations
 Average Retention Time: Floating Average New 75%

Calibration Report Options :
 Printout of recalibrations within a sequence:
 Calibration Table after Recalibration
 Normal Report after Recalibration
 If the sequence is done with bracketing:
 Results of first cycle (ending previous bracket)

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=254 nm

RetTime [min]	Lvl Sig	Amount [mg/L]	Area	Amt/Area	Ref Grp Name
4.943	1	1.03700	1.44872	7.15803e-1	Benzyl Alcohol
	2	1.03700	1.50890	6.87257e-1	
	3	1.03700	1.36253	7.61083e-1	
	4	5.18400	5.93645	8.73249e-1	
	5	5.18400	5.54775	9.34433e-1	
	6	5.18400	6.33488	8.18327e-1	
	7	8.29400	10.10800	8.20538e-1	
	8	8.29400	9.67000	8.57704e-1	
	9	8.29400	10.20100	8.13058e-1	
	10	15.55200	18.52868	8.39347e-1	
	11	15.55200	17.80300	8.73561e-1	
	12	15.55200	18.29189	8.50213e-1	
	13	31.10400	35.63062	8.72957e-1	
	14	31.10400	36.09663	8.61687e-1	
	15	31.10400	35.30900	8.80909e-1	
	16	51.84000	61.03024	8.49415e-1	
	17	51.84000	61.68039	8.40462e-1	
	18	51.84000	61.03616	8.49333e-1	
	19	62.20700	72.47233	8.58355e-1	
	20	62.20700	72.98866	8.52283e-1	
	21	62.20700	73.28200	8.48871e-1	
	22	82.94300	96.85092	8.56399e-1	
	23	82.94300	99.72297	8.31734e-1	
	24	82.94300	99.93047	8.30007e-1	

กราฟมาตรฐานของเบนซิลแอลกอฮอล์(ต่อ)

=====
Peak Sum Table
=====***No Entries in table***
==========
Calibration Curves
=====

Benzyl Alcohol at exp. RT: 4.943
VWD1 A, Wavelength=254 nm
Correlation: 0.99988
Residual Std. Dev.: 0.79701
Formula: $y = mx$
m: 1.18138
x: Amount [mg/L]
y: Area

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

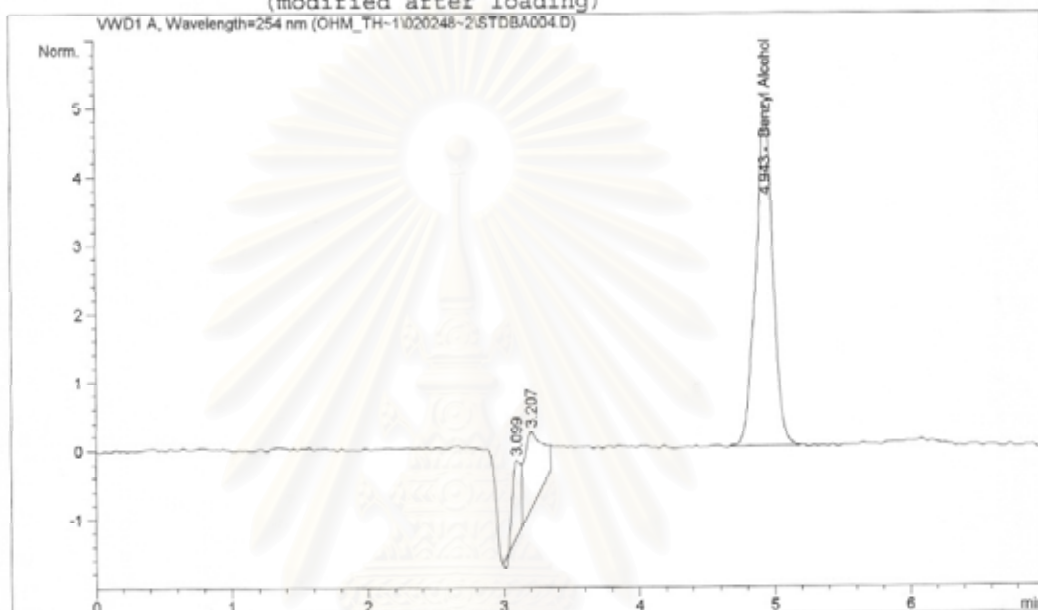
ตัวอย่างโครมาโตแกรมของเบนซิลแอลกอฮอล์

```

=====
Injection Date : 2/2/05 3:12:27 PM          Seq. Line : 4
Sample Name    : stdBA                      Vial : 24
Acq. Operator  : Kridsadee                 Inj : 1
                                           Inj Volume : 20 µl

Acq. Method   : C:\HPCHEM\1\METHODS
Last changed  : 2/2/05 12:19:35 PM
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS
Last changed  : 6/10/05 1:44:46 PM
                (modified after loading)
=====

```



```

=====
External Standard Report
=====

```

```

Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 6/10/05 1:25:51 PM
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000

```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=254 nm

RetTime [min]	Type	Area mAU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp Name
4.943	PB	43.40617	8.46198e-1	36.73024	Benzyl Alcohol

Totals : 36.73024

Results obtained with enhanced integrator!

```

=====
*** End of Report ***
=====

```



ภาคผนวก ซ.
รูปเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ๑-1 เครื่อง Gas Chromatography รุ่น HP 6890



รูปที่ ๑-2 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography รุ่น HPLC 1100



รูปที่ ข-3 ขวดซีรัมขนาด 119 มิลลิลิตร (Serum Bottle) ที่ใช้ในการทดลอง



รูปที่ ข-4 ขวดไวอัล (Vial)ขนาด 15 มิลลิลิตร และอุปกรณ์ปิดฝาที่ใช้สำหรับเครื่อง GC



รูปที่ ข-5 ขวดไวอัล (Vial)ขนาด 2 มิลลิลิตร และอุปกรณ์ปิดฝาที่ใช้สำหรับเครื่อง

High Performance Liquid Chromatography



รูปที่ ข-6 ไชริง (GasTight Syringes) ขนาด 1 มิลลิลิตร ใช้สำหรับการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์



รูปที่ ข-7 ไชริง (Gas Tight Syringes) ขนาด 10 ไมโครลิตร ใช้สำหรับฉีดโหล่อินลงในขวดซีรัม



รูปที่ ข-8 ไชริง (Glass Syringes) ขนาด 20 มิลลิลิตร ใช้สำหรับการเติมออกซิเจน



รูปที่ ข-10 เครื่องเขย่า (Shaker) ที่ทำการเขย่าขวดซีรัมตลอดเวลาการทดลอง



รูปที่ ข-11 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) สำหรับวัดค่า OD₅₅₀



รูปที่ ข-12 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave)



รูปที่ ข-13 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow)



รูปที่ ข-14 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Refrigerated Centrifuge)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายกฤษฎี จองโชติศิริกุล เกิดวันที่ 24 เมษายน พ.ศ.2523 สำเร็จการศึกษา ระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนแสงทองวิทยา เมื่อปี พ.ศ. 2541 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมโยธา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในปี การศึกษา 2544 และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ.2546



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย