

ชื่อเรื่อง	การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการบำบัดน้ำเสียที่มีสีอะโซเป็นองค์ประกอบ
ชื่อผู้เขียน	นางสาวธิดิณัฐ คำใจ
ชื่อปริญญา	ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จูปน ชื่นบาล

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีในน้ำเสียที่มีสี อะโซเป็นองค์ประกอบ จากการทดสอบในเบื้องต้น พบว่า แบคทีเรียจำนวน 6 ไอโซเลท คือ Mju-20(1), Mju-20(2), Mju-20(3), Mju-17, LP-1 และ Mk-8 ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสี congo red โดยทำการทดสอบการเกิดบริเวณใสบนอาหารสูตร nutrient agar ที่มีสี congo red 0.2 กรัมต่อลิตร พบว่า แบคทีเรียทั้ง 6 ไอโซเลท เกิดบริเวณใสรอบโคโลนี จากนั้นทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียที่มีสี congo red เป็นองค์ประกอบในรูปเซลล์แขวนลอย พบว่า แบคทีเรีย Mk-8 มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีสูงสุดถึงร้อยละ 85.8 และกำจัดเอฟฟิเอนซีได้ร้อยละ 54.7 จากนั้นทำการทดสอบสภาวะที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการกำจัดสี congo red พบว่า ที่พีเอช 7.0-7.5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียไอโซเลท Mk-8 และเมื่อเติม yeast extract ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรและสี congo red 0.2 กรัมต่อลิตร เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีของแบคทีเรีย ไอโซเลท Mk-8

การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรีย Mk-8 ที่ตรึงบนตัวกลางฝาชวดน้ำพลาสติก แผ่นพลาสติก หินภูเขาไฟ ซีโอไลท์ ฟองน้ำ โซเดียมแอลจิเนต โดยทำการตรึงเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า แบคทีเรีย Mk-8 ที่ตรึงบนหินภูเขาไฟให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสีสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 67.6 รองลงมา คือ แบคทีเรีย Mk-8 ที่ตรึงบนฟองน้ำเท่ากับร้อยละ 66.5 ทำให้สามารถคัดเลือกตัวกลางหินภูเขาไฟและฟองน้ำมาใช้ในการทดลองในขั้นต่อไป

ประสิทธิภาพของแบคทีเรียในรูปเซลล์แขวนลอยเปรียบเทียบกับแบคทีเรียที่ตรึงลงบนตัวกลางที่คัดเลือก พบว่า แบคทีเรียในรูปเซลล์แขวนลอยมีประสิทธิภาพการบำบัดดีกว่าเซลล์แบคทีเรียที่ตรึงบนตัวกลาง จากนั้นได้ทำการทดสอบการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมฟอกย้อมผ้าบาติก อ.ป่าซาง จ.ลำพูน ที่ทำการเจือจางน้ำเสียกับน้ำประปาในอัตราส่วน 50:50, 30:70, 20:80, 10:90 และ 5:95 โดยทำการทดลองในสภาวะไร้อากาศ เติม yeast extract ร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก

ต่อปริมาตร พีเอช 7.0 และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า ที่อัตราเจือจางน้ำเสียต่อน้ำประปาเท่ากับ 20:80 แบคทีเรียในรูปเซลล์แขวนลอย มีค่าการกำจัดที่ดีกว่าอัตราเจือจางอื่นๆ

เมื่อทำการจัดจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต Mk-8 พบว่า แบคทีเรียไอโซเลต Mk-8 เมื่อตรวจคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา การทดสอบทางชีวเคมีและ การใช้ชุดทดสอบ API 50 CH แบคทีเรียไอโซเลต Mk-8 มีคุณสมบัติทางชีวเคมีคล้ายกับ *Bacillus subtilis* ร้อยละ 85.8 และมีลำดับเบสยีน 16S rRNA ที่คล้ายกับ *Bacillus subtilis* ร้อยละ 99.5

จากนั้นทำการทดสอบความเป็นพิษของน้ำที่ผ่านการบำบัดในสภาวะไร้อากาศด้วย *Bacillus subtilis*. Mk-8 พบว่า น้ำที่ผ่านการบำบัดในสภาวะไร้อากาศส่งผลให้ไรแดง (*Daphnia* sp.) ที่ทำการทดสอบมีอัตราการตายสูงแต่เมื่อมีการเติมออกซิเจนให้กับน้ำที่ผ่านการบำบัดในสภาวะไร้อากาศด้วยแบคทีเรีย พบว่า ไรแดงมีอัตราการตายลดลง

Title	A Study on Efficiency of Bacteria Used for Azo Dye Containing Wastewater Treatment
Author	Miss Thitinut Khumjai
Degree of	Master of Science in Biotechnology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Tapan Cheunbarn

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the efficiency of bacteria used for azo dye (congo red) containing wastewater treatment. From the primary tests, it was found that 6 bacterial isolates (Mju-20(1), Mju-20(2), Mju-20(3), Mju-17, LP-1 and Mk-8) could decolorize congo red. Then, bacteria by colonies on nutrient agar mixed with 0.2 g/L congo red was investigated. The finding showed that 6 bacteria isolates presented clear zone around colonies. Efficiency of Mk-8 suspended cell on decolorizing and FCOD (Filter Chemical Oxygen Demand) reducing were 82.8 and 54.7 percent, respectively. The optimum conditions for color removal were 2 percent yeast extract and 0.2 g/L azo dye, pH 7.0-7.5 and 37 °C.

Immobilized bacteria for 7 days biofilm formation using 6 materials (plastic cap, plastic, volcano rock, zeolite, sponge and sodium alginate bead) for lab scale anaerobic synthetic azo dye wastewater treatment was further studied. The finding showed that immobilized bacteria on volcano rock and sponge had a highest color removal efficiency (67.6 and 66.5 percent, respectively). The volcano rock and sponge were selected for continual experiment.

The comparison of suspended and immobilized bacteria for azo dye decolorization was studied. The finding showed that suspended bacteria had a higher color removal efficiency than immobilized bacteria (volcano rock and sponge). The suspended and immobilized bacteria were tried to decolorize real wastewater collected from batik factory at Pasang district, Lumphun province. Suspended and immobilized bacteria Mk-8 for real textile wastewater treatment was diluted for five dilution (50:50, 30:70, 20:80, 10:90 and 5:95) and done under anaerobic condition, mixed with 2 percent yeast extract, pH 7 at 37 °C for 7 days. It was found that dilution of wastewater at 20:80 (textile wastewater : tap water) had efficiency on

decolorizing better than other dilutions. Suspended bacteria showed higher color removal efficiency in real textile wastewater than immobilized bacteria.

The identification of Mk-8 isolate using API 50 CH and 16S rRNA sequencing technique was studied. It was found that Mk-8 isolate was *Bacillus subtilis* (85.5 and 99.5 percent, respectively).

Then, study on toxicity of wastewater after treatment by *Bacillus subtilis*. Mk-8 under anaerobic condition at 37 °C for 7 days. Result showed that *Daphnia* sp. after added in wastewater was high mortality. After adding oxygen into wastewater ; *Daphnia* sp. mortality was reduced.

Keywords : azo dye; decolorize; suspended bacteria; immobilized cell; FCOD (filter chemical oxygen demand)