ว.วิทย. มข. 41(4) 1043-1056 (2556) KKU Sci. J. 41(4) 1043-1056 (2013)

ศักยภาพของแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งปนเปื้อนสีย้อมในการลดความเข้มสีในน้ำเสียที่ได้จากการย้อมกก

Potential of Bacteria Isolated from a Dye Contaminated Site on Decolorization of Reed Dyeing Wastewater

นิตยา เลี้ยงถนอม[1] *และ จิรภัทร จันทมาลี*[2*]

บทคัดย่อ

การปล่อยน้ำทิ้งที่มีสีจากกระบวนการทอเสื่อกก อาจก่อให้เกิดผลกระทบในเชิงลบต่อคุณภาพน้ำ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกแบคทีเรียย่อยสลายสีย้อมจากพื้นที่ทอเสื่อกกในจังหวัดจันทบุรี และศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่คัดเลือกในการลดความเข้มของสีย้อมกก ในขั้นแรกได้คัดแยกแบคทีเรียย่อยสีจำนวน 18 ไอโซเลท โดยใช้เทคนิคการเพิ่มจำนวนเชื้อในอาหารที่เติมสีย้อมกก จากนั้นนำแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทมาทดสอบความสามารถในการเจริญบนผิวหน้าอาหารแข็ง Mineral Salt (MS) ผสมสีสังเคราะห์ที่ใช้ย้อมกกความเข้มข้น 1,000 มก./ล. เป็นแหล่งคาร์บอนหลัก และศึกษาประสิทธิภาพในการสร้างเอ็กโซพอลิแซ็กคาไรด์ (Exopolysaccharide, EPS) ซึ่งมีรายงานว่าสามารถดูดซับสีได้ ผลการทดลองพบว่าไอโซเลท A1 และ A8 สามารถเจริญได้ดีบนอาหารทดสอบ รวมทั้งสร้าง EPS ได้ในปริมาณสูง (82-85 เปอร์เซ็นต์) จากการจัดจำแนกชนิดพบว่าเชื้อ A1 และ A8 จัดอยู่ในจีนัส *Serratia* และ *Klebsiella* ตามลำดับ หลังจากนั้นทดสอบประสิทธิภาพการลดความเข้มสีในอาหารเหลว MS ที่เติมสีแดง 100 มก./ล. โดยการเขย่า (150 รอบ/นาที) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน พบว่า *Serratia* sp. A1 เป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดความเข้มของสีได้ 11.56 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงคัดเลือกเฉพาะเชื้อ A1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการลดความเข้มของสีย้อมกกชนิดอื่น ๆ พบว่าเชื้อนี้สามารถลดความเข้มของสีย้อมกกสีเหลือง และสีผสมได้ 10.84 และ 12.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในที่สุดได้นำ *Serratia* sp. A1 ไปบำบัดสีในน้ำเสียจริงที่ได้จากการย้อม พบว่าชุด bioaugmentation ที่เติมสี 100 มก./ล. และเติมหัวเชื้อ (OD_{600} = 0.1) สามารถลดความเข้มของสีได้สูงสุด 12.89 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการบ่ม 8 วัน

[1]หลักสูตรชีววิทยาประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี อ.เมือง จ.จันทบุรี 22000

[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี อ.เมือง จ.จันทบุรี 22000

*Corresponding Author, E-mail: jirapatchanthamalee@hotmail.com

ABSTRACT

The release of colored waste effluents from reed mat production may cause negative impact on water quality. This study aimed to isolate dye-degrading bacteria from reed manufacturing areas in Chanthaburi as well as to study the efficiency of the selected strains on removal of reed dye. At first, eighteen strains of dye-degrading bacteria were isolated by dye enrichment culture techniques. After that, the growth on Mineral Salt Medium containing 1,000 mg/l synthetic reed dye as sole carbon source and the exopolysaccharide (EPS) production ability of each isolate were determined. EPS has been shown to absorb dye. The results showed that isolate A1 and A8 grown well on the tested medium and had high EPS's producing ability (82-85%). The identification results found that A1 and A8 were belonged to genus *Serratia* and *Klebsiella*, respectively. After that, the dye removal efficiency of the selected strains was determined in MS containing 100 mg/l red dye. The treatments were incubated with shaking (150 rpm) at room temperature for 14 days. *Serratia* sp. A1, the most effective strain could reduce the color intensity at 11.56%. Therefore, A1 was selected to test for its efficiency in reducing the intensity of other reed dyes. This bacterial strain could reduce the color intensity of yellow and mixed dye at 10.84 and 12.16%, respectively. Finally, *Serratia* sp. A1 was used to treat real reed mat effluent. The bioaugmentation flasks containing 100 mg/l dye and inoculum (OD_{600} = 0.1) showed the good activity of reducing dye color intensity at 12.89% after 8-day incubation.

คำสำคัญ: การคัดแยกแบคทีเรีย การลดความเข้มสี สีย้อมกก วิธีการเติมเชื้อ

Keywords: Bacterial isolation, Bio-decolourization, Reed dye, Bioaugmentation

บทนำ

ผลิตภัณฑ์เสื่อกกเป็นสินค้าหัตถกรรมขึ้นชื่อของจังหวัดจันทบุรีที่สร้างอาชีพและรายได้ให้แก่ชุมชน จากการสำรวจในพื้นที่จังหวัดจันทบุรีพบว่านิยมใช้สีสังเคราะห์ชนิดรีแอกทีฟ (reactive dye) ในการย้อมเส้นใยกก ซึ่งสีประเภทนี้สามารถละลายน้ำได้ดี โมเลกุลยึดกับหมู่ไฮดรอกซิลของเซลลูโลส และเชื่อมโยงติดกันด้วยพันธะโควาเลนท์ในสภาพที่เป็นด่าง ให้สีสดใส และคงทน แต่ในขั้นตอนการย้อม มักมีการปล่อยน้ำทิ้งที่มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลคล้ำเนื่องจากการผสมของสีย้อมหลายชนิด ลงสู่สิ่งแวดล้อมโดยตรง ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลเสียต่อสภาพแวดล้อมและสุขภาพของมนุษย์ เนื่องจากสีรีแอกทีฟมีโครงสร้างประกอบด้วยวงอะโรมาติกหลายวง จึงยากต่อการย่อยสลายและตกค้างได้นานในสิ่งแวดล้อม (Lade et al., 2012) นอกจากนี้ยังมีการปนเปื้อนของสารเคมีอันตรายหลายชนิด (Nilsson et al., 2006) ดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการ

บำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการย้อมกกก่อนปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อม

วิธีการบำบัดน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมทอเสื่อกก ทำได้โดยวิธีทางกายภาพ แต่สิ้นเปลืองพลังงานและอาจเกิดสารที่มีความเป็นพิษมากขึ้นจากขั้นตอนการบำบัด (Ghoreishi and Haghighi, 2003) ซึ่งอาจแก้ปัญหาโดยใช้วิธีทางชีวภาพที่ไม่ทำให้เกิดผลเสียต่อสภาพแวดล้อม สามารถลดความเป็นพิษของสาร หรือกำจัดสีย้อมได้อย่างสมบูรณ์ และเป็นวิธีที่เสียค่าใช้จ่ายต่ำ (Saratale et al., 2012) ซึ่งมีรายงานว่าแบคทีเรียประจำถิ่นหลายชนิดในระบบนิเวศ สามารถเจริญโดยใช้สีย้อมที่ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นแหล่งคาร์บอน เช่น *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Comamonas*, *Bacillus Geobacillus*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Lysinibacillus*, *Sphingomonas*, *Staphylococcus* และ *Streptomyces* (Saratale et al., 2012; Chengalroyen and Dabbs, 2013) และ *Serratia* (Gondaliya and Parikh, 2012) ดังนั้นจึงอาจนำแบคทีเรียเหล่านี้ไปใช้ลดความเข้มสีย้อมที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้ แต่ประสิทธิภาพการใช้งานของเชื้อเหล่านี้อาจมีความแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ เนื่องจากแบคทีเรียอาจไม่สามารถเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่ต่างจากบริเวณที่คัดแยกเชื้อ ปัญหานี้อาจแก้ไขโดยการนำเชื้อประจำถิ่นที่คัดแยกจากพื้นที่ปนเปื้อน กลับมาใช้ย่อยสารนั้น (Hosokawa et al., 2009)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการคัดแยกและศึกษาแบคทีเรียย่อยสลายสีย้อมจากพื้นที่ทอเสื่อกกในจังหวัดจันทบุรี ด้วยการนำเชื้อกลุ่มนี้มาศึกษาความสามารถในการเจริญโดยใช้สีย้อมกกสีแดงเป็นแหล่งคาร์บอนหลัก และทดสอบความสามารถในการสร้าง EPS ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ เพราะมีรายงานการดูดซับสีย้อมด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ที่เชื้อสร้างขึ้น (Zhang et al., 2009) หลังจากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือก ในการลดความเข้มของสีย้อมเสื่อกกสีแดง และสีอื่น ๆ รวมทั้งทดลองนำเชื้อนี้ไปลดความเข้มสีในตัวอย่างน้ำเสียจากการย้อมกก เพื่อประเมินความเป็นไปได้ของการนำไปใช้ในพื้นที่จริง โดยคาดว่าในอนาคต แบคทีเรียที่คัดแยกได้นี้จะมีประโยชน์ต่อการนำไปใช้ย่อยสลายน้ำทิ้งปนเปื้อนสีย้อมจากอุสาหกรรมสิ่งทอต่อไป

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในงานวิจัยนี้ใช้สารสีจริงที่ใช้ในขั้นตอนการย้อมกก ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากกลุ่มทอเสื่อกกของหมู่บ้านบางสระเกล้า จ.จันทบุรี สีดังกล่าวละลายน้ำและย้อมติดกับเส้นใยกกได้ดีในภาวะเบสที่อุณหภูมิสูง (สอดคล้องกับขั้นตอนการย้อมกกใช้การละลายสีในน้ำร้อนที่มีการเติมเกลือ) โดยทั่วไปสีกลุ่มรีแอกทีฟที่ใช้ย้อมกกมักเป็นสีย้อมแอโซ (azo dye) ที่มีกลุ่มแอโซ (-N=N-) หนึ่งกลุ่มหรือมากกว่าหนึ่งกลุ่มอยู่ในโครงสร้างของสี สีย้อมชนิดนี้ละลายน้ำได้ดี มีความสว่างสดใส มีความคงทนต่อแสงอยู่ในเกณฑ์ปานกลางถึงดี และมีราคาไม่แพง (วีรานุชและคณะ, 2008) ในขั้นต้นของงานวิจัยใช้สีย้อมกกสีแดง (นิยมใช้ในการย้อมเพื่อทำผลิตภัณฑ์เสื่อกก) เป็นแหล่งคาร์บอน สำหรับคัดแยกแบคทีเรียย่อยสีด้วยเทคนิคการเพิ่มจำนวนเชื้อ (dye enrichment technique) และการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสีของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลท หลังจากนั้นจึงทดสอบการย่อยสีย้อมกกชนิดอื่น ๆ คือ สีเหลือง และสีผสม (ได้จากการผสมสีย้อมกกสีแดง เหลือง เขียว ชมพู

ในอัตราส่วน 1:1:1:1 เพื่อจำลองการปนเปื้อนของสีในสิ่งแวดล้อมที่ประกอบด้วยสีย้อมกกหลาย ๆ ชนิดผสมกัน) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสีของแบคทีเรียที่คัดเลือก โดยตัวอย่างสีทุกชนิดถูกผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งด้วยความดันไอน้ำ (121 $^{\circ}$C 15 นาที) สำหรับชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้คือ Mineral Salt (MS) ตามรายงานวิจัยของ Saraswathi และ Balakumar (2009) (สูตรอาหาร กรัม/ลิตร ประกอบด้วย Na_2HPO_4: 3.6, $(NH_4)_2SO_4$: 1.0, KH_2PO_4: 1.0, $MgSO_4$: 1.0, $CaCl_2$: 0.10, yeast extract: 1.0, กลูโคส: 1.0 และ 10 มล. ของสารละลาย (มก./ล.) $ZnSO_4$: 1.0, $MnCl_2$: 3.0, $NiCl_2$: 2.0, Na_2MoO_4: 3.0, H_3BO_3: 30.0, $CuCl_2$: 1.0 pH =7) และพบว่าการเติมสารสกัดจากยีสต์และกลูโคสจะช่วยเพิ่มการเจริญของเชื้อย่อยสี (Nawahwi et al., 2013) และใช้อาหารเหลว Lauria-Bertani (LB) ที่มีความเข้มข้นเป็น 0.25 เท่า ในการเตรียมหัวเชื้อ

2. การคัดแยก เพิ่มปริมาณเชื้อ และการเลี้ยงเชื้อลดความเข้มสีย้อมกก

การคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการลดความเข้มสีย้อมกก โดยนำตัวอย่างดิน 10 กรัม หรือน้ำทิ้งจากการย้อมกก 10 มล. จำนวน 12 ตัวอย่าง ที่เก็บจากกลุ่มทอเสื่อกกหมู่บ้านบางสระเกล้า และหมู่บ้านเสม็ดงาม จ.จันทบุรี ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเหลว MS ปริมาตร 100 มล. ที่เติมสีย้อมกก 50 มก./ล. นำไปเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 วัน อุณหภูมิห้อง เพิ่มปริมาณเชื้อโดยถ่ายเชื้อลงอาหารใหม่ 3 ครั้ง จนสังเกตพบว่าเชื้อมีความขุ่นมากขึ้น จึงแยกเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MS ที่เติมสีย้อมกก บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะแตกต่างกันมาทำให้บริสุทธิ์ และเก็บเชื้อบริสุทธิ์บนอาหารแข็ง MS ผสมสีย้อมกก สำหรับการเตรียมหัวเชื้อทำดังนี้ เขี่ยโคโลนีเดี่ยวของแต่ละไอโซเลท ลงในอาหารเหลว LB ปริมาตร 10 มล. ภายหลังการบ่มเชื้อนาน 24 ชม. ถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลว LB ปริมาตร 100 มล. บ่มเชื้อนาน 24 ชม. ปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บเซลล์ ล้างเซลล์ 2 ครั้งด้วยน้ำเกลือปลอดเชื้อ (0.85% NaCl) และนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3. การศึกษาสมบัติต่าง ๆ ของแบคทีเรียย่อยสีย้อมกก

3.1 ความสามารถในการสร้าง EPS

ทดสอบความสามารถในการสร้าง EPS ของแบคทีเรียย่อยสีย้อมกกแต่ละชนิด ตามวิธีดัดแปลงจาก Obuekwe และ Al-Muttawa (2001) โดยเติมหัวเชื้อของแต่ละไอโซเลท (OD_{600} = 1.0) ลงในอาหารเหลว Mineral Salts ปริมาตร 4 มล. (สูตรอาหาร กรัม/ลิตร ประกอบด้วย K_2HPO_4: 0.5 Na_2SO_4: 2.0 NH_4Cl: 1.0 $CaCl_2.7H_2O$: 0.15 $MgSO_4.7H_2O$: 0.02 ปรับค่า pH เป็น 7.2) ที่บรรจุทรายทะเลปลอดเชื้อ 2 กรัม เพื่อกระตุ้นการสร้าง EPS ของเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที ทดสอบการสร้าง EPS โดยเติมสีย้อม methylene blue (นิยมใช้ในการตรวจวิเคราะห์ไบโอฟิล์มตามรายงานของ Zhou et al. ในปี 2010) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร (แทนสี alcian blue) ลงไปในแต่ละหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันบนเครื่องเขย่านาน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วนำไปตกตะกอนเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร คำนวณเปอร์เซ็นต์การสร้าง EPS โดยเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของชุดทดสอบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อ ทุกชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ

3.2 การเจริญของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทบนผิวหน้าอาหารแข็ง MS ที่เติมสีย้อมกก

ทดสอบความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในอาหารที่มีสีย้อมกกเป็นแหล่งคาร์บอนหลัก โดยขีด (streak) เชื้อบนผิวหน้าอาหารแข็ง MS ที่ผสมสีย้อมกกสีแดงในช่วง 60-1,000 มก./ล. บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4. การจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียย่อยสีย้อมกกสายพันธุ์ที่คัดเลือก

จัดจำแนกชนิดในระดับจีนัสของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกจากข้อ 2 โดยใช้ผลทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นตามคู่มือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology

5. การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายสีย้อมกกของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือก

ทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสีย้อมกกชนิดต่าง ๆ ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือก โดยใช้อาหารเหลว MS ที่ผสมสีย้อมความเข้มข้น 100 มก./ล. ใส่หัวเชื้อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของเซลล์เป็น OD_{600} = 1.0 โดยมีชุดควบคุมที่เติมเฉพาะสีย้อมกก บ่มฟลาสก์บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน วิเคราะห์การลดลงของสีย้อมทุกวัน โดยเก็บตัวอย่างปริมาตร 5 มล. โดยเทคนิคปลอดเชื้อ (ทำ 3 ซ้ำ) นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนใสมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่า λ_{max} ของสีย้อมแต่ละชนิดดังนี้ (สีย้อมกกสีแดง: 528 นาโนเมตร สีย้อมกกสีเหลือง: 380 นาโนเมตร สีย้อมกกสีผสม: 520 นาโนเมตร) คำนวณเปอร์เซ็นต์การลดลงของสีย้อมกกจากสูตรตามรายงานของ Saratale et al. (2009) ดังนี้: % dye decolorization = 100 × [(initial absorbance – observed absorbance)/initial absorbance]

เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการย่อยสลายสีย้อมกกที่ปนเปื้อนในน้ำทิ้งของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือก (bioaugmentation treatment) กับเชื้อประจำถิ่นที่อยู่ในน้ำทิ้ง (natural attenuation treatment) ซึ่งชุดทดลอง bioaugmentaiton ประกอบด้วยการเติมหัวเชื้อแบคทีเรียลงในฟลาสก์บรรจุน้ำทิ้งจากการย้อมกกที่ผสมสีย้อมสีแดงความเข้มข้น 100 มก./ล. (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 121 °C 15 นาที) เทียบกับชุด natural attenuation ที่มีเฉพาะน้ำเสียปนเปื้อนสีย้อมกกและสีแดงความเข้มข้น 100 มก./ล. บ่มเชื้อบนเครื่องเขย่าที่ ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 8 วัน เก็บตัวอย่างจากฟลาสก์ทุก 4 วัน (วันที่ 0 4 และ 8) เพื่อนำมาวิเคราะห์การลดลงของสี

ผลการวิจัย

1. การคัดแยกและคัดเลือกแบคทีเรียย่อยสลายสีย้อมกกสีแดง

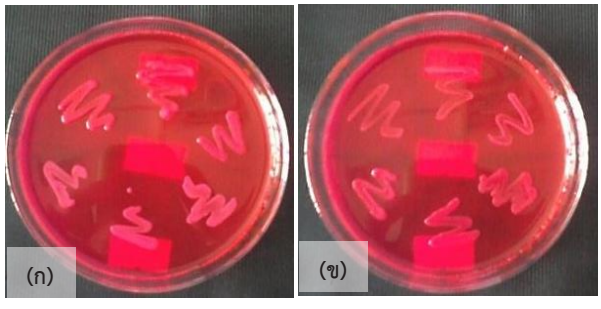
ในงานวิจัยนี้คัดแยกจุลินทรีย์ย่อยสีย้อมกกสีแดง โดยเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งและดินจากบริเวณพื้นที่ย้อมกกของกลุ่มอุตสาหกรรมทอเสื่อกกหมู่บ้านเสม็ดงาม และบางสระเก้า จังหวัดจันทบุรี ที่มีการทิ้งน้ำเสียจากการย้อมเส้นใยกกอย่างต่อเนื่อง หลังจากเพิ่มปริมาณเชื้อในอาหารเหลว MS ที่มีสีย้อมกกสีแดงเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญของเชื้อเป็นเวลา 15 วัน สามารถแยกเชื้อที่มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกันบนอาหารแข็ง MS ที่เติมสีย้อม ได้ทั้งหมด 18 ไอโซเลท ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรีย 11 สายพันธุ์ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดิน ส่วนแบคทีเรียย่อยสีย้อมกกอีก 7 สายพันธุ์คัดแยกมาจากน้ำทิ้ง โดยส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีเพียง 1 สายพันธุ์เท่านั้นที่เป็นแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียมีลักษณะเซลล์แบบกลม (cocci) แท่งสั้น (short rod) และแท่งยาว (bacilli) (ตารางที่ 1) มี

ลักษณะโคโลนีแบบกลม รี ขอบเรียบ ขอบหยัก นูนสูง จากผิวหน้าอาหารผิวโคโลนีมีลักษณะแบบ เรียบ ด้านมัน หรือเป็นเมือก ส่วนใหญ่โคโลนีมีสีขาวครีม และมีบางไอโซเลทมีสีแดง จากข้อมูลแสดงผลการทดสอบความสามารถในการสร้าง EPS ของแบคทีเรียย่อยสีย้อมกกแต่ละไอโซเลท ในตารางที่ 1 พบว่ามีเพียง 7 ไอโซเลทที่สามารถสังเคราะห์ EPS ได้ (12.4-84.5%) โดยแบคทีเรียไอโซเลท A1 และ A8 สามารถสังเคราะห์ EPS ได้สูงสุด (~82-85%) และแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีบนอาหารแข็ง MS ที่เติมสีย้อมความเข้มข้นสูงถึง 1,000 มก./ล. (ตารางที่ 1 และ รูปที่ 1) ดังนั้นจึงคัดเลือกแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์นี้เพื่อใช้ในทดลองขั้นต่อไป

ตารางที่ 1 ลักษณะเซลล์ ประสิทธิภาพในการสร้าง EPS และความสามารถในการเจริญบนอาหาร MS ที่เติมสีของแบคทีเรียย่อยสลายสีย้อมกกทั้ง 18 สายพันธุ์ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชม.

ไอโซเลท	แหล่ง*	ชนิดแกรม	รูปร่างเซลล์	ประสิทธิภาพการสร้าง EPS (%)	ผลการเจริญของแบคทีเรียบนผิวหน้าอาหารแข็ง MS ที่เติมสีย้อมกกความเข้มข้นต่าง ๆ (มก./ล.)				
					60	100	250	500	1000
A1	ดิน	แกรมลบ	cocci/rod	82.4 ± 0.5	+++	+++	+++	+++	+++
A2	น้ำทิ้ง	แกรมลบ	cocci	0.0 ± 0.0	+++	+++	+++	+++	+
A3	ดิน	แกรมลบ	short rod	26.8 ± 1.5	+++	+++	+++	+++	++
A4	ดิน	แกรมลบ	bacilli	64.1 ± 1.7	+++	+++	+++	+++	++
A5	น้ำทิ้ง	แกรมลบ	short rod	0.0 ± 0.0	+++	+++	+++	+++	++
A6	น้ำทิ้ง	แกรมบวก	cocci	65.4 ± 1.6	+++	+++	+++	++	+
A7	น้ำทิ้ง	แกรมลบ	short rod	0.0 ± 0.0	+++	+++	+++	++	++
A8	น้ำทิ้ง	แกรมลบ	short rod	84.5 ± 0.8	+++	+++	+++	+++	+++
A9	ดิน	แกรมลบ	short rod	0.0 ± 0.0	+++	+++	+++	++	++
A10	ดิน	แกรมลบ	bacilli	0.0 ± 0.0	+++	+++	+++	++	-
A11	ดิน	แกรมลบ	cocci	0.0 ± 0.0	+++	+++	+++	+++	+++
A12	ดิน	แกรมลบ	short rod	0.0 ± 0.0	+++	+++	+++	+++	+++
A13	ดิน	แกรมลบ	short rod	47.1 ± 2.5	+++	+++	+++	++	++
A14	น้ำทิ้ง	แกรมลบ	short rod	12.4 ± 3.1	+++	+++	+++	++	++
A15	ดิน	แกรมลบ	short rod	18.1 ± 3.8	+	+	+	-	-
A16	ดิน	แกรมลบ	rod	0.0 ± 0.0	++	++	+	-	-
A17	น้ำทิ้ง	แกรมลบ	rod	0.0 ± 0.0	+++	+++	+++	++	++
A18	ดิน	แกรมลบ	cocci	0.0 ± 0.0	+++	+++	+++	++	++

*ตัวอย่างที่นำมาคัดแยกเชื้อ เป็นตัวอย่างดินและน้ำทิ้งจากพื้นที่ย้อมกก ของหมู่บ้านบางสระเกล้า และหมู่บ้านเสม็ดงาม จังหวัดจันทบุรี (+++) โคโลนีแบคทีเรียมีการเจริญสม่ำเสมอตามแนวขีดบนผิวหน้าอาหารทดสอบ (++) โคโลนีแบคทีเรียมีการเจริญดีตามแนวขีดบนผิวหน้าอาหารทดสอบ (+) โคโลนีแบคทีเรียมีการเจริญเล็กน้อยตามแนวขีดบนผิวหน้าอาหารทดสอบ (-) ไม่มีการเจริญของโคโลนีแบคทีเรียบนผิวหน้าอาหารทดสอบ



รูปที่ 1 การเจริญของแบคทีเรียไอโซเลท A1 (ก) และ A8 (ข) ที่มีการเจริญสม่ำเสมอตามแนวขีดบนผิวหน้าอาหารแข็ง MS ที่เติมสีย้อมกกสีแดงความเข้มข้น 1,000 มก./ล. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชม.

2. การจัดจำแนกชนิดในระดับจีนัสของแบคทีเรียย่อยสลายสีย้อมกก สายพันธุ์ที่คัดเลือก

จากการคัดเลือกแบคทีเรียไอโซเลท A1 และ A8 ซึ่งสามารถเจริญได้ดีบนอาหาร MS ที่เติมสีย้อมและสร้าง EPS ได้ในปริมาณสูง ที่อาจช่วยเพิ่มความสามารถในการตกตะกอนของสีย้อมได้ จึงนำมาจัดจำแนกชนิดในระดับจีนัส พบว่าเชื้อ A1 ให้ผลบวกต่อการทดสอบ motility VP และ citrate utilization การทดสอบ TSI ให้ผล K/A- และการทดสอบ oxidative-fermentation ได้ผล fermentative ให้ผลลบต่อการทดสอบ oxidase indole methyl red urease และ malonate ซึ่งสามารถจัดจำแนกได้เป็น *Serratia* sp. A1 ส่วนเชื้อ A8 ให้ผลบวกต่อการทดสอบ VP citrate urease malonate การทดสอบ TSI และ OF ได้ผลเช่นเดียวกับเชื้อ A1 ให้ผลลบต่อการทดสอบ oxidase indole motility และ methyl red จากข้อมูลดังกล่าวจึงสามารถจัดจำแนกเชื้อนี้ได้เป็น *Klebsiella* sp. A8

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียย่อยสีย้อมเสื่อกก ไอโซเลท A1 และ A8 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชม.

การทดสอบ	ไอโซเลท	
	A1	A8
Oxidase test	-	-
Indole	-	-
Motility	+	-
Methyl red	-	-
Vogas-Proskauer	+	+
Citrate Utilization	+	+
Urease	-	+
Malonate	-	+
TSI	K/A-	K/A-
OF	Fermentative	Fermentative

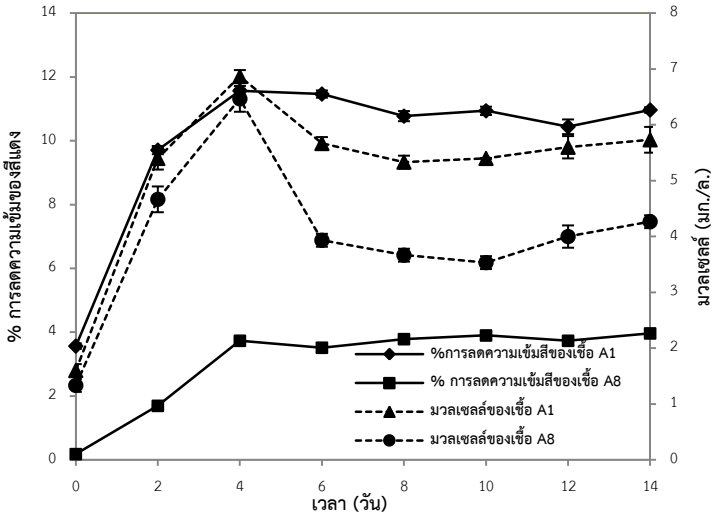
หมายเหตุ: + คือ เชื้อมีเอนไซม์ชนิดที่ทดสอบ หรือเจริญได้ในสารตั้งต้นชนิดนั้น; - คือ เชื้อไม่มีเอนไซม์ชนิดที่ทดสอบหรือไม่เจริญในสารตั้งต้นชนิดนั้น; K/A คือ แบคทีเรียใช้กลูโคสได้แต่ไม่สามารถใช้แลกโตสกับซูโครสได้ จึงแปลสภาพไนโตรเจนเป็นด่างเกิดเป็นสีชมพู

3. ประสิทธิภาพในการลดความเข้มสีย้อมกกสีแดงของ *Serratia* sp. A1 และ *Klebsiella* sp. A8

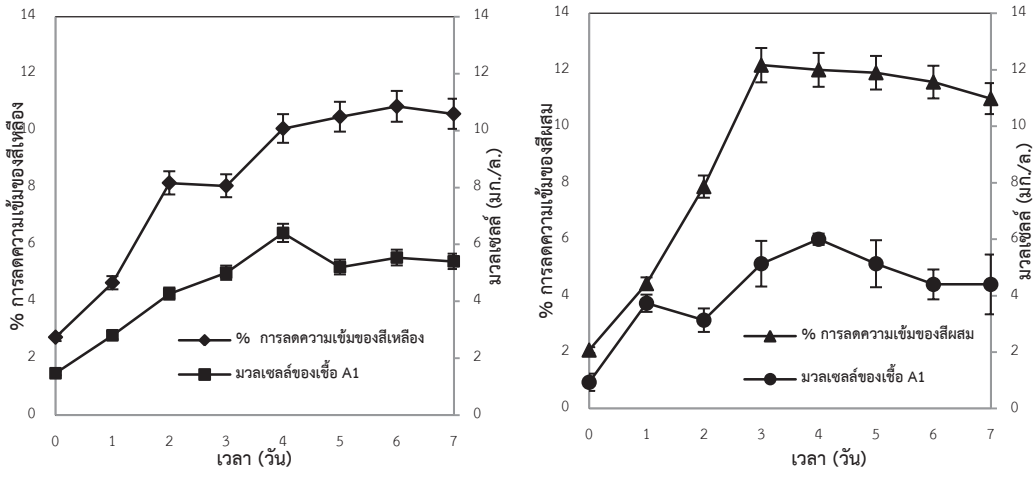
ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการลดความเข้มสีของ *Serratia* sp. A1 และ*Klebsiella* sp. A8 ซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติมสีย้อมกกความเข้มข้น 100 มก./ล. เป็นเวลา 14 วัน แสดงในรูปที่ 2 พบว่า *Serratia* sp. A1 มีเปอร์เซ็นต์การลดความเข้มสีได้ 3.5±0.08%.ในชั่วโมงที่ 0 และเพิ่มเป็น 11.56±0.06% ในวันที่ 4 โดยมีค่าคงที่ตลอดการทดลอง สอดคล้องกับมวลเซลล์ที่เพิ่มขึ้นจาก 1.60±0.11 ในวันที่ 0 เป็น 6.86±0.11 มก./ล. ในวันที่ 4 ในทางตรงกันข้าม *Klebsiella* sp. A8 ลดความเข้มสีได้เพียง 3.7±0.06% และมีค่าค่อนข้างคงที่จนถึงวันที่ 14 จากผลการทดลองแสดงว่า *Serratia* sp. A1 สามารถลดความเข้มสีได้ดีกว่า *Klebsiella* sp. A8 ดังนั้นจึงคัดเลือกเฉพาะ *Serratia* sp. A1 สำหรับทดสอบประสิทธิภาพในการลดความเข้มสีย้อมกกสีเหลืองและสีผสมต่อไป

4. ประสิทธิภาพของ *Serratia* sp. A1 ในการลดความเข้มสีย้อมกกสีเหลืองและสีผสม

การทดสอบประสิทธิภาพของ *Serratia* sp. A1 ในการลดความเข้มของสีย้อมกกสีเหลือง และสีผสม ทำโดยเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว MS ที่เติมสีทดสอบ ความเข้มข้น 100 มก./ล. บ่มที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อนี้สามารถลดความเข้มของสีย้อมกกสีเหลืองได้ 2.7±0.4% ในวันที่ 0 และเพิ่มเป็น 10.84±0.4% ในวันที่ 6 ของการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับผลการเจริญของเชื้อ ที่มีมวลเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 1.46±0.23 ในวันที่ 0 เป็น 6.4±0.20 มก./ล. ในวันที่ 4 (รูปที่ 3ก) นอกจากนี้ *Serratia* sp. A1 สามารถย่อยสีผสมได้ 2.7±0.02% ในวันที่ 0 และเพิ่มเป็น 12.16±0.07 % ในวันที่ 3 ของการทดสอบ โดยสอดคล้องกับผลการเจริญของเชื้อซึ่งมีมวลเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 0.93±0.30 ในวันที่ 0 เป็น 6.00±0.20 มก./ล. ในวันที่ 4 (รูปที่ 3ข)



รูปที่ 2 เปอร์เซ็นต์การลดความเข้มสีย้อมกกสีแดงและมวลเซลล์ของ *Serratia* sp. A1 และ *Klebsiella* sp. A8 ที่เลี้ยงในอาหาร MS ซึ่งเติมสีย้อม 100 มก./ล. และมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 1.0 OD_{600} บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 14 วัน ข้อมูลที่แสดงเป็นแบบ mean ± SD

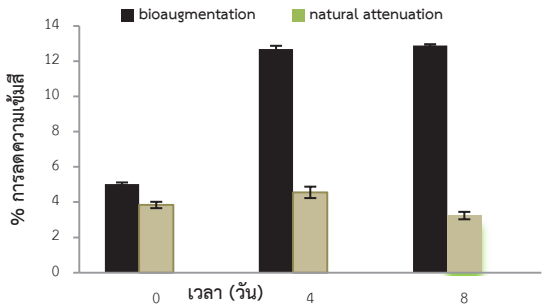


(ก) (ข)

รูปที่ 3 ประสิทธิภาพของ *Serratia* sp. A1 ในการลดความเข้มสีย้อมกกสีเหลือง (ก) และสีผสม (ข) จากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว MS ซึ่งเติมสีย้อม 100 มก./ล. และมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 1.0 OD_{600} บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 7 วัน ข้อมูลที่แสดงเป็นแบบ mean ± SD

5. ประสิทธิภาพของ *Serratia* sp. A1 ในการลดความเข้มสีของน้ำเสียสิ่งทอเสื่อกกที่เก็บจากพื้นที่จริง

ทดสอบประสิทธิภาพของ *Serratia* sp. A1 ในการลดความเข้มสีในตัวอย่างน้ำเสียที่นำมาจากกลุ่มเกษตรกรทอเสื่อกก โดยมีชุดทดลอง bioaugmentation ที่เติมสีความเข้มข้น 100 มก./ล. และหัวเชื้อ A1 เทียบกับชุด natural attenuation ซึ่งเติมเฉพาะน้ำเสียและสีทดสอบ ภายหลังการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 8 วัน พบว่าชุดการทดลอง bioaugmentation สามารถลดความเข้มของสีได้ 12.69±0.17% ในวันที่ 4 และมีค่าคงที่จนถึงวันที่ 8 ของการทดลอง ในขณะที่ชุด natural attenuation ลดความเข้มสีได้เพียง 4.55±0.32% ในวันที่ 4 และมีค่าลดลงเล็กน้อยในวันที่ 8 ของการทดลอง (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 เปอร์เซ็นต์การลดความเข้มสีในน้ำเสียจากพื้นที่ย้อมกก ของชุดทดลอง bioaugmentation ที่เติม *Serratia* sp. A1 (0.1 OD_{600}) เทียบกับชุด natural attenuation บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ความเร็ว 150 รอบ/นาที นาน 8 วัน

บทสรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ได้คัดแยกแบคทีเรียย่อยสีย้อมที่เป็นเชื้อประจำถิ่นในตัวอย่างดินและน้ำทิ้งจากพื้นที่ย้อมกก ของจังหวัดจันทบุรี จำนวน 18 ไอโซเลท โดยวิธีเพิ่มปริมาณเชื้อในอาหาร MS ที่มีสีย้อมกกสีแดงเป็นแหล่งคาร์บอน การเติมกลูโคสปริมาณเล็กน้อย (1 กรัม/ล.) ลงในอาหารช่วยกระตุ้นการเจริญในช่วงแรกของเซลล์ และทำให้เกิดการย่อยสลายสีย้อมกกได้ในที่สุด วิธีการคัดแยกเชื้อย่อยสีที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นไปในแนวทางเดียวกับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่นิยมคัดแยกเชื้อจากพื้นที่ปนเปื้อนโดยตรง ด้วยเทคนิค enrichment culture (Saraswathi and Balakumar, 2009; Mahmood et al., 2011) เนื่องจากมีแบคทีเรียเจริญอยู่ในปริมาณมาก เช่น Rajee และ Patterson รายงานในปี 2011 ว่ามีจำนวนแบคทีเรียพวกเฮทเทอโรทรอฟิก (heterotrophic bacteria) จำนวน 2.14×10^{6} CFU/กรัม Mariappan et al. (2003) รายงานว่ามีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในช่วง 1.3 - 3.2×10^{8} CFU/กรัม จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะสามารถคัดแยกได้สายพันธุ์แบคทีเรียประจำถิ่นซึ่งมีประสิทธิภาพดีในการย่อยสลายสีย้อมได้

แบคทีเรียย่อยสลายสีย้อมกกทั้ง 18 สายพันธุ์ที่คัดแยกได้ในงานวิจัยนี้สามารถเจริญบนผิวหน้าอาหารแข็ง MS ที่เติมสีย้อมกกได้ แต่พบว่ามีเพียง 4 สายพันธุ์เท่านั้นที่สามารถเจริญได้ดีบนอาหารที่เติมสีย้อมกกสีแดงความเข้มข้นสูงถึง 1,000 มก./ล. การที่แบคทีเรียสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีสีย้อมปนเปื้อนในปริมาณสูง นับเป็นข้อดีในการนำเชื้อนี้ไปใช้งานในพื้นที่จริง สอดคล้องกับรายงานวิจัยอื่น ๆ ที่คัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียย่อยสลายสีย้อมโดยใช้เกณฑ์ดังกล่าว เช่น Rajee and Jamila (2012) ที่คัดเลือก *Pseudomonas aeruginosa* จากความสามารถในการเจริญบนอาหารแข็ง NA ที่เติมสี Anthraquinone Vat Blue 4 ความเข้มข้น 1,000 มก./ล. นอกจากนี้ Rajee and Patterson (2011) ก็ได้คัดเลือก *Micrococcus* sp. สายพันธุ์ DBS1 DBS2 และ DBS3 เนื่องจากสามารถเจริญได้ดีบน NA ที่เติมสี Orange MR ความเข้มข้น 900 มก./ล.

ในงานวิจัยนี้ได้คัดเลือกแบคทีเรียย่อยสลายสีย้อมกกสำหรับใช้ในการทดลองขั้นต่อไป โดยพิจารณาจากความสามารถในการสร้าง EPS เพราะพอลิแซกคาไรด์ที่เชื้อสร้างขึ้นอาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม โดยอาศัยสมบัติในการดูดซับสี (biosorption) ของพอลิแซกคาไรด์ที่แบคทีเรียย่อยสีย้อมสร้างขึ้น ซึ่งทำให้เกิดการรวมกลุ่มเซลล์ในลักษณะก้อนฟลอค (floc) ทำให้ไบโอฟิล์มเกิดความเสถียร และช่วยปกป้องเซลล์ของแบคทีเรียย่อยสีจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่าง ๆ (Casas et al., 2007) สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Kilic และ Donmez (2012) ที่ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสร้าง EPS และประสิทธิภาพในการลดความเข้มสีของ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Ochrobactrum* sp. พบว่าภายใต้สภาวะที่ *Ochrobactrum* sp. มีการสร้าง EPS ได้สูงถึง 404.6 มก./ล. จะสามารถลดความเข้มสีได้ 89.4% ผลการทดสอบความสามารถในการสร้าง EPS ของแบคทีเรียย่อยสลายสีย้อมในรายงานวิจัยนี้พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท A1 และ A8 สามารถสร้างพอลิแซกคาไรด์ได้สูงสุด (~80%) อีกทั้งแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์นี้ยังสามารถทนต่อสีย้อมที่ความเข้มข้นสูงถึง 1,000 มก./ล. ได้ ดังนั้นจึงคัดเลือกแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ไปใช้ในการทดสอบขั้นต่อไป และสามารถจัดจำแนกชนิดในระดับจีนัสได้เป็น *Serratia* sp. A1 และ *Klebsiella* sp. A8 ซึ่งมีหลายรายงานวิจัยที่จัดชนิดของแบคทีเรียทั้งสองจีนัสนี้ในกลุ่มเชื้อย่อยสลายสีย้อม

ที่ใช้สำหรับอุตสาหกรรมสิ่งทอ (Syed et al., 2009; Gondaliya and Parikh, 2012; Chengalroyen and Dabbs, 2013)

การทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายสีย้อมกกสีแดง ที่ความเข้มข้น 100 มก./ล. ของ *Serratia* sp. A1 และ *Klebsiella* sp. A8 พบว่า *Serratia* sp. A1 สามารถย่อยสีย้อมได้ 11.56% ในอาหารเหลว MS ภายหลังการบ่มนาน 4 วัน ซึ่งมีค่าสูงกว่า *Klebsiella* sp. A8 ดังนั้นจึงคัดเลือกเฉพาะ *Serratia* sp. A1 ไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป ซึ่งในรายงานวิจัยอื่น ๆ ก็พบด้วยว่า *Serratia* sp. สามารถย่อยสลายสารเคมีได้หลายชนิด เช่น น้ำมันหล่อลื่น น้ำมันดิบ สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มฟอสเฟต เพนตะคลอโรฟีนอล (pentachlorophenol) ดีดีที (DDT) และสีสังเคราะห์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ (Bidlan and Manonmani, 2002; Singh et al., 2009; Wu et al., 2012; Cycon et al., 2013;) ผลทดสอบการย่อยสลายของสีย้อมกกสีเหลือง และสีผสมในงานวิจัยนี้พบว่า *Serratia* sp. A1 ย่อยสีได้ 10.84 และ 12.16% ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ในที่ชั่วโมงที่ 0 เชื้อ A1 ลดความเข้มสีย้อมได้ประมาณ 3-4% (รูปที่ 2 และ 3) ซึ่งน่าจะเป็นกลไกการดูดซับสีโดยพอลิแซ็กคาไรด์ที่เชื้อนี้สร้างขึ้น เมื่อสีถูกดูดซับสีเข้าสู่เซลล์ จึงทำให้ความเข้มสีลดลงไประดับหนึ่ง ซึ่งตรงกับรายงานของ Zhang et al. ในปี 2009 ที่พบว่า EPS ที่สร้างจาก *Proteus mirabilis* TJ-1 สามารถดูดซับสีย้อม basic blue 54 ที่ความเข้มข้น 50-400 มก./ล. ได้อย่างรวดเร็วภายใน 3 นาที และถึงจุดสมดุลย์ภายใน 5 นาที Zhang et al. รายงานในปี 2009 ถึงการใช้ EPS ที่ผลิตโดย *Proteus mirabilis* TJ-1 ในการดูดซับสีได้สูงสุดเท่ากับ 2.005 กรัม/กรัม ภายใน 5 นาที นอกจากนี้ยังพบด้วยว่าโคโลนีของเชื้อ A1 มีสีเข้มขึ้นภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง MS ที่เติมสีย้อม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wang et al. (2009) ที่ว่าการดูดซับสีเข้ามาในเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย ทำให้โคโลนีของแบคทีเรียมีสีเข้มขึ้น

จะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพการย่อยสีสังเคราะห์ที่ใช้ในการย้อมกกของ *Serratia* sp. A1 มีค่าค่อนข้างต่ำ ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าในงานวิจัยนี้ใช้อาหาร MS ที่เติมเฉพาะสีย้อม ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มที่มีสารอาหารปริมาณน้อย (minimal medium) จึงไม่สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อได้ เช่นเดียวกับงานวิจัยอื่นๆ ที่เพาะเลี้ยงเชื้อย่อยสีใน minimal medium แล้วทำให้เกิดการลดความเข้มสีในปริมาณต่ำ เช่น Rajee and Patterson (2011) เพาะเลี้ยง *Micrococcus* sp. DBS 2 ในอาหาร Mineral Salt ที่เติมสี Orange MR ภายหลังการบ่มเชื้อ 10-15 วัน พบว่าเชื้อนี้ลดความเข้มสีได้เพียง 15.42 11.21 และ 6.57 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเติมสีความเข้มข้น 100 200 และ 300 มก./ล. ตามลำดับ Chanthamalee (2012) รายงานว่ากลุ่มเชื้อผสมที่ประกอบด้วยแบคทีเรียทะเล 4 สายพันธุ์ ซึ่งเพาะเลี้ยงใน nutrient seawater ที่เติมเฉพาะสีย้อมกกสีแดง (100 มก./ล.) เป็นแหล่งคาร์บอนหลัก ก็มีประสิทธิภาพต่ำ (11%) ในการลดความเข้มของสี ภายหลังการเพาะเลี้ยง 2 วัน นอกจากนี้ Saraswathi and Balakumar (2009) ได้รายงานในทำนองเดียวกันว่า *Bacillus firmus* และ *Bacillus laterosporus* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ซึ่งเติมเฉพาะสีแอโซ pigmented red 208 (HF2B) ความเข้มข้น 100 มก./ล. ก็มีประสิทธิภาพการลดความเข้มสีย้อมได้เพียง 19.04 และ 9.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ภายหลังการเพาะเลี้ยง 7 วัน

จากผลการวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นถึงความจำเป็นในการเติมแหล่งคาร์บอน หรือแหล่งไนโตรเจน

ชนิดอื่นร่วมกับสีย้อม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลาย หรือลดความเข้มสีของแบคทีเรีย โดย Saraswathi and Balakumar (2009) พบว่าการเติมกลูโคส (10 กรัม/ล.) สามารถเพิ่มการย่อยสลายสี HF28 100 มก/ล. ในอาหารเหลว MS โดย *Bacillus firmus* และ *Bacillus laterosporus* ได้ 70.9 และ 82.4% ตามลำดับ และการเติมสารสกัดจากยีสต์ (10 กรัม/ล.) สามารถเพิ่มการย่อยสลายสี HF28 100 มก/ล. ในอาหารเหลว MS โดย *Bacillus firmus* และ *Bacillus laterosporus* 88.6 และ 90.9% ตามลำดับ รวมทั้งลดระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยสีจาก 7 เป็น 4 วัน Rajee and Patterson (2011) พบว่าการเพาะเลี้ยง *Micrococcus* sp. DBS 2 ในอาหาร mineral salt ที่เติมกลูโคสปริมาณน้อย (1 กรัม/ล.) และเติมสี orange MR 100 มก./ล. พบว่าเชื้อนี้ย่อยสีได้เพียง 15% แต่ถ้าเพิ่มปริมาณกลูโคสให้มากขึ้น (10 กรัม/ล.) แบคทีเรียสายพันธุ์นี้จะเพิ่มเปอร์เซ็นต์การย่อยสารสีเป็น 78% การเติมกลูโคสซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่ใช้งานง่ายในปริมาณที่เหมาะสม จะมีผลให้แบคทีเรียย่อยสีเจริญได้ระดับหนึ่ง จึงเกิดการสร้างเอนไซม์ย่อยสีที่มีลักษณะเป็น aromatic ring ให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง อีกทั้งในงานวิจัยนี้บ่มเชื้อในสภาวะที่มีอากาศ จึงอาจทำให้การย่อยสารสีของ *Serratia* sp. A1 เกิดได้ยากยิ่งขึ้น เพราะออกซิเจนจะเป็นตัวรับอิเล็กตรอนที่ดีกว่าหมู่แอโซในโมเลกุลของสีย้อม แต่ถ้าเป็นการบ่มเชื้อในสภาวะที่มีออกซิเจนปริมาณน้อย อิเล็กตรอนจะไปทำให้พันธะแอโซแตกออก ทำให้ความเข้มสารสีลดลง (Wang et al., 2009)

ผลจากรายงานวิจัยนี้พบว่าการเติมเซลล์ของ *Serratia* sp. A1 เพื่อบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนสีย้อมกกที่เก็บจากพื้นที่จริง เชื้อ A1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสีย้อมได้สูงกว่าจุลินทรีย์ประจำถิ่นในน้ำเสีย ซึ่งเชื้อนี้ลดปริมาณสีย้อมได้ 12% ภายหลังการบ่ม 4 วัน (รูปที่ 4) สอดคล้องกับ Leena and Selva Raj (2008) ที่รายงานว่า *Kluyvera ascorbata* สามารถลดความเข้มสี Reactive Black-B ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียได้ 19.76% ภายหลังการบ่ม 10 วัน ในการทดลองนี้มีสภาวะที่ใช้ในการทดลองมีใกล้เคียงกับพื้นที่ปนเปื้อนจริง แสดงว่ามีความเป็นไปได้ในการใช้เชื้อนี้ในการบำบัดสีย้อมที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย

สรุปว่างานวิจัยนี้ได้คัดแยก และคัดเลือกแบคทีเรียลดความเข้มสีย้อมกก จากพื้นที่ทอเสื่อของจังหวัดจันทบุรี ได้ *Serratia* sp. A1 ที่สามารถลดความเข้มสีย้อมกกสีแดง สีเหลือง และสีผสม ซึ่งใกล้เคียงกับการนำไปใช้งานในพื้นที่จริง นับเป็นรายงานวิจัยแรกที่ทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพของน้ำทิ้งปนเปื้อนสีย้อมกกในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี อย่างไรก็ตามยังมีความจำเป็นที่จะต้องพัฒนางานวิจัยนี้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการลดความเข้มสีย้อมกกของแบคทีเรียสายพันธุ์นี้โดยวิธีต่าง ๆ เช่น การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อหรือการทำงานของเอนไซม์ย่อยสี และการพัฒนาในรูปของเซลล์ตรึง เพื่อให้มีความเป็นไปได้ในการนำแบคทีเรียชนิดนี้ไปประยุกต์ใช้เพื่อการบำบัดน้ำเสียในอุตสาหกรรมสิ่งทอได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

วีรานุช หลาง ธนสิริ มีชัย และวิชชุพร จันทร์ศรี. (2008). ความสามารถในการกำจัดสีย้อมผ้าประเภทรีแอกทีฟของ *Burkholderia glumae*. Environment and Natural Resources Journal 6: 66-81.

Bidlan, R. and Manonmani, H.K. (2002). Aerobic degradation of DDT by *Serratia marcescens* DT-1P. Process Biochemistry 38: 49-56.

Casas, N., Blanquez, P., Gabarraell, X., Vicent, T., Caminal, G. and Sara, M. (2007). Degradation of

Orange G by laccase: fungal versus enzymatic process. Environmental Technology 28: 1103-1110.

Chanthamalee, J. (2012). Bio-decolourization of reactive textile dyes by microbial consortium. In: International Conference on Green Biotechnology: Renewable Energy and Global Care. The 24th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology, Ubon Ratchathani, Thailand 29-30 November 2012. 38-42.

Chengalroyen, M. D. and Dabbs, E. R. (2013). The microbial degradation of azo dyes: minireview. World Journal of Microbiology and Biotechnology 29: 389-399.

Cycon, M., Zmijowska, A., Wojcik, M. and Piotrowska-Seget, Z. (2013). Biodegradation and bioremediation potential of diazinon-degrading *Serratia marcescens* to remove other organophosphorus pesticides from soils. Journal of Environmental Management 117: 7-16.

Ghoreishi, S. M. and Haghighi, R. (2003). Chemical catalytic reaction and biological oxidation for treatment of non-biodegradable textile effluent. Chemical Engineering Journal 93: 163-169.

Gondaliya, N. and Parikh, S. (2012). Decolorization of reactive orange-16 by *Serratia marcescens*. Life Sciences Leaflets 11: 86-96.

Hosokawa, R., Motonori, N., Morikawa, M. and Okuyama, H. (2009). Autochthonous bioaugmentation and its possible application to oil spills. World Journal of Microbiology and Biotechnology 25: 1519–1528.

Kilic, N. K. and Donmez, G. (2012). Remazol Blue removal and EPS production by *Pseudomonas aeruginosa* and *Ochrobactrum* sp. Polish Journal of Environmental Study 21: 123-128.

Lade, H. S., Waghmode, T. R., Kadam, A. A. and Govindwar, S. P. (2012). Enhanced biodegradation and detoxification of disperse azo dye Rubine GFL and textile industry effluent by defined fungal-bacterial consortium. International Biodeterioration and Biodegradation 72: 94-107.

Leena, R. and Selva Raj, D. (2008). Bio-decolourization of textile effluent containing Reactive Black-B by effluent-adapted and non-adapted bacteria. African Journal of Biotechnology 7: 3309-3313.

Mahmood, S., Arashad, M., Khalid, A., Nazli, Z. H. and Mahmood, T. (2011). Isolation and screening of azo dye decolorizing bacterial isolates from dye-contaminated textile wastewater. Soil and Environment 30: 7-12.

Mariappan, C., Gayathri Devi, T. V., Yamuna, R. L., Palaniappan, R. and Selvamohan, T. (2003). Orange-G tolerance, utilization and degradation potentials of native bacterial isolates. Bioscience Biotechnology Research Asia 1: 87-91.

Nawahwi, M. A., Ibrahim, Z. and Yahya, A. (2013). Degradation of the azo dye Reactive Red 195 by *Paenibacillus* spp. R2. Journal of Bioremediation and Biodegradation 4: 174. doi:10.4172/2155-6199.1000174

Nilsson, A., Moller, B., Mattiasson, M. S. T., Rubindamayugi, M. S. T. and Welander, U. (2006). Decolorization of synthetic and real textile wastewater by the use of white-rot fungi. Enzyme and Microbial Technology 38: 94–100.

Obuekwe, C. O. and Al-Muttawa, E. M. (2001). Self-immobilized bacterial cultures with potential for application as ready-to-use seeds for

petroleum bioremediation. Biotechnology Letters 23: 1025-1032.

Rajee, O. and Jamila, P. (2012). Biodegradation of textile dye Anthrapuinone Vat Blue 4 by *Pseudomonas aeruginosa*. International Journal of Advanced Biotechnology and Research 3: 743-751.

Rajee, O. and Patterson, J. (2011). Decolorization of azo dye (Orange MR) by and autochthonous bacterium, *Micrococcus* sp. DBS 2. Indian Journal of Microbiology 51: 159-163.

Saraswathi. K and Balakumar, S. (2009). Biodecolourization of azo dye (pigmented red 208) using *Bacillus firmus* and *Bacillus laterosporus*. Journal of Biological Science & Technology 1: 1-7.

Saratale, R. G., Saratale, G. D., Chang, J. S. and Govindwar, S. P. (2009). Ecofriendly decolorization and degradation of Reactive Green 19A using *Micrococcus glutamicus* NCIM-2168. Bioresource Technology 72: 289-302.

Saratale, R. G., Gandhi, S. S., Purankar, M. V., Kurade, M. B., Govindwar, S. P., Oh, S. E. and Saratale, G. D. (2012). Decolorization and detoxification of sulfonated azo dye C.I. Remazol Red and textile effluent by isolated *Lysinibacillus* sp. RGS. Journal of Bioscience and Bioengineering 115: 658-667.

Singh, S., Singh, B. B., Chandra, R., Podel, D. K. and Rai, V. (2009). Remove from marked records synergistic biodegradation of pentachlorophenol by *Bacillus cereus* (DQ002384), *Serratia marcescens* (AY927692) and *Serratia marcescens* (DQ002385). World Journal of Microbiology and Biotechnology 25: 1821-1828.

Syed, M. A., Sim, H. K., Khalid, A. and Shukor, M. Y. (2009). A simple method to screen for azo-dye-degrading bacteria. Journal of Environmental Biology 30: 89-92.

Wang, H., Su, J. Q., Zheng, X. W., Tian, Y., Xiong, X. J. and Zheng, T. L. (2009). Bacterial decolorization and degradation of the reactive dye Reactive Red 180 by *Citrobacter* sp. CK3. International Biodeterioration & Biodegradation 63: 395-399.

Wu, T., Xie, W. J., Yi, Y. L., Li, X. B., Yang, H. J. and Wang, J. (2012). Surface activity of salt-tolerant *Serratia* spp. and crude oil biodegradation in saline soil. Plant, Soil and Environment 58: 412-416.

Zhang, Z., Xia, S., Wang, X., Yang, A., Xu, B., Chen, L., Zhu, Z., Zhoa, J., Jaffrezic-Renault, N. and Leonard, D. (2009). A novel biosorbent for dye removal: extracellular polymeric substance (EPS) of *Proteus mirabilis* TJ-1. Journal of Hazardous Materials 163: 279–284.

Zhou, Z., Shen, B., Meng, F., Liu, S., and Zhang, Y. (2010). Coagulation enhancement of exopolysaccharide secreted by an Antarctic sea-ice bacterium on dye wastewater. Separation and Purification Technology 76: 212-221.

❑❑❑❑❑