ว.วิทย. มข. 41(2) 459-467 (2556) KKU Sci. J. 41(2) 459-467 (2013)

การกำจัดสีเมทิลเรดและฟีนอลเรด ด้วย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BUU005

Decolorization of Methyl Red and Phenol Red By *Bacillus subtilis* strain BUU005

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์[1*] *ภาพสุภา ชลศรานนท์*[2] *ตรีรัตน์ สุขสวัสดิ์*[2]
ไตรมาศ บุญไทย[3] *และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย*[4]

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันสีสังเคราะห์มีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรม สีสังเคราะห์หลายชนิดถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรม เช่น สีอะโซและสี triphenylmethane เป็นต้น ส่งผลให้มีการปล่อยน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมเหล่านี้ออกสู่สิ่งแวดล้อมก่อให้เกิดปัญหาทางสิ่งแวดล้อมและความกังวลทางด้านสุขภาพ เนื่องจากคุณสมบัติความเป็นสารก่อมะเร็งของสีสังเคราะห์และสารเมแทบอไลท์บางชนิด ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BUU005 ในการกำจัดสีเมทิลเรดและสีฟีนอลเรดภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนแบบ Static จากการศึกษาพบว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ BUU005 สามารถกำจัดสีเมทิลเรดความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ได้ภายใน 35 วันของการทดลอง โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีเท่ากับ 93.38±2.29% แต่อย่างไรก็ตามแบคทีเรียชนิดนี้สามารถกำจัดสีฟีนอลเรดได้เพียงบางส่วนเท่านั้น โดยมีประสิทธิภาพการกำจัดสีฟีนอลเรดเท่ากับ 50.62±2.25% ในวันที่ 60 ของการทดลอง ดังนั้นแบคทีเรียชนิดนี้จึงน่าจะมีศักยภาพในการพัฒนาเพื่อนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีอะโซ

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยาและโครงการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[2]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[3]สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[4]ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
*Corresponding Author, E-mail: subunti@buu.ac.th

ABSTRACT

Currently, synthetic dyes play an important role in industries. A variety of synthetic dyes have been used widely in many industries such as azo dye and triphenylmethane dye. Consequently, wastewaters contaminated with these dyes are discharged into environment leading to emergence of environmental problems and health concerns due to carcinogenic potentials of some synthetic dyes and their metabolites. Therefore, this study aimed to determine the effectiveness of *Bacillus subtilis* strain BUU005 on decolorization of methyl red and phenol red under static condition. Result showed that *B. subtilis* strain BUU005 was able to decolorize methyl red at 0.1 mM within 35 days of the experiment for 93.38 ± 2.29% of decolorization. However, this bacterium removed partial phenol red which showed percentage of decolorization for 50.62 ± 2.25% at 60th day of the experiment. Indeed, *B. subtilis* strain BUU005 had probable potential to develop and apply for removal of wastewater containing azo dye.

คำสำคัญ: การกำจัดสี เมทิลเรด ฟีนอลเรด *Bacillus*

Keywords: Decolorization, Methyl red, Phenol red, *Bacillus*

บทนำ

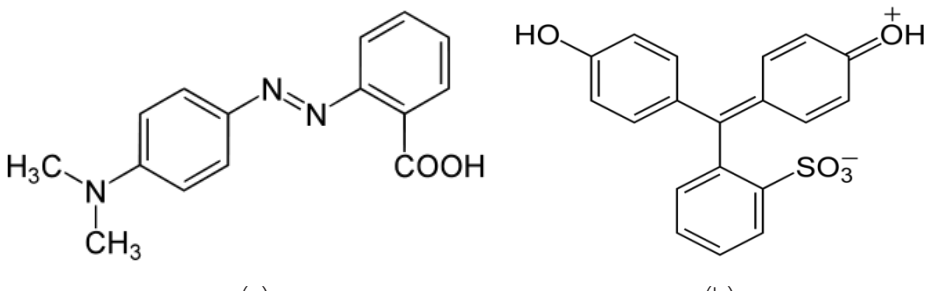
การกำจัดสารอินทรีย์ที่เป็นมลพิษในน้ำเสียเป็นประเด็นทางสิ่งแวดล้อมที่มีความสำคัญอย่างมากในปัจจุบัน สีสังเคราะห์เป็นสารอินทรีย์ประเภทหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มากมาย เช่น อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอางและกระดาษ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมสิ่งทอและย้อมผ้า ซึ่งเป็นอุตสาหกรรมหลักที่มีการใช้สีสังเคราะห์ประมาณ 2 ใน 3 ของมูลค่าการตลาดทั้งหมด (ไตรมาศ และคณะ, in press) สีสังเคราะห์เหล่านี้มักปนเปื้อนในน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมและก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อม ยกตัวอย่างเช่น การขัดขวางการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช เนื่องจากสีย้อมลดปริมาณการส่องผ่านของแสงลงสู่แหล่งน้ำ เป็นสาเหตุให้ปริมาณก๊าซออกซิเจนในแหล่งน้ำขาดแคลนและส่งผลต่อเนื่องถึงการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ (สุดสายชล และสุบัณฑิต, 2550; ไตรมาศ และคณะ, in press; Chander and Arora, 2007) Umbuzeiro et al. (2005) รายงานว่าสีย้อมสังเคราะห์ที่แพร่กระจายในสิ่งแวดล้อมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงและเป็นมลพิษต่อแหล่งน้ำผิวดินและแหล่งน้ำใต้ดิน ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำ สิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำและสุขภาพอนามัยของประชาชน นอกจากนั้นสีย้อมและสารเมแทบอไลท์บางชนิดจัดเป็นสารก่อการกลายพันธุ์และสารก่อมะเร็งในมนุษย์และสัตว์ (Levine, 1991)

สีย้อมที่ใช้ในอุตสาหกรรมมีหลายกลุ่ม เช่น สีอะโซและสี Triphenylmethane (Azmi et al., 1998; Sani and Banerjee, 1999; Pearce et al., 2003) สีอะโซเป็นสีที่มีโครงสร้างเป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีหมู่อะโซ (-N=N-) 1 หมู่หรือมากกว่า 1

หมู่ในโครงสร้าง และเป็นสีสังเคราะห์ที่ถูกผลิตมากที่สุด คิดเป็นเกือบ 70% โดยน้ำหนักของสีที่ผลิตทั้งหมดทั่วโลก (Forgacs et al., 2004) เนื่องจากสีกลุ่มนี้เป็นสีที่มีราคาถูก ผลิตได้ง่ายในปริมาณมาก มีความเสถียรและมีหลายเฉดสีให้เลือกใช้งานได้อย่างเหมาะสม (สุดสายชล และคณะ, 2554; ไตรมาศ และคณะ, in press) แต่อย่างไรก็ตามลักษณะโครงสร้างของสีกลุ่มนี้ทำให้ย่อยสลายได้ยากภายใต้สภาวะธรรมชาติหรือในกระบวนการระบบบำบัดน้ำเสียทั่วไป (สุบัณฑิต และคณะ, 2553) ส่วนสี triphenylmethane เป็นสีย้อมอินทรีย์สังเคราะห์ที่มีโครงสร้างของวงแหวนอะโรมาติกที่สามารถละลายน้ำได้ สีกลุ่มนี้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมประมาณ 30–40% ของสีย้อมทั้งหมด (Carliell et al., 1998)

การบำบัดน้ำเสียที่ประกอบด้วยสีย้อมเหล่านี้ด้วยวิธีทางกายภาพและทางเคมีมีข้อจำกัดในด้านต้นทุนสูงในการนำไปใช้งาน และการเกิดผลิตภัณฑ์พลอยได้ที่มีความเป็นพิษ (ไตรมาศ และคณะ, in press; Alexander, 1994) ดังนั้นการใช้เทคโนโลยีทางชีวภาพจึงเป็นทางเลือกที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน การบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพเป็นวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและสามารถนำไปสู่การย่อยสลายสีย้อมได้อย่างสมบูรณ์และมีค่าใช้จ่ายต่ำ (สุดสายชล และสุบัณฑิต , 2550; สุบัณฑิต และคณะ, 2553ก, 2553ข; สุดสายชล และคณะ, 2554; ไตรมาศ และคณะ, in press; Nimrat et al., 2004) แบคทีเรียหลายชนิดมีความสามารถในการย่อยสลายสีอะโซได้อย่างสมบูรณ์ (Saratale et al., 2011) เช่น *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas* sp., *Bacillus*, *Micrococcus*, Purple nonsulfur photosynthesis bacteria, *Kurthia* sp., *Shewanella* sp., *Aeromonas hydrophila* และ *Desulfovibrio* sp. (ไตรมาศ และคณะ, in press; Azmi et al., 1998; Sani and Banerjee, 1999; Pearce et al., 2003)

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินศักยภาพของ *B. subtilis* สายพันธุ์ BUU005 ในการกำจัดสีของสีย้อมกลุ่มอะโซ (เมทิลเรด) และกลุ่ม triphenylmethane (ฟีนอลเรด) ซึ่งเป็นสีชนิดหนึ่งที่ใช้กันอย่างกว้างขวางและมีโครงสร้างดังรูปที่ 1 รวมทั้งในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาและด้านอื่น ๆ เพื่อพัฒนาแบคทีเรียชนิดนี้มาประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมต่อไปในอนาคต



(a) (b)

รูปที่ 1 โครงสร้างของสีสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลอง (a) สีเมทิลเรด (b) สีฟีนอลเรด

วิธีดำเนินงาน

1. การเตรียมสีสังเคราะห์

เตรียมสีแต่ละชนิด ได้แก่ เมทิลเรดและฟีนอลเรดด้วยตัวทำละลาย DMSO ให้มีความเข้มข้นของสีเท่ากับ 1 มิลลิโมลาร์ แล้วกรองสีสังเคราะห์แต่ละชนิดด้วยแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร เพื่อให้ปราศจากเชื้อและตะกอนขนาดใหญ่ แล้วนำไปใช้ต่อไป

2. การเตรียมกล้าเชื้อ (inoculum)

นำ *B. subtilis* สายพันธุ์ BUU005 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรค จากห้องปฏิบัติการของ รศ.ดร. สุบัณฑิต นิ่มรัตน์ ที่ได้จัดจำแนกด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 16S rRNA มาเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ของแบคทีเรีย หลังจากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,228 *g* ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้งและล้างเซลล์ด้วยสารละลาย phosphate buffer saline (ประกอบด้วย NaCl (8), KCl (0.2), Na_2HPO_4 (1.15) และ KH_2PO_4 (0.2) กรัมต่อลิตร) 2 รอบ แล้วนำ cell suspension ที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer (Helios Delta, รุ่น 9423 UVD 1002E, สหราชอาณาจักร) ให้ได้ 1.5 A.U. เพื่อใช้เป็น Cell suspension ที่มีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^9 -10^{10} CFU/mL และนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียในการกำจัดสีสังเคราะห์

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ mineral salt medium ที่ประกอบด้วย Na_2HPO_4 (3.6), $(NH_4)_2SO_4$ (1.0), KH_2PO_4 (1.0), $Fe(NH_4)_3(C_6H_5O_7)_2$ (0.01), $MgSO_4$ (1.0), และ $CaCl_2{\cdot}2H_2O$ (0.10) กรัมต่อลิตร และเติม 10 มิลลิลิตรต่อลิตรของธาตุอาหารรองที่ประกอบด้วย $ZnSO_4{\cdot}7H_2O$ (10.0), $MnCl_2{\cdot}4H_2O$ (3.0), $CoCl_2{\cdot}6H_2O$ (1.0), $NiCl_2{\cdot}6H_2O$ (2.0), $Na_2MoO_4{\cdot}2H_2O$ (3.0), H_3BO_3 (30.0) และ $CuSO_4{\cdot}2H_2O$ (1.0) มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นอาหารที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดสีสังเคราะห์ (Khehra et al., 2005) โดยนำขวดซีรัมขนาด 150 มิลลิลิตร จำนวน 14 ขวด แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 6 ชุดการทดลอง (สีแต่ละชนิดแบ่งเป็น 3 ชุดการทดลอง) ดังนี้

1) ชุด sterile 2 ขวด เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ mineral salt medium ปริมาตร 90 มิลลิลิตร และเติม cell suspension ของกล้าเชื้อปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาขวดด้วยจุกยางและฝาอะลูมิเนียม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที ทำ 3 ครั้ง เป็นเวลา 3 วันติดต่อกัน หลังจากนั้นเติมสีสังเคราะห์ลงไป 10 มิลลิลิตร เพื่อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.1 มิลลิโมลาร์ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน ในที่มืด

2) ชุด background 2 ขวด เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ mineral salt medium ปริมาตร 90 มิลลิลิตร และเติม phosphate buffer saline ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาขวดด้วยจุกยางและฝาอะลูมิเนียม โดยไม่ต้องนำไปนึ่งฆ่าเชื้อและเติมสีสังเคราะห์ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน ในที่มืด

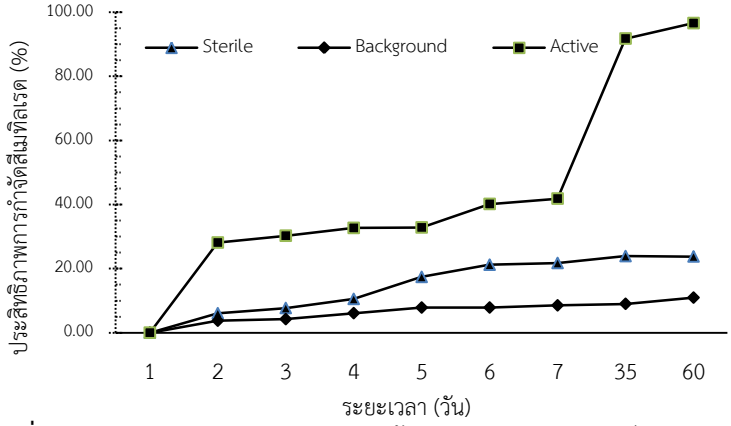
3) ชุดการย่อยสลายด้วยแบคทีเรีย (active) จำนวน 3 ขวด เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ mineral salt medium ปริมาตร 90 มิลลิลิตร เติมกล้าเชื้อปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติมสีสังเคราะห์ลงไป 10 มิลลิลิตร

เพื่อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.1 มิลลิโมลาร์ ปิดฝาขวดด้วยจุกยางและฝาอะลูมิเนียม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน ในที่มืด

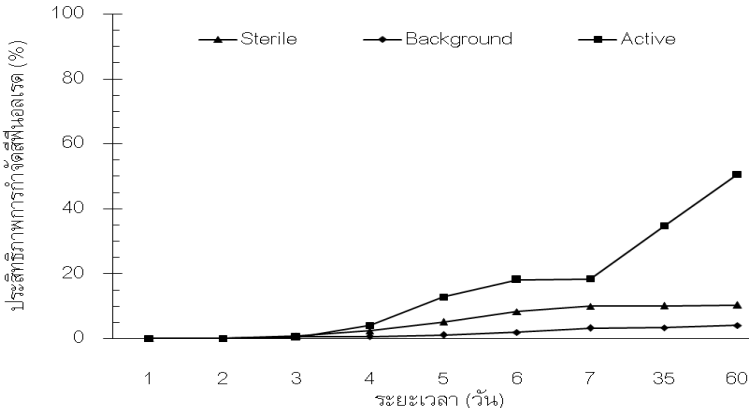
4. การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกำจัดสีสังเคราะห์ (Khalid et al., 2008)

เก็บตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร ของทุกชุดการทดลอง ที่ 0 ชั่วโมง และทุกวัน เป็นระยะเวลา 60 วัน โดยนำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,500 *g* เป็นระยะเวลา 4 นาที เก็บส่วนใส ในขณะที่ตะกอนเซลล์จะถูกเติมด้วยเมทานอลในปริมาตรที่เท่ากับตะกอนเซลล์เพื่อชะสีที่ติดอยู่กับผนังเซลล์ จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่สภาวะเดิมอีกครั้ง นำส่วนใสที่ได้มารวมกับส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงในครั้งแรก แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 420 และ 431 นาโนเมตร สำหรับสีเมทิลเรดและฟีนอลเรด ตามลำดับ ด้วยเครื่อง spectrophotometer (Helios Delta, รุ่น 9423 UVD 1002E, สหราชอาณาจักร) เพื่อประเมินประสิทธิภาพการกำจัดสีดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกำจัดสีย้อม} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงของสีย้อมเริ่มต้นการทดลอง} - \text{ค่าการดูดกลืนแสงของสีย้อม ณ เวลาต่าง ๆ})}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงของสีย้อมเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100$$



รูปที่ 2 ประสิทธิภาพการกำจัดสีเมทิลเรดด้วย *B. subtilis* สายพันธุ์ BUU005



รูปที่ 3 ประสิทธิภาพการกำจัดสีฟีนอลเรดด้วย *B. subtilis* สายพันธุ์ BUU005

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูล 3 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง โดยนำข้อมูลที่ได้แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

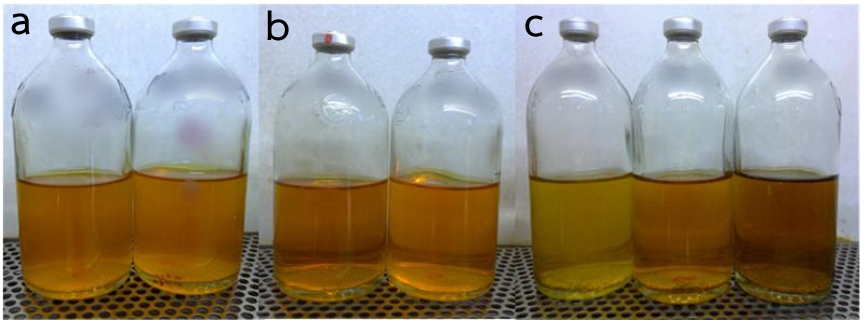
ผลการวิเคราะห์

1. ประสิทธิภาพการกำจัดสีเมทิลเรด

B. subtilis สายพันธุ์ BUU005 สามารถกำจัดสีเมทิลเรดได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ชุด active) โดยวันที่ 2 ของการทดลอง แบคทีเรียชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีเมทิลเรดเท่ากับ 34.31±8.75% และเพิ่มขึ้นเป็น 93.38±2.29% และ 94.22±3.33% ในวันที่ 35 และ 60 ของการทดลอง ดังรูปที่ 2 ในขณะที่ชุด Background และชุด Sterile เกิดการกำจัดสีเมทิลเรดเช่นเดียวกัน แต่มีค่าต่ำกว่าชุด active อย่างมาก โดยมีค่าเท่ากับ 10.94±0.59% และ 23.78±2.15% ตามลำดับ ในวันที่ 60 ของการทดลอง

2. ประสิทธิภาพการกำจัดสีฟีนอลเรด

การกำจัดสีฟีนอลเรดของ *B. subtilis* สายพันธุ์ BUU005 มีประสิทธิภาพต่ำกว่าการกำจัดสีเมทิลเรด โดยแบคทีเรียชนิดนี้เริ่มมีการกำจัดสีฟีนอล-เรดในวันที่ 3 ของการทดลอง ซึ่งมีประสิทธิภาพเพียง 0.34±0.11% แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียชนิดนี้ต้องการระยะเวลาในการปรับตัวเพื่อการย่อยสลายสีฟีนอลเรด ในวันสุดท้ายของการทดลอง (60 วัน) แบคทีเรียชนิดนี้มีประสิทธิภาพการย่อยสลายสีฟีนอลเรดเท่ากับ 50.62±2.25% (รูปที่ 3)



รูปที่ 4 ลักษณะของเมทิลเรดที่เปลี่ยนแปลงไปในวันที่ 7 ของการทดลอง (a) ชุด sterile (b) ชุด background (c) ชุด active

รูปที่ 5 ลักษณะของฟีนอลเรดที่เปลี่ยนแปลงไปในวันที่ 7 ของการทดลอง (1-2) ชุด background (3-5) ชุด sterile (5-7) ชุด active

บทสรุปและวิจารณ์

จากรายงานที่ผ่านมาพบว่าการย่อยสลายสีอะโซมักเกิดขึ้นภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจน โดยสีอะโซทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (Nigam et al., 1996; Kapdan et al., 2000) แต่พบว่าในการศึกษาครั้งนี้ *B. subtilis* สายพันธุ์ BUU005 สามารถย่อยสลายสีเมทิลเรดความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนแบบ static ภายใน 35 และ 60 วัน โดยมีค่าเท่ากับ 91.76±2.29% และ 96.58±3.33% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียสายพันธุ์นี้มีระบบเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพสำหรับการตัดพันธะอะโซ ซึ่งทำให้สามารถกำจัดสีของสีเมทิลเรดภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนแบบ static การบ่มเชื้อภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนแบบ static ทำให้การแพร่ของก๊าซออกซิเจนจำกัดที่บริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เซลล์แบคทีเรียจะตกตะกอนที่ก้นของขวดซีรัมและก๊าซออกซิเจนจะหมดไปอย่างรวดเร็ว (Stolz, 2001; Chen, 2002) แต่อย่างไรก็ตาม *B. subtilis* สายพันธุ์ BUU005 ยังคงสามารถกำจัดสีเมทิลเรดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ชี้ว่าก๊าซออกซิเจนในปริมาณน้อยที่ปรากฏในสภาวะที่มีออกซิเจนแบบ static ยังคงจำเป็นสำหรับแบคทีเรียเพื่อคงกิจกรรมพื้นฐานของเซลล์สำหรับการเจริญและการกำจัดสีอะโซ (Khadijah et al., 2009) การศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Wong and Yuen (1996) ที่รายงานว่า *Klebsiella pneumoniae* RS-13 มีความสามารถในการย่อยสลายสีเมทิลเรดความเข้มข้นสูงถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (37.1 มิลลิโมลาร์) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

การศึกษาในครั้งนี้พบว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ BUU005 สามารถกำจัดสีฟีนอลเรดได้เพียง 50.62±2.25% เมื่อบ่มเชื้อเป็นระยะเวลา 60 วัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสภาวะที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้อาจเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการกำจัดสีของแบคทีเรีย โดยจากการศึกษาของ Ayed et al. (2010) พบว่า *Staphylococcus epidermidis* สามารถกำจัดสีของสีย้อมในกลุ่ม Triphenylmethane ได้แก่ คริสตอล-ไวโอเลต ฟีนอลเรด มาลาไคท์กรีน เมทิลกรีนและฟูคซินได้อย่างมีประสิทธิภาพ ภายใต้สภาวะที่มีน้ำตาลกูลโคสเป็น co-substrate และสภาวะที่มีการเติมอากาศ (shaking condition) ประสิทธิภาพในการกำจัดสีฟีนอลเรดของแบคทีเรียชนิดนี้ต่ำกว่าประสิทธิภาพการกำจัดสีเมทิลเรดอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่ากลไกการย่อยสลายสีสังเคราะห์ทั้งสองชนิดนี้มีความแตกต่างกัน รวมทั้งโครงสร้างของสีสังเคราะห์มีผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดสี ตามปกติแล้วสีย้อมที่มีโครงสร้างอย่างง่ายและมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะถูกย่อยสลายได้ง่ายกว่าสีย้อมที่มีโครงสร้างซับซ้อนหรือโครงสร้างที่มีหมู่แทนที่ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (Sani and Banerjee, 1999) สีฟีนอลเรดซึ่งเป็นสีสังเคราะห์ในกลุ่ม triphenylmethane เป็นสีย้อมที่มีความคงทนในสิ่งแวดล้อม ซึ่งยากต่อการย่อยสลายทางชีวภาพเนื่องจากสีย้อมในกลุ่มนี้มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติกและมีหมู่ฟังชันก์ต่าง ๆ จำนวนมากเข้ามาเกาะกับโครงสร้างหลักของสีย้อม (Khan, 2003) และโครงสร้างของสีฟีนอลเรดมีหมู่ซัลโฟ ($-SO_3$) เป็นหมู่แทนที่อยู่ในโครงสร้างเกาะอยู่กับวงแหวนเบนซีนในโมเลกุลของสี ซึ่งเป็นหมู่แทนที่ที่ทำให้การย่อยสลายเกิดได้ช้า (Zimmermann et al., 1982; Khadijah et al., 2009)

การกำจัดสีย้อมโดยจุลินทรีย์เกิดได้ 2 กระบวนการคือ การดูดซับของผนังเซลล์ (adsorption) และการย่อยสลายทางชีวภาพ (biodegradation) (Knapp and Newby, 1995;

Sani and Banerjee, 1999) ซึ่งการดูดซับนั้นพบว่าเป็นกลไกที่เกิดขึ้นขั้นแรกของการกำจัดสีสังเคราะห์ แต่อย่างไรก็ตามการดูดซับนี้สามารถลดความเข้มสีได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังการศึกษาในครั้งนี้ที่พบว่าซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสีเมทิลเรดและฟีนอลเรดบางส่วนถูกกำจัดสีได้โดยการการดูดซับของเซลล์แบคทีเรีย (ชุด sterile) ในขณะที่การย่อยสลายทางชีวภาพที่เกิดขึ้นในชุด active สามารถลดความเข้มสีสังเคราะห์ทั้ง 2 ชนิดได้อย่างมาก

จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นได้ว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ BUU005 สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนด้วยสีย้อมอะโซ แต่อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการศึกษาการตรวจสอบการผลิตสารเมแทบอไลท์ที่เกิดจากการย่อยสลายสีอะโซ และการประเมินช่วงชีวิตของแบคทีเรียชนิดนี้ที่เติมลงในระบบตะกอนเร่ง ซึ่งเป็นระบบที่นิยมใช้ในการกำจัดสีสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรม รวมทั้งการพัฒนาการประยุกต์ใช้แบคทีเรียชนิดนี้ในการบำบัดด้วยวิธีไม่มีออกซิเจนต่อเนื่องด้วยสภาวะที่มีออกซิเจนเพื่อให้ประสบผลสำเร็จในการย่อยสลายสีได้อย่างสมบูรณ์

จากการศึกษาพบว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ BUU005 สามารถกำจัดสีเมทิลเรดความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ได้ภายใน 35 วันของการทดลอง โดยมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีเท่ากับ 93.38±2.29% แต่อย่างไรก็ตามแบคทีเรียชนิดนี้สามารถกำจัดสีฟีนอลเรดได้เพียงบางส่วนเท่านั้น โดยมีประสิทธิภาพการกำจัดสีฟีนอลเรดเท่ากับ 50.62±2.25% ในวันที่ 60 ของการทดลอง ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาแบคทีเรียชนิดนี้ในการพัฒนาเพื่อนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีอะโซต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ไตรมาศ บุญไทย, วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. In press. การลดความเข้มสีและการย่อยสลายสีอะโซด้วยแบคทีเรีย. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

สุดสายชล หอมทอง และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2550). การพัฒนาระบบบำบัดสีกลุ่มอะโซด้วยวิธีผสมผสาน. วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี 1(1): 101-112.

สุดสายชล หอมทอง, นเรศ เชื้อสุวรรณ และสุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2554). การกำจัดสีเมทิลเรดด้วยการดูดซับ/วิธีทางชีวภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 16(2): 63-74.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, ปิยรัตน์ ไชยบุตร, วีรสิทธิ์ ขาวผ่อง และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2553ก). การบำบัดสีอะมิโดแบล็คด้วยการดูดซับที่ต่อเนื่องด้วยตะกอนเร่ง. วารสารความปลอดภัยและสุขภาพ 3(11): 18-25.

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์, รัตติชล ศิริโรจน์มหาวงษ์ และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2553ข). การพัฒนาวิธีการบำบัดสีอะมิโดแบล็คด้วยการดูดซับ/ตะกอนเร่ง. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 15(1): 88-97.

Ayed, L., Chaieb, K., Cheref, A. and Bakhrouf, A. (2010). Biodegradation and decolorization of triphenylmethane dyes by *Staphylococcus epidermidis*. Desalination 260: 137-146.

Azmi, W., Sani, R.K., Banerjee, U.C. (1998). Biodegradation of triphenylmethane dyes. Enzyme and Microbial Technology 22: 185-191.

Carliell, C.M., Barclay, S.J., Shaw, C., Wheatley, A.D. and Buckley, C.A. (1998). The effect of salts used in textile dyeing on microbial decolourisation of a reactive azo dye. Environment and Technology 19: 1133-1137.

Chander, M. and Arora, D.S. (2007). Evaluation of some white-rot fungi for their potential to decolourise industrial dyes. Dyes and Pigments 72: 293-298.

Chen, B.Y. (2002). Understanding decolorization characteristics of reactive azo dyes by

Pseudomonas luteola: toxicity and kinetics. Process Biochemistry 38: 437-446.

Forgacs, E., Cserhati, T., Oros, G. (2004). Removal of synthetic dyes from wastewaters. Environment International 30: 953-971.

Kapdan, I.K., Kargi, F., McMullan, G., Marchant, R. (2000). Decolourisation of textile dyestuffs by a mixed bacterial consortium. Biotechnology Letters 22: 1179-1181.

Khadijah, O., Lee, K.K., Abdullah, M.F.F. (2009). Isolation, screening and development of local bacterial consortia with azo dyes decolourising capability. Malaysian Journal of Microbiology 5: 25-32.

Khalid, A., Arshad, M., Crowley, D.E. (2008). Accelerated decolorization of structurally different azo dyes by newly isolated bacterial strains. Applied Microbiology and Biotechnology 78: 361-369.

Khan, B. (2003). Microbial decolorization of triphenylmethane dyes. Department of Biotechnology & Environmental Sciences, Thapar Institute of Engineering and Technology, Deemed University.

Khehra, M.S., Saini, H.S., Sharma, D.K., Chadha, B.S., Chimni, S.S. (2005). Comparative studies on potential of consortium and constituent pure bacterial isolates to decolorize azo dyes. Water Research 39: 5135-5141.

Knapp, J.S., Newby, P.S. (1995). The microbiological decolorization of an industrial effluent containing a diazo-linked chromophore. Water Research 29: 1807-1809.

Levine, W.G. (1991). Metabolism of azo dyes: Implication for detoxification and activation. Drug Metabolism Review 23: 253-309.

Nigam, P., Banat, I.M., Singh, D., Marchant, R. (1996). Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes. Process Biochemistry 31: 435-442.

Nimrat, S., Sawangchite, P., Vuthiphandchai, V. (2004). Removal of malachite green employing physical and biological processes. Science Asia 30(4): 351-357.

Pearce, C.I., Lloyd, J. R. and Guthrie, J.T. (2003). The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells. Dyes and Pigments 58: 179-196.

Sani, R.K. and Banerjee, U.C. (1999). Decolorization of triphenylmethane dyes and textile and dyestuff effluent by *Kurthia sp*.. Enzyme and Microbial Technology 24: 433-437.

Saratale, R.G., Saratale, G.D., Chang, J.S., Govindwar, S.P. (2011). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 42: 138-157.

Stolz, A. (2001). Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. Applied Microbiology and Biotechnology 56: 69-80.

Umbuzeiro, G.A., Freeman, H., Warren, S.H., Oliveira, D.P., Terao, Y., Watanabe, T., Claxton, L.D. (2005). The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River. Chemosphere 60: 55-64.

Wong, P.K., Yuen, P.Y. (1996). Decolorization and biodegradation of methyl red by *Klebsiella pneumoniae* RS-13. Water Research 30: 1736-1744.

Zimmermann, T., Kulla, H., Leisinger, T. (1982). Properties of purified orange II-azoreductase, the enzyme initiating azo dye degradation by *Pseudomonas* KF46. European Journal of Biochemistry 129: 197-203.

❑❑❑❑❑