



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ บทบาทของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการกำจัด

สีย้อมอะโซในถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศ

โดย อ.ดร.เบญจพร สุวรรณศิลป์

15 มิถุนายน 2556

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5480154

ชื่อโครงการ: บทบาทของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการกำจัดสีย้อมอะโซในถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศ

ชื่อนักวิจัย: อ.ดร.เบญจพร สุวรรณศิลป์ ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address: benjaporn.bo@chula.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาผลของซัลเฟตในการกำจัดสีย้อมอะโซโดยกระบวนการทางชีวภาพในถังปฏิกรณ์แบบแผ่นกั้นไร้อากาศ โดยใช้สีเอซิดเรด 18 (Acid Red 18) เป็นตัวอย่างสีย้อมอะโซ ถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศที่ไม่มีการเติมซัลเฟตมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมเป็น $76.7 \pm 5.14\%$ ซึ่งน้อยกว่าประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมในถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศที่มีการเติมซัลเฟตในสัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 4 และ 0.6 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมเท่ากับ $89.4 \pm 3.62\%$ และ $89.9 \pm 5.50\%$ ตามลำดับ กลไกหลักในการกำจัดสีย้อมอะโซในถังปฏิกรณ์แบบแผ่นกั้นไร้อากาศที่ไม่มีการเติมซัลเฟตและมีการเติมซัลเฟตด้วยสัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 4 คือกลไกทางชีวภาพซึ่งต้องการเซลล์จุลชีพ ในขณะที่การกำจัดสีย้อมอะโซในถังปฏิกรณ์แบบแผ่นกั้นไร้อากาศที่มีการเติมซัลเฟตที่สัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 0.6 พบว่ากลไกภายนอกเซลล์มีบทบาทสำคัญในการกำจัดสีย้อมอะโซ

คำหลัก: การกำจัดสี, สีย้อมอะโซ, ถังปฏิกรณ์แบบแผ่นกั้นไร้อากาศ, ซัลเฟต

Abstract

Project Code: MRG5480154

Project Title: The role of sulfate-reducing bacteria in decolorization of azo dye in anaerobic baffled reactors

Investigator : Dr.Benjaporn Suwannasilp, Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University

E-mail Address: benjaporn.bo@chula.ac.th

Project Period : 2 years

This study investigates the effects of sulfate on biological azo dye decolorization in anaerobic baffled reactors (ABR) using Acid Red 18 as a model azo dye. The ABR with no sulfate added had a decolorization efficiency of $76.7 \pm 5.14\%$, which was significantly less than the decolorization efficiencies of the ABRs supplemented with sulfate at the COD:sulfate ratios of 4 and 0.6, which were $89.4 \pm 3.62\%$ and $89.9 \pm 5.50\%$, respectively. The primary decolorization mechanisms in the ABR with no sulfate added and the ABR with the COD:sulfate ratio of 4 were biological and required the presence of cells. In contrast, the azo dye decolorization in the ABR with the COD:sulfate ratio of 0.6 appeared to occur primarily via extracellular mechanisms.

Keywords : Decolorization, Azo dye, Anaerobic Baffled Reactor, Sulfate

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

อุตสาหกรรมสิ่งทอและเครื่องนุ่งห่มเป็นอุตสาหกรรมหนึ่งที่มีความสำคัญต่อระบบเศรษฐกิจของประเทศไทย ปัญหาสิ่งแวดล้อมที่สำคัญจากกระบวนการผลิตโดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการฟอกย้อม ได้แก่ ปัญหาน้ำเสียซึ่งปนเปื้อนด้วยสีย้อม สีย้อมที่มีอยู่ในแหล่งน้ำในปริมาณเล็กน้อยเพียง 0.1-1.0 มก./ล. สามารถทำให้น้ำมีสีเป็นที่พึงรังเกียจของผู้พบเห็นและมีผลต่อการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำซึ่งสามารถส่งผลให้สมดุลของระบบนิเวศเปลี่ยนแปลงได้ (Bell และ Buckley, 2003) ดังนั้นการกำจัดสีของน้ำเสียจากกระบวนการฟอกย้อมก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำจึงมีความสำคัญอย่างมาก

เทคโนโลยีการกำจัดสีในปัจจุบันแบ่งได้เป็น 3 แนวทาง คือ 1) กระบวนการทางกายภาพ เช่น การกรองด้วยแผ่นเมมเบรน และกระบวนการดูดซับ 2) กระบวนการทางเคมี เช่น การใช้กระบวนการออกซิเดชัน และ 3) กระบวนการทางชีวภาพ เช่น การกำจัดสีย้อมโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศ ซึ่งกระบวนการทางกายภาพและเคมีนั้นมีข้อเด่นคือประสิทธิภาพในการบำบัดสูงและใช้พื้นที่น้อย อย่างไรก็ตามกระบวนการทางกายภาพและเคมีมักจะมีค่าใช้จ่ายในการบำบัดที่สูงมาก ขณะที่กระบวนการทางชีวภาพให้ผลที่ดีในการกำจัดสีด้วยค่าใช้จ่ายที่ต่ำกว่าจึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการนำมาบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนด้วยสีย้อม อย่างไรก็ตามระบบการกำจัดสีย้อมด้วยกระบวนการทางชีวภาพมักจะไม่เสถียรภาพเท่าระบบบำบัดทางกายภาพและเคมี จึงยังต้องการการพัฒนาปรับปรุงก่อนจะนำไปใช้ได้อย่างน่าเชื่อถือในภาคอุตสาหกรรม

สีย้อมอะโซ (Azo dye) เป็นสีย้อมชนิดหนึ่งซึ่งประกอบด้วยพันธะอะโซ ($N=N$) กลไกในการกำจัดสีย้อมชนิดนี้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศเกิดขึ้นได้โดยโมเลกุลของสีย้อมจะทำหน้าที่เป็นสารรับอิเล็กตรอน (electron acceptor) และเกิดกระบวนการอะโซรีดักชัน (Azo reduction) ทำให้พันธะคู่ของไนโตรเจนภายในกลุ่มอะตอมที่ทำให้เกิดสีถูกสลายออกจากกันเพื่อรับอิเล็กตรอนที่มากับอะตอมไฮโดรเจน ได้เป็นสารประกอบอะโรมาติกเอมีน ($R-NH_2$) (Pandey และคณะ, 2007) ซึ่งสามารถย่อยสลายต่อเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และแอมโมเนียภายใต้สภาวะมีอากาศได้ (Van Der Zee และ Villaverde, 2005)

งานวิจัยที่ผ่านมาได้ศึกษาพบว่ากระบวนการอะโซรีดักชันสามารถเกิดขึ้นได้ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศ (Anaerobic bioreactors) (Bell และคณะ, 2000; Plumb และคณะ, 2001; Dos Santos และคณะ, 2007; Chinwetkitvanich และคณะ, 2000; Libra และคณะ, 2004) โดยทั่วไปแล้วภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศจะมีการ

อยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์หลายกลุ่ม เช่น แบคทีเรียสร้างกรด จุลินทรีย์สร้างมีเทน และ แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต โดยชนิดและจำนวนประชากรของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบมักขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น พีเอช อุณหภูมิ และความเข้มข้นของซัลเฟต เป็นต้น ภายใต้สภาวะความเข้มข้นซัลเฟตที่แตกต่างกัน ชนิดและจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในระบบย่อมมีแนวโน้มที่จะแตกต่างกัน โดยสภาวะที่มีความเข้มข้นของซัลเฟตสูง (อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตต่ำ) แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีแนวโน้มที่จะสามารถแข่งขันชนะและเจริญเติบโตได้ดีกว่าจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทน แต่ในทางกลับกันจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนมีแนวโน้มที่จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของซัลเฟตต่ำ (อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตสูง) (Velasco และคณะ, 2008; Wang และคณะ, 2008; Ren และคณะ, 2007; Lopes และคณะ, 2007; Reilly และ Collieran, 2006)

นิเวศวิทยาจุลชีพที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากผลของซัลเฟตนี้อาจส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมได้ อย่างไรก็ตามจนถึงปัจจุบันงานวิจัยที่ทำการศึกษาและรายงานผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการกำจัดสีย้อมอะโซภายใต้สภาวะไร้อากาศที่มีความเข้มข้นของซัลเฟตที่แตกต่างกันยังมีอยู่อย่างจำกัดและยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน งานวิจัยนี้จึงสนใจทำการศึกษากำจัดสีย้อมชนิดอะโซในขั้นตอนอะโรบิกด้วยกระบวนการทางชีวภาพ ภายใต้สภาวะไร้อากาศที่มีความเข้มข้นซัลเฟตที่แตกต่างกัน เพื่อประเมินบทบาทของกลุ่มแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตที่มีต่อประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อม โดยศึกษาและอธิบายรูปแบบของกระบวนการทางชีวภาพที่เกิดขึ้น การเปลี่ยนแปลงและความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ โดยเลือกใช้ถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศแบบสี่ห้อง (4-compartment anaerobic baffled reactor) เนื่องจากถังปฏิกรณ์ชนิดนี้มีการแบ่งถังออกเป็นสัดส่วน ทำให้กระบวนการต่างๆ เกิดขึ้นในลักษณะแบบแยกขั้นตอนมากขึ้น ซึ่งมีผลดีในแง่ที่เอื้อต่อการศึกษาระบบทางจุลชีววิทยาที่มีผลต่อกระบวนการรีดักชัน นอกจากนี้ถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศยังมีข้อดี เช่น การเพิ่มพื้นที่สัมผัสระหว่างตะกอนกับน้ำเสีย เพิ่มระยะเวลาการเก็บกักตะกอนจุลินทรีย์ในระบบและค่าใช้จ่ายในการก่อสร้างและเดินระบบไม่สูง อาจเหมาะสมแก่การนำไปประยุกต์ใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมต่อไป

นอกจากนี้งานวิจัยนี้จะทำการศึกษากลไกและบทบาทของจุลินทรีย์ในการกำจัดสีย้อมอะโซ ผลงานวิจัยทั้งหมดที่ได้จะช่วยเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับกระบวนการกำจัดสีย้อมภายใต้สภาวะไร้อากาศ ความเข้าใจที่ได้รับจากงานวิจัยนี้จะสามารถช่วยพัฒนาแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการกำจัดสีย้อมภายใต้สภาวะไร้อากาศได้ต่อไปในอนาคต

2. ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สีย้อมอะโซ (Azo dye) เป็นสีย้อมที่ผลิตมากที่สุดคือราว 70% โดยน้ำหนักของสีย้อมทั้งหมดที่มีการผลิตขึ้นทั่วโลก (Dos Santos และคณะ, 2007) ด้วยลักษณะเฉพาะที่ย่อยสลายได้ยาก จึงก่อให้เกิดปัญหาน้ำทิ้งที่มีการปนเปื้อนของสีย้อมชนิดนี้ เนื่องจากการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนด้วยสีย้อมโดยใช้กระบวนการทางกายภาพและเคมีมักจะมีค่าใช้จ่ายที่สูง ทำให้กระบวนการกำจัดทางชีวภาพแบบไร้อากาศซึ่งมีค่าใช้จ่ายต่ำกว่าได้รับความสนใจมากขึ้น โดยโครงสร้างทางเคมีโดยทั่วไปของสีย้อมชนิดอะโซจะประกอบด้วยกลุ่มอะตอมโครโมฟอร์ (Chromophores) ที่ประกอบด้วยหมู่ $-N=N-$ เกาะกับวงแหวนอะโรมาติกซึ่งเป็นส่วนแสดงสี และกลุ่มอะตอมออกโซโครม (Auxochromes) เช่น $-OH$, $-NH_2$ ซึ่งเป็นส่วนที่ทำปฏิกิริยายึดติดกับเส้นใยได้ (Stolz, 2001) การกำจัดสีย้อมอะโซภายใต้สภาวะไร้อากาศโดยทั่วไปโมเลกุลของสีย้อมจะทำหน้าที่เป็นสารรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย (Terminal electron acceptor) และเกิดกระบวนการอะโซรีดักชัน ทำให้พันธะคู่ของไนโตรเจนถูกสลายออกจากกันเพื่อรับอิเล็กตรอนที่มากับอะตอมไฮโดรเจนได้เป็นสารประกอบอะโรมาติกเอมีน ($R-NH_2$) (Pandey และคณะ, 2007) ซึ่งสามารถย่อยสลายต่อเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และแอมโมเนียภายใต้สภาวะมีอากาศได้ (Van Der Zee และ Villaverde, 2005)

กระบวนการอะโซรีดักชันสามารถเกิดได้ภายใต้สภาวะไร้อากาศด้วยการทำงานของจุลินทรีย์หลายกลุ่ม โดยมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับศึกษาการกำจัดสีย้อมโดยอาศัยกระบวนการทางชีวภาพของจุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์ (Pure cultures) (Pearce และคณะ, 2003; Forgacs และคณะ, 2004) อย่างไรก็ตามในกระบวนการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมโดยทั่วไปมักจะใช้ระบบบำบัดน้ำเสียซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์หลากหลายชนิดซึ่งทำงานร่วมกันนิเวศวิทยาของจุลชีพ หรือ ชนิดของกลุ่มจุลินทรีย์ในระบบจึงมีความสำคัญอย่างมากต่อการบำบัดสีย้อม จากงานวิจัยของ Plumb และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของกลุ่มจุลินทรีย์ในตะกอนจากถังไร้อากาศของระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมฟอกย้อมด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) พบว่า กลุ่มประชากรหลักที่ตรวจพบคือแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตส่วนกลุ่มจุลินทรีย์สร้างมีเทนที่พบ ได้แก่ *Methanosaeta* sp. และ *Methanomethylovorans hollandica* ซึ่งเป็นสายพันธุ์เด่น และจากการศึกษาของ Libra และคณะ (2004) ซึ่งศึกษาการบำบัดสีย้อมด้วยกระบวนการทางชีวภาพแบบ 2 ขั้นตอน ได้รายงานถึงค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นซัลเฟตที่ลดลงในการทดลองช่วงสภาวะไร้อากาศว่าสัมพันธ์กับการปรากฏของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในระบบและก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ซึ่งเป็นก๊าซผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

ในด้านบทบาทของกลุ่มจุลินทรีย์ต่อการบำบัดสีย้อมนั้น Yoo และคณะ (2001) ได้ศึกษา กลไกการกำจัดสีย้อมอะโซ C.I. Reactive Orange 96 โดยดำเนินการทดลองแบบแบทช์ ประกอบด้วยชุดการทดลองที่ใส่สารยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต (Molybdate) ชุดการทดลองที่ใส่สารยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์สร้างมีเทน (2-bromoethanesulfonic acid) และชุดการทดลองที่ไม่ใส่สารยับยั้งใดๆ จากผลการทดลองพบว่า ในชุดการทดลองที่ใส่สารยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีประสิทธิภาพการกำจัดสีลดลงอย่างเห็นได้ชัด ขณะที่ชุดการทดลองที่มีสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สร้างมีเทนพบว่า ประสิทธิภาพในการกำจัดสีไม่ได้ลดลงอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งเป็นการยืนยันว่าแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตมีบทบาทสำคัญในการกำจัดสี นอกจากนี้ยังได้รายงานถึงปริมาณซัลไฟด์ที่สร้างโดยแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตว่ามีความสัมพันธ์กับการกำจัดสีอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้ Chinwetkitvanich และคณะ (2000) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการบำบัด น้ำเสียที่มีสีย้อมรีแอคทีฟด้วยกระบวนการไร้อากาศ ดำเนินการทดลองด้วยถังปฏิกรณ์เยื่อเอสบี แบบ 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการสร้างกรดและขั้นตอนการสร้างมีเทน ผลการทดลองพบว่า การเติมแบง์มันช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการลดสีได้ ระบบไร้อากาศเยื่อเอสบีสามารถลดสีในน้ำเสียได้ โดยกลไกการลดสีคาดว่าสีย้อมอะโซทำหน้าที่เป็นสารรับอิเล็กตรอน เพราะระบบสามารถลดสีได้มากขึ้นเมื่อเพิ่มแหล่งคาร์บอนอื่นที่ไม่ใช่สี นอกจากนี้ยังตั้งข้อสังเกตว่า แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตไม่จะมีบทบาทสำคัญในการกำจัดสี แบคทีเรียสร้างกรดน่าจะมีบทบาทในการกำจัดสี และ จุลินทรีย์กลุ่มมีเทนไม่ได้มีบทบาทหลักในการกำจัดสี

ทั้งนี้ Cervantes และคณะได้ทำการศึกษาเมื่อปี 2006 เกี่ยวกับผลของความเข้มข้นซัลเฟตในช่วงกว้าง (0-10 ก./ล.) ที่มีต่อการกำจัดสีย้อม Reactive Orange 14 ผลการทดลองพบว่า กระบวนการซัลเฟตรีดักชันและอะโซรีดักชันเกิดขึ้นพร้อมกันในทุกชุดการทดลอง และการกำจัดสีย้อมด้วยกระบวนการอะโซรีดักชันเกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของซัลเฟตเพิ่มสูงขึ้น แต่ที่ความเข้มข้นซัลเฟต 10 ก./ล. การเกิดขึ้นของทั้งสองกระบวนการลดลง นอกจากนี้ van der Zee และคณะ ได้ทำการศึกษาผลของซัลเฟตต่อการกำจัดสีย้อมอะโซในระบบแบทช์และถึงปฏิกรณ์แบบยูเอสบีพบว่าซัลเฟตช่วยเพิ่มการกำจัดสีย้อมในระบบแบทช์แต่ไม่ส่งผลต่อการกำจัดสีย้อมในถังปฏิกรณ์แบบยูเอสบี

จากงานวิจัยที่ผ่านมาจะเห็นได้ว่ายังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจนเกี่ยวกับผลของซัลเฟตต่อการกำจัดสีย้อมอะโซ โดยเฉพาะในถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่องยังมีงานวิจัยอยู่จำกัดมาก ทั้งนี้ค่าความเข้มข้นของซัลเฟตเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถเป็นตัวกำหนดกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบให้แตกต่างกันไปได้โดยเฉพาะจำนวนประชากรของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟต ซึ่งอาจมีบทบาทสำคัญในการบำบัดสีย้อมได้ จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าศักยภาพของจุลินทรีย์สร้างมีเทนในการ

เอาชนะแบบคทีเรียรีดิวิชั่นัลเฟตจะมีมากขึ้นเมื่ออัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตมีค่าสูงขึ้น ในทางกลับกันแบบคทีเรียรีดิวิชั่นัลเฟตก็มีโอกาสเจริญเติบโตชนะจุลินทรีย์สร้างมีเทนได้มากขึ้นเมื่ออัตราส่วนนี้ลดต่ำลง (Velasco และคณะ, 2008; Wang และคณะ, 2008; Ren และคณะ, 2007; Lopes และคณะ, 2007; Reilly และ Colleran, 2006)

งานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการนำถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศมาใช้ในการบำบัดสีย้อมซึ่งก็สามารถบำบัดได้ด้วยประสิทธิภาพสูง Bell และคณะ (2000) ศึกษาการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนสีย้อมและการกำจัดสีย้อมด้วยถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศแบบ 8 ห้องย่อย ปริมาตร 10 ลิตร เพื่อกำจัดสีย้อมอะโซ Tartrazine ผลการทดลองพบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดสีมากกว่า 95% Bell และ Buckley (2003) ศึกษาการกำจัดสีย้อมอะโซ C.I. Reactive 141 ด้วยถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศแบบ 8 ห้องย่อยพบว่าประสิทธิภาพการกำจัดสีโดยเฉลี่ยเท่ากับ 86% โดยความเข้มข้นสีที่ลดลง 50% เกิดขึ้นใน 2 ห้องแรกภายในถังปฏิกรณ์ ซึ่งผู้ศึกษาได้ให้ข้อเสนอแนะว่าถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศมีความสามารถในการกำจัดสีย้อมที่มีความเข้มข้นสูงได้ดี นอกจากนี้ Naimabadi และคณะ (2009) ได้ศึกษาการกำจัดสีย้อมอะโซ Reactive Red 2 ด้วยกระบวนการบำบัดแบบไร้อากาศสลับกับแบบใช้อากาศ โดยในสภาวะไร้อากาศทำการทดลองด้วยถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศแบบ 5 ห้องย่อย ปริมาตร 16 ลิตร ผลการศึกษาพบว่าในช่วงสภาวะไร้อากาศมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมได้เฉลี่ย 89.5% ถังปฏิกรณ์แบบแผ่นกั้นไร้อากาศจึงนับเป็นระบบบำบัดรูปแบบหนึ่งที่สามารถนำมาใช้บำบัดน้ำเสียซึ่งปนเปื้อนสีย้อมได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ถังปฏิกรณ์แบบแผ่นกั้นไร้อากาศยังมีข้อดีอีกหลายด้าน เช่น การออกแบบสามารถทำได้ง่ายและค่าใช้จ่ายในการก่อสร้างและเดินระบบไม่สูง สามารถกักเก็บตะกอนในระบบหรือป้องกันการหลุดออกได้ดี ทำให้มีเวลาการกักเก็บตะกอนจุลินทรีย์มาก (SRT สูง) โดยไม่จำเป็นต้องมีตัวกลางหรือห้องตกตะกอน สามารถคงทนต่อสภาวะ Hydraulic shock load และ Organic shock load ได้ดี รวมถึงการรับน้ำเสียที่มีความเป็นพิษได้ (Barber และ Stuckey, 1999) นอกจากนี้ข้อดีที่สำคัญอีกประการหนึ่งของถังปฏิกรณ์แบบแผ่นกั้นไร้อากาศที่เหมาะสมกับงานวิจัยนี้ คือ เป็นระบบบำบัดที่สามารถแยกจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ ออกจากกันได้ในระดับหนึ่ง เนื่องจากลักษณะภายในของระบบที่มีการแบ่งเป็นห้องย่อย (Barber และ Stuckey, 1999) จึงอาจสามารถช่วยในการศึกษาบทบาทของจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ ในการบำบัดสีย้อมได้

3. วัตถุประสงค์ของโครงการ

- 1) เพื่อศึกษาบทบาทของจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ โดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการกำจัดสีย้อมอะโซ
- 2) เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นซัลเฟตที่มีต่อประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อมชนิดอะโซภายใต้สภาวะไร้อากาศ
- 3) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อการกำจัดสีย้อมชนิดอะโซภายใต้สภาวะไร้อากาศ

4. วิธีการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองระดับห้องปฏิบัติการ (Laboratory scale) ทำการทดลอง ณ อุณหภูมิห้องที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ด้วยถึงปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศ เพื่อศึกษาบทบาทของแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในการกำจัดสีย้อมชนิดอะโซภายใต้สภาวะไร้อากาศ โดยได้ดำเนินการวิจัยการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ช่วง ดังนี้

การทดลองช่วงที่ 1 เป็นการศึกษาและประเมินประสิทธิภาพการเดินระบบบำบัดทางชีวภาพแบบไร้อากาศด้วยถึงปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศที่ความเข้มข้นซัลเฟตแตกต่างกัน โดยการเริ่มต้นเดินระบบด้วยหัวเชื้อที่ได้จากระบบบำบัดไร้อากาศที่มีสภาวะคงตัวแล้ว ทำการทดลองแบบต่อเนื่อง ใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลทรายเป็นแหล่งอาหารให้กับจุลินทรีย์ในระบบโดยมีสารอาหารและแร่ธาตุต่างๆ ที่จำเป็นอย่างเพียงพอ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดที่มีค่าความเข้มข้นซัลเฟตแตกต่างกันโดยเป็นชุดที่ไม่มีซัลเฟต และชุดมีอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 0.6 และ 4 ตามลำดับ การเลือกอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อกำหนดสภาวะซึ่งเหมาะสมกับกลุ่มจุลินทรีย์ที่ต่างกันซึ่งอาจส่งผลต่อการกำจัดสีย้อมภายใต้สภาวะไร้อากาศ ในชุดการทดลองที่ไม่มีซัลเฟตนั้นกลุ่มจุลินทรีย์ที่คาดว่าจะจะเป็นกลุ่มหลักได้แก่ กลุ่มจุลินทรีย์สร้างมีเทน และกลุ่มจุลินทรีย์สร้างกรด ส่วนค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 0.6 นั้นเป็นที่คาดการณ์ว่าแบคทีเรียกลุ่มรีดิวซ์ซัลเฟตน่าจะเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตกลุ่มหลัก โดยค่าอัตราส่วนนี้ประมาณจากสัดส่วนซึ่งค่าซีโอดีกับซัลเฟตจะสมดุลกันพอดีในการส่งถ่ายอิเล็กตรอนในฐานะที่ซีโอดีทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนและซัลเฟตทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน ซึ่งตามทฤษฎีแล้วค่าดังกล่าวจะมีค่าเท่ากับ 0.67 แต่ในการทดลองนี้เลือกใช้ค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 0.6 เพื่อให้เกิดสภาวะที่ตัวรับอิเล็กตรอนมีมากเกินไป (excess electron acceptor) ส่วนการกำหนดค่า

อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 4 นั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อให้กลุ่มประชากรแบคทีเรียรีดิคัลซัลเฟตและจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนสามารถอยู่ร่วมกันได้ภายใต้สภาวะนี้ โดยค่าอัตราส่วนนี้ ได้มาจากการเทียบเคียงจากค่าอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตในงานวิจัยที่ผ่านมาซึ่งวิเคราะห์ความสามารถในการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียรีดิคัลซัลเฟตและจุลินทรีย์กลุ่มสร้างมีเทนภายใต้อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่แตกต่างกัน (Velasco และคณะ, 2008; Wang และคณะ, 2008; Ren และคณะ, 2007; Lopes และคณะ, 2007; Reilly และ Colleran, 2006) จากนั้นจะทำการศึกษาผลการทดลองและการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นตลอดการทดลองจนระบบเข้าสู่สภาวะคงตัวด้วยการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง ดังรายละเอียดตามแผนภาพรูปที่ 1 โดยมีตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 1 ทั้งนี้ในการทดลองช่วงที่ 1 จะยังไม่มี การเติมสีย้อมอะโซลงในน้ำเสียสังเคราะห์

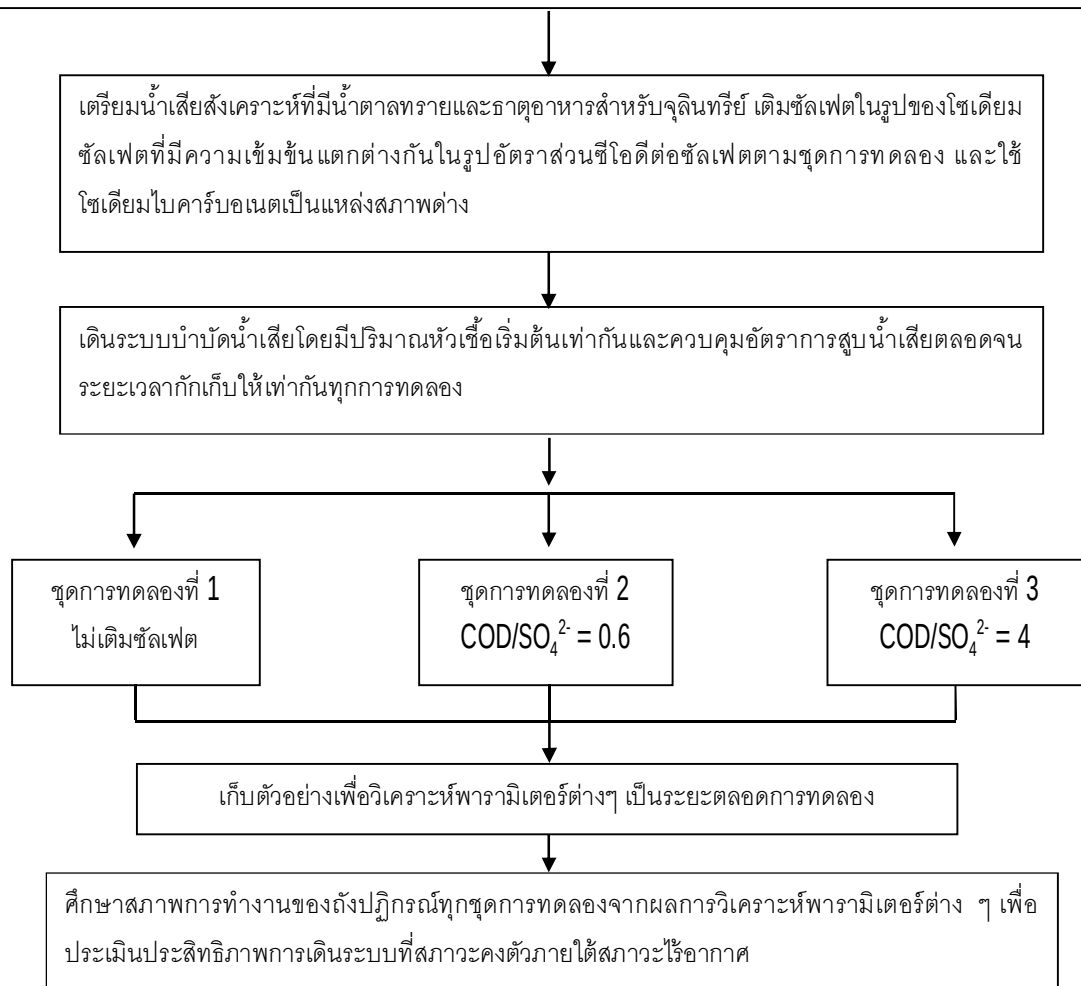
ตารางที่ 1 ตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในการทดลองช่วงที่ 1

ตัวแปรที่กำหนดให้คงที่	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
ค่าความเข้มข้นซีโอดี	500 มก.ซีโอดี/ล.
ชนิดของสารอาหาร (แหล่งคาร์บอน) ที่ใช้	น้ำตาลทราย
ปริมาตรการทำงานของถังปฏิกรณ์	10 ลิตร
ระยะเวลาที่เก็บ	1 วัน
อัตราสูบน้ำเสียสังเคราะห์เข้าสู่ระบบ	10 ลิตรต่อวัน
ตัวแปรอิสระที่ทำการศึกษา	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
สัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต	ไม่เติมซัลเฟต, 0.6 และ 4
พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์ / เครื่องมือวิเคราะห์
ค่าศักยภาพออกซิเดชัน-รีดักชัน	เครื่องวัดค่าศักยภาพออกซิเดชัน-รีดักชัน
พีเอช	เครื่องวัดค่าพีเอช
ซีโอดี ¹	วิธีรีฟลักซ์แบบปิด
สภาพต่างทั้งหมด	วิธีโพเทนชิโอเมตริก
กรดไขมันระเหย (อะซิเตท บิวทิเรท โพรพิโอเนท แล็กเตท)	เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี / วิธีไตเตรท
ปริมาณซัลเฟต	เครื่องไอออนโครมาโตกราฟี

¹ ปรับสภาพน้ำตัวอย่างให้เป็นกรดก่อนการวิเคราะห์

* อ้างอิงมาตรฐานการวิเคราะห์ตาม Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st edition, American Public Health Association.

การทดลองช่วงที่ 1: การศึกษาและประเมินประสิทธิภาพการเดินระบบบำบัดทางชีวภาพแบบไร้อากาศด้วยถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศที่ความเข้มข้นซัลเฟตแตกต่างกัน



รูปที่ 1 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองช่วงที่ 1

การทดลองช่วงที่ 2 เป็นการศึกษาผลของซัลเฟตต่อการกำจัดสีย้อมชนิดอะโซภายใต้สภาวะไร้อากาศ โดยเป็นการเดินระบบที่ต่อเนื่องจากการทดลองช่วงที่ 1 ภายหลังระบบเข้าสู่สภาวะคงตัวแล้ว โดยเพิ่มสีย้อมเป็นตัวแปรคงที่ในน้ำเสียสังเคราะห์ ศึกษาผลการทดลองและการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นด้วยการวิเคราะห์พารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องเพิ่มเติม ในที่นี้คือ ค่าความเข้มข้นจากน้ำเสียที่ผ่านระบบ เปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้รับระหว่างชุดการทดลองและอธิบายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายในชุดการทดลองเดียวกัน ดังรายละเอียดตามแผนภาพรูปที่ 2 และตัวแปรต่างๆ ของการทดลองดังตารางที่ 2 โดยค่าที่ใช้ในการทดลองสำหรับถังปฏิกรณ์เอปียาร์ 3 ชุด แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในการทดลองช่วงที่ 2

ตัวแปรที่กำหนดให้คงที่	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
ค่าความเข้มข้นซีโอดี	500 มก.ซีโอดี/ล.
ชนิดของสารอาหาร (แหล่งคาร์บอน) ที่ใช้	น้ำตาลทราย
ปริมาตรการทำงานของถังปฏิกรณ์	10 ลิตร
ระยะเวลาเก็บ	1 วัน
อัตราสูบน้ำเสียสังเคราะห์เข้าสู่ระบบ	10 ลิตรต่อวัน
ความเข้มข้นสีย้อม	300 มก./ล.
ตัวแปรอิสระที่ทำการศึกษา	ค่าที่ใช้ในการทดลอง
สัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต	ไม่เติมซัลเฟต, 0.6 และ 4
พารามิเตอร์	วิธีการวิเคราะห์ / เครื่องมือวิเคราะห์
ค่าศักย์ออกซิเดชัน-รีดักชัน	เครื่องวัดค่าศักย์ออกซิเดชัน-รีดักชัน
พีเอช	เครื่องวัดค่าพีเอช
ซีโอดี ¹	วิธีรีฟลักซ์แบบปิด
ความเข้มข้นสี	เครื่องวัดการดูดกลืนแสง
สภาพต่างทั้งหมด	วิธีโพเทนชิโอเมตริก
กรดไขมันระเหย (อะซิเตท บิวทิเรท โพรพิโอเนต แล็กเตท)	เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี / วิธีไตเตรท
ปริมาณซัลเฟต	เครื่องไอออนโครมาโตกราฟี

¹ ปรับสภาพน้ำตัวอย่างให้เป็นกรดก่อนการวิเคราะห์

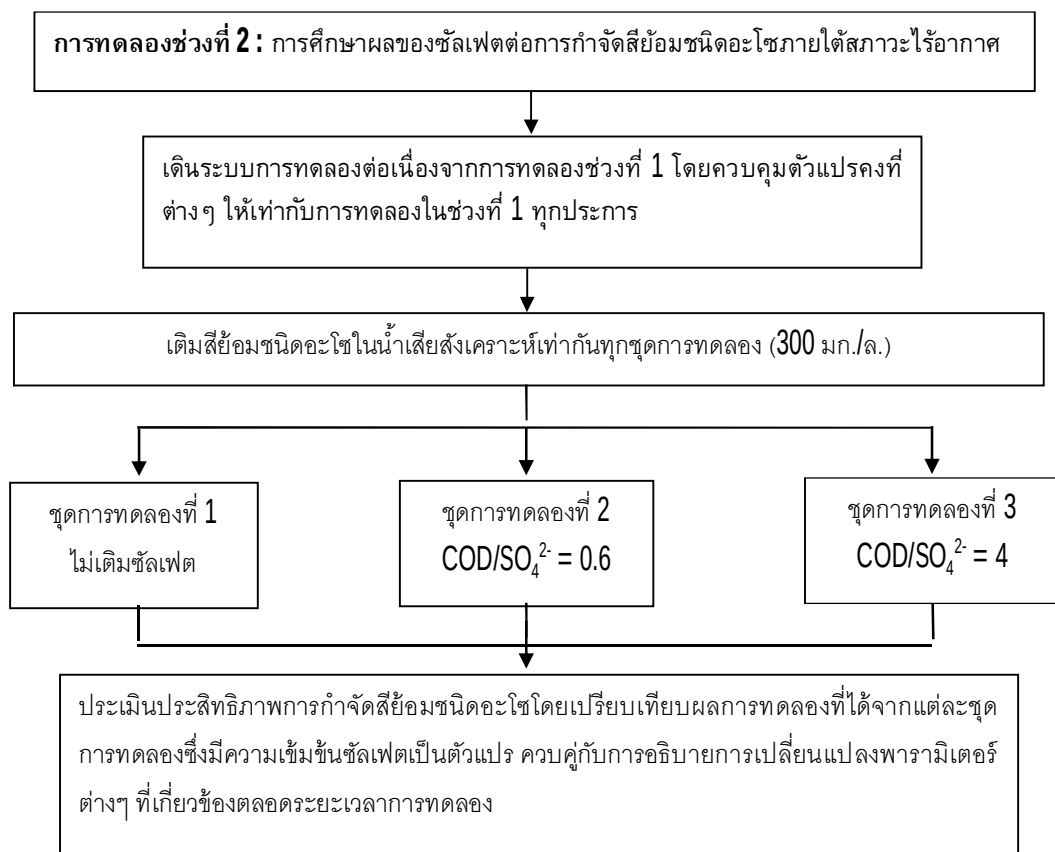
* อ้างอิงมาตรฐานการวิเคราะห์ตาม Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st edition, American Public Health Association.

การเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์

น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำเสียสังเคราะห์ที่เตรียมขึ้นจากน้ำปราศจากไอออน (DI) โดยมีน้ำตาลทราย ($C_{12}H_{22}O_{10}$) ที่เป็นอัตราส่วนกับความเข้มข้นซัลเฟตในรูปซีโอดีต่อซัลเฟต แหล่งซัลเฟตที่ใช้คือโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) โดยเติมให้มีความเข้มข้นของซัลเฟตเป็น 0, 833 และ 125 มก./ล. สำหรับชุดการทดลองที่ 1 - 3 ตามลำดับ เติมน้ำสารอาหารซึ่งส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ซึ่งมีองค์ประกอบดังแสดงในตารางที่ 4 และเติมไบคาร์บอเนตในรูปโซเดียมไบคาร์บอเนต เพื่อเพิ่มสภาพความเป็นด่าง สีย้อมที่เติมมีค่าเท่ากับทุกชุดการทดลอง คือ 300 มก./ล. โดยองค์ประกอบน้ำเสียสังเคราะห์ที่ใช้ในแต่ละชุดการทดลองแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 3 ค่าที่ใช้ในการทดลองสำหรับถังปฏิกรณ์เอปียาร์ 3 ชุด

ถังปฏิกรณ์ ค่าที่ใช้ในการทดลอง	ABR # 1	ABR # 2	ABR # 3
อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต	ไม่เติมซัลเฟต	0.6	4
ค่าความเข้มข้นซีโอดี (มก.ซีโอดี/ล.)	500	500	500
ความเข้มข้นซัลเฟต (มก./ล.)	0	833	125
ชนิดของสารอาหาร	น้ำตาลทราย	น้ำตาลทราย	น้ำตาลทราย
ชนิดสีย้อม	Acid Red 18	Acid Red 18	Acid Red 18
ปริมาณสีย้อม (มก./ล.)	300	300	300
ปริมาตรการทำงานของถังปฏิกรณ์ (ลิตร)	10	10	10
ระยะเวลาพักเก็บ (วัน)	1	1	1
อัตราสูบน้ำเสียสังเคราะห์ (ลิตรต่อวัน)	10	10	10



รูปที่ 2 แผนผังสรุปการดำเนินการทดลองช่วงที่ 2

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของสารอาหารส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

ชนิดธาตุของอาหาร	ปริมาณที่ต้องเติม (มก./ล.)	รูปของสารประกอบที่เติม
Macronutrients		
Nitrogen	323	NH ₄ Cl
Phosphorus	44	NaH ₂ PO ₄
Sulfur	25	MgSO ₄ • 7 H ₂ O
Micronutrients		
Iron	36	FeCl ₂ • 4 H ₂ O
Cobalt	0.06	CoCl ₂ • 2 H ₂ O
Nickel	0.09	NiCl ₂ • 6 H ₂ O
Zinc	0.06	ZnCl ₂
Copper	0.06	CuCl ₂ • 2 H ₂ O
Manganese	0.15	MnCl ₂ • 4 H ₂ O
Selenium	0.18	Na ₂ SeO ₃
Tungsten	0.05	NaWO ₄ • 2 H ₂ O
Boron	0.13	H ₃ BO ₃
Common Cations		
Potassium	763	KCl
Magnesium	987	MgCl ₂

(ที่มา: ดัดแปลงจาก McCarty และ Rittmann, 2001)

ตารางที่ 5 องค์ประกอบน้ำเสียสังเคราะห์สำหรับ 3 ชุดการทดลอง

ส่วนประกอบน้ำเสีย สังเคราะห์	ชุดการทดลองที่ 1	ชุดการทดลองที่ 2	ชุดการทดลองที่ 3
อัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต	ไม่เติมซัลเฟต	0.6	4
น้ำปราศจากไอออน (ลิตร)	1	1	1
น้ำตาลทราย* (มก.)	410	410	410
โซเดียมซัลเฟต (มก.)	0	1,232	185
โซเดียมไบคาร์บอเนต (มก.)	2,520	2,520	2,520
สีย้อมชนิดอะโซ (มก.)	300	300	300

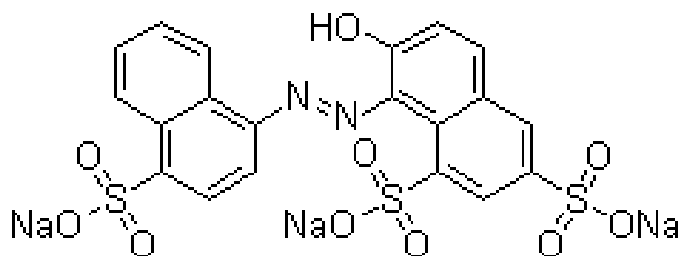
* ค่าซีโอดีน้ำตาลทราย เท่ากับ 1.22 กรัมซีโอดีต่อ 1 กรัม น้ำตาลทราย

สีย้อมที่ใช้ในการทดลอง

การทดลองใช้สีย้อมชนิดโมโนอะโซ (มีพันธะอะโซในโครงสร้างส่วนแสดงสี 1 ตำแหน่ง) โทนสีแดง จัดจำแนกตามการใช้งานอยู่ในประเภทสีย้อมอะโซ ซึ่งมีการใช้งานมากในผลิตภัณฑ์ผ้าใยสังเคราะห์และเส้นใยโปรตีน เช่น ไหม ขนสัตว์ โดยข้อมูลจำเพาะของสีย้อมที่ใช้ในการทดลองแสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ข้อมูลจำเพาะสีย้อมชนิดอะโซที่ใช้ในการทดลอง

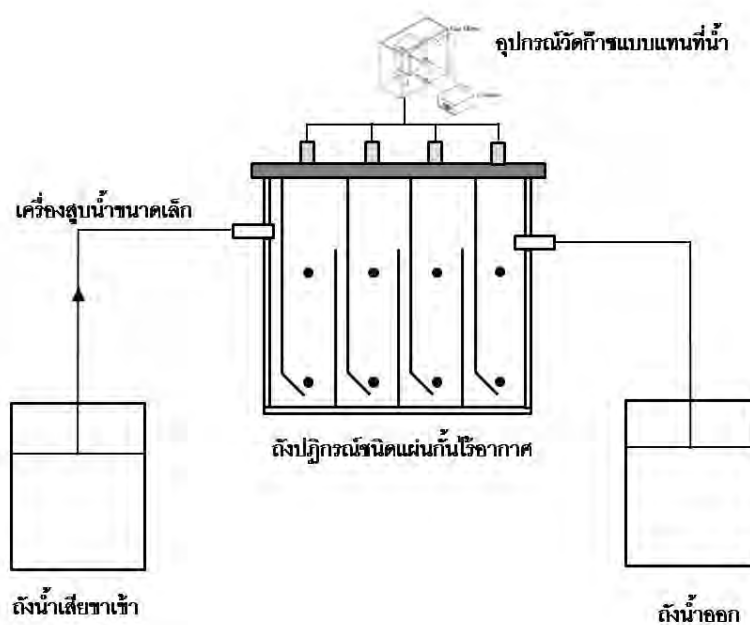
ข้อมูลจำเพาะ	รายละเอียด
Name	Acid Red 18
Synonyms	C.I. 16255; Cochineal Red A; New Coccine; Trisodium 1-(1-naphthylazo)-2-hydroxynaphthalene-4',6,8-trisulphonate
Molecular Formula	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$
Molecular Weight	604.47
CAS Registry Number	2611-82-7
EINECS	220-036-2



รูปที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของสีย้อม Acid Red 18 ที่ใช้ในการทดลอง
ที่มา: Mozia และคณะ, 2005

ถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศ

ถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลองเป็นถังรูปทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าจำนวน 3 ถังที่มีขนาดเท่ากัน มีขนาด $0.3 \times 0.1 \times 0.4$ ม. (สูง X กว้าง X ยาว) ความสูงของน้ำ 0.25 ม. ปริมาตรรวม 12 ลิตร ปริมาตรใช้งาน 10 ลิตร ภายในแบ่งเป็น 4 ห้องย่อยโดยระหว่างห้องจะมีการติดตั้งแผ่นกั้นในแนวลง (Vertical baffles) ซึ่งทำให้ในแต่ละห้องถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่น้ำไหลลงและส่วนที่น้ำไหลขึ้น อัตราส่วนความกว้างของส่วนที่น้ำไหลลงและขึ้นเท่ากับ 1:3 ซึ่งจะช่วยให้เกิดการพักตะกอนได้ดี (Dama และคณะ, 2002) ส่วนปลายของแผ่นกั้นระหว่างส่วนที่น้ำไหลลงเอียงทำมุม 45 องศาับแนวระนาบเพื่อช่วยบังคับทิศทางหลักของน้ำส่วนที่ไหลขึ้นให้อยู่ตรงแนวกลาง เพิ่มการผสมและสัมผัสกันระหว่างน้ำเสียและตะกอนจุลินทรีย์ (Bachmann และคณะ, 1985) บริเวณด้านข้างของถังปฏิกรณ์มีช่องเพื่อให้ น้ำเสียไหลเข้าและออกจากถังปฏิกรณ์ ดังแสดงรายละเอียดในรูปที่ 4



รูปที่ 4 ลักษณะถังปฏิกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

การวิเคราะห์ค่าความเข้มข้น

การวัดสีในงานวิจัยนี้ใช้วิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ max) โดยการนำสี Acid Red 18 ซึ่งทราบความเข้มข้นแน่นอนไปทำการสแกนหาการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่นตั้งแต่ 400 ถึง 700 นาโนเมตร ซึ่งจะทำให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดซึ่งจะเป็นค่าการดูดกลืนแสงเฉพาะของสีตัวนี้ (เป็นชนิดโมโนอะโซจึงมีค่าการดูดกลืนแสง

สูงสุดได้เพียงค่าเดียว) ซึ่งควรจะใกล้เคียงกับค่าการดูดกลืนแสงเฉพาะของสี Acid Red 18 คือที่ 510 นาโนเมตร การวิเคราะห์กระทำโดยนำตัวอย่างไปกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด

การทดลองช่วงที่ 3 เป็นการศึกษากลไกการกำจัดสีย้อมอะโซโดยตะกอนจุลินทรีย์ โดยทำการทดลองในระบบแบทช์ (batch) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ โดยใช้แหล่งตะกอนจุลินทรีย์จากห้องแรกของแต่ละถังปฏิกรณ์มาทดสอบ โดยใช้ปริมาณน้ำตะกอนจุลินทรีย์ 100 มิลลิลิตร ทำการทดสอบแบบแบทช์ในขวดทดลอง (Serum bottle) ปริมาตร 125 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะไร้อากาศ โดยมีการปิดแน่นด้วยจุกยาง (Butyl rubber) และอลูมิเนียมซีล (Aluminium seal) ค่าของแข็งแขวนลอยของน้ำตะกอนจุลินทรีย์จากถังปฏิกรณ์ที่ 1-3 ซึ่งนำมาใช้ในการทดลองมีค่าเท่ากับ 14,750 มก./ล., 21,840 มก./ล., และ 18,590 มก./ล.ตามลำดับ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลองซึ่งใช้ตัวอย่างตะกอนจุลินทรีย์จากถังปฏิกรณ์ที่แตกต่างกัน 3 ถัง ในแต่ละชุดการทดลองจะแบ่งออกเป็นชุดการทดลองย่อยจำนวน 3 ชุดดังนี้ คือ 1) ชุดที่มีเซลล์จุลินทรีย์และไม่มีการกรองน้ำออก; 2) ชุดที่มีการกรองแยกเซลล์จุลินทรีย์ออกโดยใช้เยื่อกรองเมมเบรนขนาดรูพรุน 0.2 ไมครอน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากลไกการกำจัดสีย้อมซึ่งเกิดจากกระบวนการภายนอกเซลล์; 3) ชุดที่มีการเหวี่ยง ล้างตะกอน และผ่านการออโตเคลฟ (Autoclave) เพื่อนำตะกอนที่ไม่มีชีวิตมาทำการศึกษาดูดซับของสีย้อมอะโซในตะกอนจุลินทรีย์ ทำการเปรียบเทียบการกำจัดสีย้อมอะโซในชุดการทดลองต่าง ๆ ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์การกำจัดสีในแต่ละชุดการทดลอง โดยใช้เข็มฉีดยาดูดน้ำตัวอย่างออกจากขวดทดลองและกรองน้ำตัวอย่างผ่านเยื่อเมมเบรนสำหรับหลอดฉีดยา (Syringe filter) ขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) สำหรับสีเอซิดเรด 18 ซึ่งคือที่ 510 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงตามเวลาในแต่ละชุดการทดลอง และแสดงผลเป็นเปอร์เซ็นต์ค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น

5. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ค่าซีโอดีและประสิทธิภาพการบำบัดของระบบ

จากการวิเคราะห์ค่าซีโอดีในการทดลองช่วงที่ 1 พบว่าหลังจากวันที่ 18 ชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าซีโอดีเฉลี่ยจากห้องย่อยสุดท้ายของถังปฏิกรณ์เท่ากับ 53.3 ± 9.46 มก./ล., 84.0 ± 14.1 มก./ล. และ 56.5 ± 9.37 มก./ล. ตามลำดับ โดยค่าซีโอดีเฉลี่ยของน้ำเสียขาเข้าในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ 505 ± 9.79 มก./ล., 507 ± 10.8 มก./ล. และ 510 ± 11.9 มก./ล. ตามลำดับ ซึ่งเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพในการบำบัด

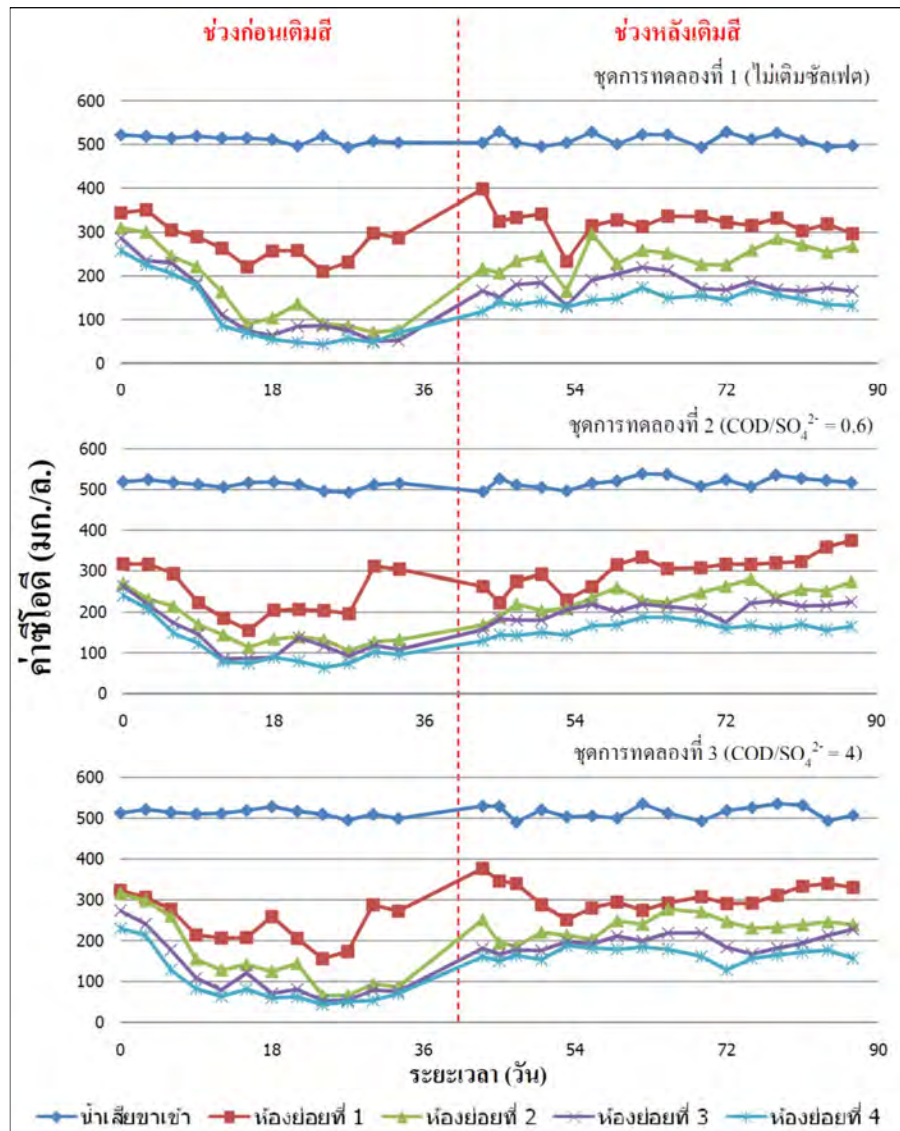
ซีโอดีไม่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีของถังปฏิกรณ์ในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ มีค่า $89.4 \pm 1.94 \%$, $83.5 \pm 2.53 \%$ และ $88.9 \pm 1.85 \%$ ตามลำดับ และหากพิจารณาภายในชุดการทดลองเดียวกันจะพบว่า ห้องย่อยที่ 1 มีประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีสูงที่สุด โดยค่าซีโอดีเฉลี่ยและประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีของ น้ำเสียจากห้องย่อยที่ 1 ของถังปฏิกรณ์ในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ 257 ± 32.9 มก./ล. ($49.0 \pm 6.67 \%$), 238 ± 54.3 มก./ล. ($53.2 \pm 10.2 \%$) และ 226 ± 55.1 มก./ล. ($55.8 \pm 10.7 \%$) ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ค่าซีโอดีในช่วงเดินระบบในการทดลองช่วงที่ 2 ซึ่งมีการเติมสีย้อมอะโซเป็นองค์ประกอบในน้ำเสียสังเคราะห์พบว่า ชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าซีโอดีเฉลี่ยจากห้องย่อยสุดท้ายของถังปฏิกรณ์มีค่าเท่ากับ 145 ± 14.4 มก./ล., 161 ± 16.2 มก./ล. และ 166 ± 15.5 มก./ล. ตามลำดับ โดยค่าซีโอดีเฉลี่ยของน้ำเสียขาเข้าในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ 510 ± 13.5 มก./ล., 518 ± 13.7 มก./ล. และ 515 ± 15.8 มก./ล. ตามลำดับ ซึ่งเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีไม่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีของถังปฏิกรณ์ในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ $71.7 \pm 2.66 \%$, $69.0 \pm 2.70 \%$ และ $67.7 \pm 3.37 \%$ ตามลำดับ และหากพิจารณาภายในชุดการทดลองเดียวกันจะพบว่า ห้องย่อยที่ 1 มีประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีสูงที่สุด โดยค่าซีโอดีเฉลี่ยและประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีของน้ำเสียจากห้องย่อยที่ 1 ของถังปฏิกรณ์ในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ 322 ± 32.9 มก./ล. ($36.9 \pm 6.67 \%$), 301 ± 41.8 มก./ล. ($42.0 \pm 7.58 \%$) และ 515 ± 15.8 มก./ล. ($39.9 \pm 6.48 \%$)

ผลการวิเคราะห์ค่าซีโอดีและประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีตลอดการทดลองพบว่า ประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีของทั้ง 3 ชุดการทดลองไม่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีประสิทธิภาพสูงกว่า 60% สำหรับทุกชุดการทดลอง ห้องย่อยที่ 1 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดซีโอดีเมื่อเปรียบเทียบในชุดการทดลองเดียวกัน อย่างไรก็ตามในช่วงการทดลองที่ 2 ซึ่งมีการเติมสีย้อมอะโซเป็นองค์ประกอบในน้ำเสียสังเคราะห์พบว่า ประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีลดลงจากช่วงแรกซึ่งไม่มีการเติมสีย้อมอะโซ ค่าซีโอดีตลอดการทดลองในชุดการทดลองที่ 1-3 สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 5

ในการทดลองช่วงที่ 2 หลังทำการเติมสีย้อมอะโซพบว่าในทุกชุดการทดลอง ประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีมีค่าลดลงจากการทดลองในช่วงแรกซึ่งยังไม่มีการเติมสีย้อมอะโซ อย่างไรก็ตามค่าประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีหลังการเติมสีย้อมอะโซนี้มีค่าใกล้เคียงค่าที่รายงานจากงานวิจัยที่ผ่านมาซึ่งทำการศึกษากำจัดสีย้อมอะโซโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศ โดยการศึกษาการกำจัดสีย้อมอะโซ Reactive Red 2 ด้วยถังปฏิกรณ์ชนิด

แผ่นกั้นไร้อากาศแบบ 5 ห้องย่อยต่อด้วยระบบเติมอากาศตะกอนเร่งแบบเซลล์ตรึง (Fixed Activated Sludge) ของ Naimabadi และคณะ ในปี 2009 พบว่า ที่ระยะเวลาพักเก็บของน้ำเท่ากับ 1 วัน ถึงปฏิกรณ์แบบแผ่นกั้นไร้อากาศมีประสิทธิภาพในการบำบัดชีโอดีมากกว่า 50 % ซึ่งคล้ายคลึงกับผลการศึกษาของ Bell และคณะ (2000) ที่รายงานว่าประสิทธิภาพในการบำบัดชีโอดีที่ได้จากการทดลองอยู่ในช่วง 50-60 % โดยงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าถึงปฏิกรณ์แบบแผ่นกั้นไร้อากาศสามารถใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมอะโซไดอย่างมีประสิทธิภาพ



รูปที่ 5 ค่าชีโอดีในน้ำเสียขาเข้าและในแต่ละห้องย่อยของทุกชุดการทดลอง

ปริมาณซัลเฟตในระบบ

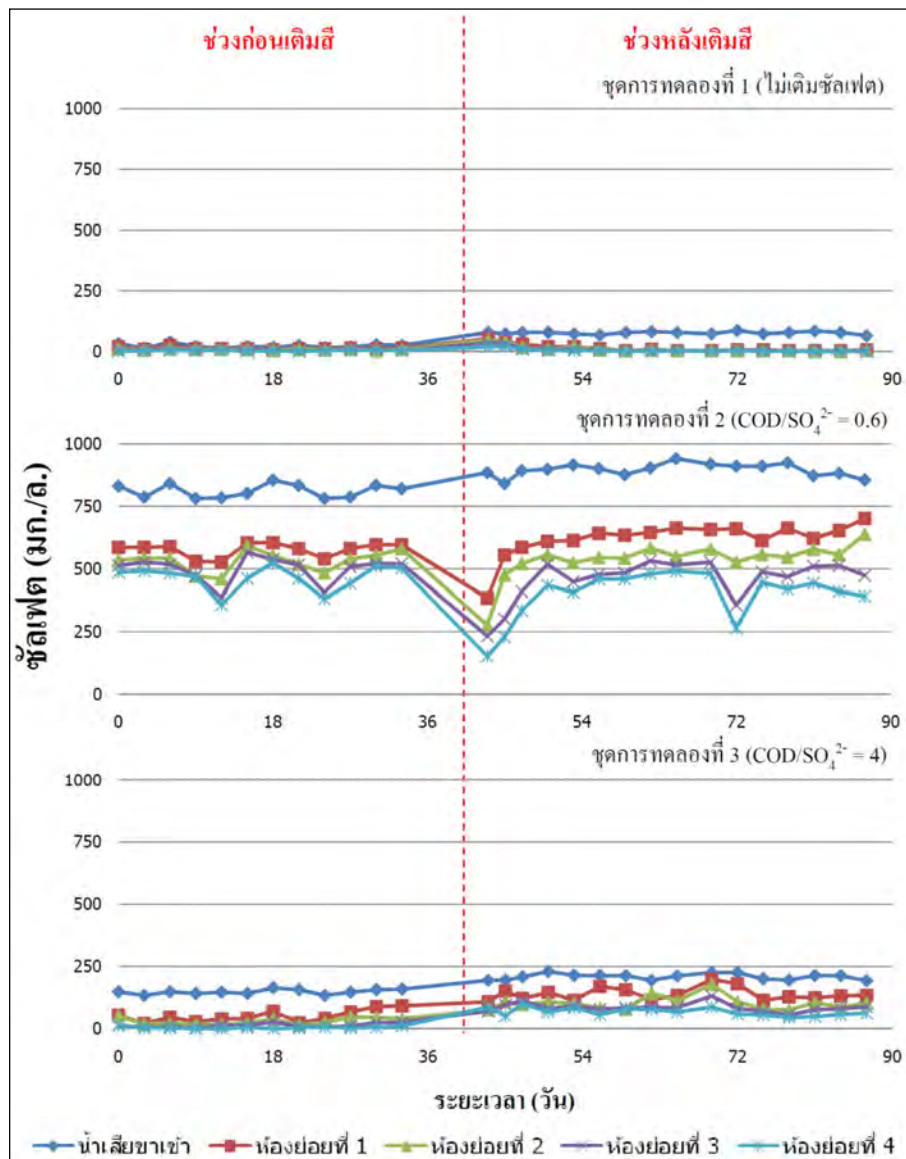
การวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟตในการทดลองช่วงที่ 1 ก่อนเติมสีย้อมอะโซพบว่ หลังจากวันที่ 18 ของการทดลองเป็นต้นไป ปริมาณซัลเฟตเฉลี่ยในน้ำเสียขาเข้าของชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ 20.9 ± 4.81 มก./ล., 818 ± 28.9 มก./ล. และ 153 ± 11.0 มก./ล. ตามลำดับ โดยปริมาณซัลเฟตเฉลี่ยในน้ำเสียจากห้องย่อยสุดท้ายของถังปฏิกรณ์ในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ 3.10 ± 1.98 มก./ล., 469 ± 53.6 มก./ล. และ 4.86 ± 3.92 มก./ล. ตามลำดับ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ค่าปริมาณซัลเฟตที่ลดลงเป็น 17.8 ± 5.19 มก./ล., 348 ± 32.1 มก./ล. และ 148 ± 12.7 มก./ล. ในชุดการทดลองที่ 1-3 ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นประสิทธิภาพในการบำบัดซัลเฟตของชุดการทดลองที่ 1-3 ได้เท่ากับ 84.5 ± 9.52 %, 42.7 ± 5.00 % และ 96.8 ± 2.61 % ตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบในชุดการทดลองเดียวกันพบว่า ในห้องย่อยที่ 1 มีการลดลงของปริมาณซัลเฟตสูงสุดในทุกชุดการทดลอง คิดเป็นประสิทธิภาพในการบำบัดซัลเฟตในห้องย่อยที่ 1 ของชุดการทดลองที่ 1-3 ได้เท่ากับ 48.1 ± 15.2 %, 28.8 ± 1.83 % และ 58.5 ± 16.2 % ตามลำดับ

การวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟตในการทดลองช่วงที่ 2 ซึ่งมีการเติมสีย้อมอะโซเป็นองค์ประกอบในน้ำเสียสังเคราะห์พบว่า ปริมาณซัลเฟตเฉลี่ยในน้ำเสียขาเข้าของชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ 76.2 ± 5.71 มก./ล., 895 ± 26.1 มก./ล. และ 209 ± 12.2 มก./ล. ตามลำดับ โดยปริมาณซัลเฟตเฉลี่ยในน้ำเสียจากห้องย่อยสุดท้ายของถังปฏิกรณ์ในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ 3.99 ± 6.50 มก./ล., 393 ± 99.0 มก./ล. และ 67.5 ± 16.1 มก./ล. ตามลำดับ ซึ่งสามารถวิเคราะห์เป็นปริมาณการลดลงของซัลเฟตในชุดการทดลองที่ 1-3 เท่ากับ 72.2 ± 9.09 มก./ล., 502 ± 90.7 มก./ล. และ 141 ± 18.9 มก./ล. ตามลำดับ โดยคำนวณเป็นประสิทธิภาพในการบำบัดซัลเฟตเท่ากับ 94.7 ± 8.70 %, 56.1 ± 10.7 % และ 67.6 ± 7.79 % ในชุดการทดลองที่ 1-3 ตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบในชุดการทดลองเดียวกันพบว่า ในห้องย่อยที่ 1 มีการลดลงของปริมาณซัลเฟตสูงสุดในทุกชุดการทดลอง คิดเป็นประสิทธิภาพในการบำบัดซัลเฟตในห้องย่อยที่ 1 ของชุดการทดลองที่ 1-3 ได้เท่ากับ 82.7 ± 19.5 %, 30.9 ± 7.91 % และ 33.5 ± 10.3 % ตามลำดับ

ปริมาณซัลเฟตในน้ำเสียขาเข้าและน้ำเสียจากแต่ละห้องย่อยของถังปฏิกรณ์ในชุดการทดลองที่ 1-3 ตลอดจนการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 6 ซึ่งเมื่อพิจารณาในช่วงก่อนและหลังการเติมสีย้อมอะโซเป็นองค์ประกอบในน้ำเสียสังเคราะห์พบว่า ปริมาณซัลเฟตในน้ำเสียสังเคราะห์มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนหลังจากมีการเติมสีย้อมอะโซ ซึ่งซัลเฟตที่เพิ่มขึ้นนั้นปะปนมากับสีย้อมอะโซที่ใช้ในการทดลองนี้ โดยสีย้อมที่ความเข้มข้น 300 มก./ล. จะมีปริมาณซัลเฟตปะปนอยู่ประมาณ 80-90 มก./ล. และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองพบว่า ในชุดการ

ทดลองที่ 2 และ 3 ซึ่งมีการเติมซัลเฟตการลดลงของซัลเฟตเกิดขึ้นในทุกห้องย่อยของถังปฏิกรณ์ ขณะที่ชุดการทดลองที่ 1 ซัลเฟตถูกบำบัดเกือบทั้งหมดใน 2 ห้องย่อยแรกของถังปฏิกรณ์ ทั้งนี้ในชุดการทดลอง ที่ 1 และ 2 ประสิทธิภาพการบำบัดซัลเฟตในช่วงหลังการเติมสีย้อมอะโซนั้นมีความเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับช่วงก่อนการเติมสีย้อมอะโซ ซึ่งแตกต่างจากชุดการทดลองที่ 3 ที่ประสิทธิภาพในการบำบัดซัลเฟตมีค่าลดลงหลังการเติมสีย้อมอะโซ

เนื่องจากถังปฏิกรณ์ใน 3 ชุดการทดลองมีการเดินระบบด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งมีปริมาณซัลเฟตที่แตกต่างกัน จึงเป็นที่คาดหมายได้ว่าในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ซึ่งมีปริมาณซัลเฟตอยู่สูงนั้น ประชากรแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจึงควรมีอยู่ในปริมาณที่สูงกว่าในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งมีปริมาณซัลเฟตอยู่เพียงส่วนน้อยซึ่งปะปนมาพร้อมสีย้อมเท่านั้น ทั้งนี้ปริมาณซัลเฟตที่ลดลงในถังปฏิกรณ์สามารถบ่งบอกได้ถึงปริมาณแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในระบบ ซึ่งปริมาณซัลเฟตที่ลดลงในแต่ละชุดการทดลองสอดคล้องกับสมมติฐานของประชากรแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในระบบเป็นอย่างดี นั่นคือปริมาณซัลเฟตที่ลดลงในชุดการทดลองที่ 2 มีค่าสูงกว่าในชุดการทดลองที่ 3 และในชุดการทดลองที่ 1 ตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ จึงอาจกล่าวได้ว่าประชากรแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในชุดการทดลองที่ 2 นั้นมีปริมาณสูงกว่าในชุดการทดลองที่ 3 และชุดการทดลองที่ 1 ตามลำดับ



รูปที่ 6 ปริมาณซัลเฟตในน้ำเสียขาเข้าและในแต่ละห้องย่อยของทุกชุดการทดลอง

ค่าพีเอชและค่าไออาร์พีในระบบ

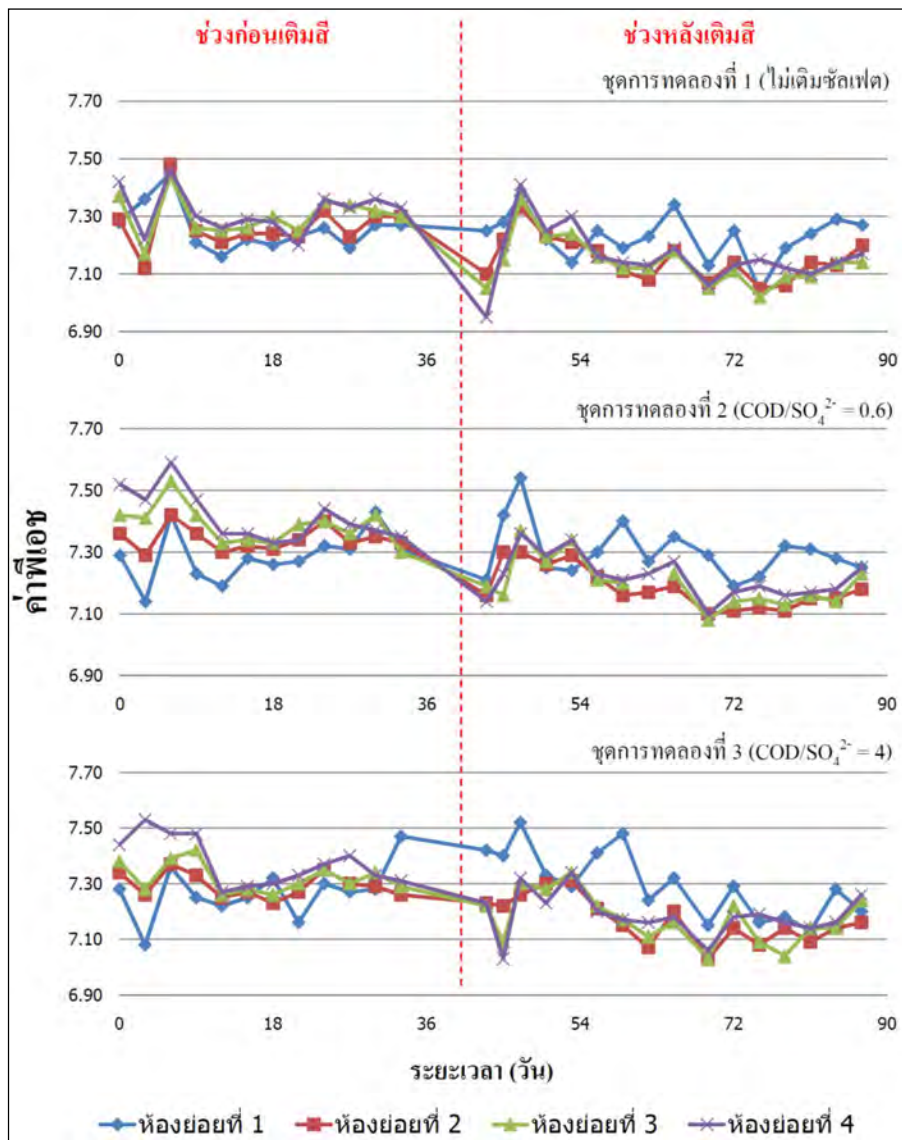
การวิเคราะห์ค่าพีเอชของน้ำเสียจากแต่ละห้องย่อยในทั้ง 3 ชุดการทดลองแสดงดังรูปที่ 7 โดยในช่วงการทดลองที่ 1 ซึ่งเป็นช่วงก่อนการเติมสีย้อมอะโซพบว่ามีค่าพีเอชของน้ำเสียจากทุกห้องย่อยของถังปฏิกรณ์มีค่าอยู่ระหว่าง 7.1-7.5, 7.1-7.6 และ 7.0-7.5 ตามลำดับ โดยห้องย่อยที่ 4 มีค่าพีเอชโดยเฉลี่ยสูงที่สุดภายในชุดการทดลองเดียวกัน ค่าพีเอชมีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บน้ำ (HRT) และค่าพีเอชโดยเฉลี่ยของน้ำเสียจากห้องย่อยสุดท้ายของถังปฏิกรณ์จากชุดการทดลองที่ 1-3 หลังระบบเข้าสู่

สภาวะคงตัวมีค่าเท่ากับ 7.32, 7.42 และ 7.38 ตามลำดับ และภายหลังการเติมสีย้อมอะโซ ค่าพีเอชของน้ำเสียในชุดการทดลองที่ 1-3 จากทุกห้องย่อยของถังปฏิกรณ์มีค่าอยู่ระหว่าง 7.0-7.5, 7.0-7.6 และ 7.0-7.5 ตามลำดับ โดยห้องย่อยที่ 1 มีค่าพีเอชโดยเฉลี่ยสูงสุดภายในชุดการทดลองเดียวกัน และค่าพีเอชโดยเฉลี่ยของน้ำเสียจากห้องย่อยสุดท้ายของถังปฏิกรณ์จากชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ 7.17, 7.23 และ 7.20 ตามลำดับ

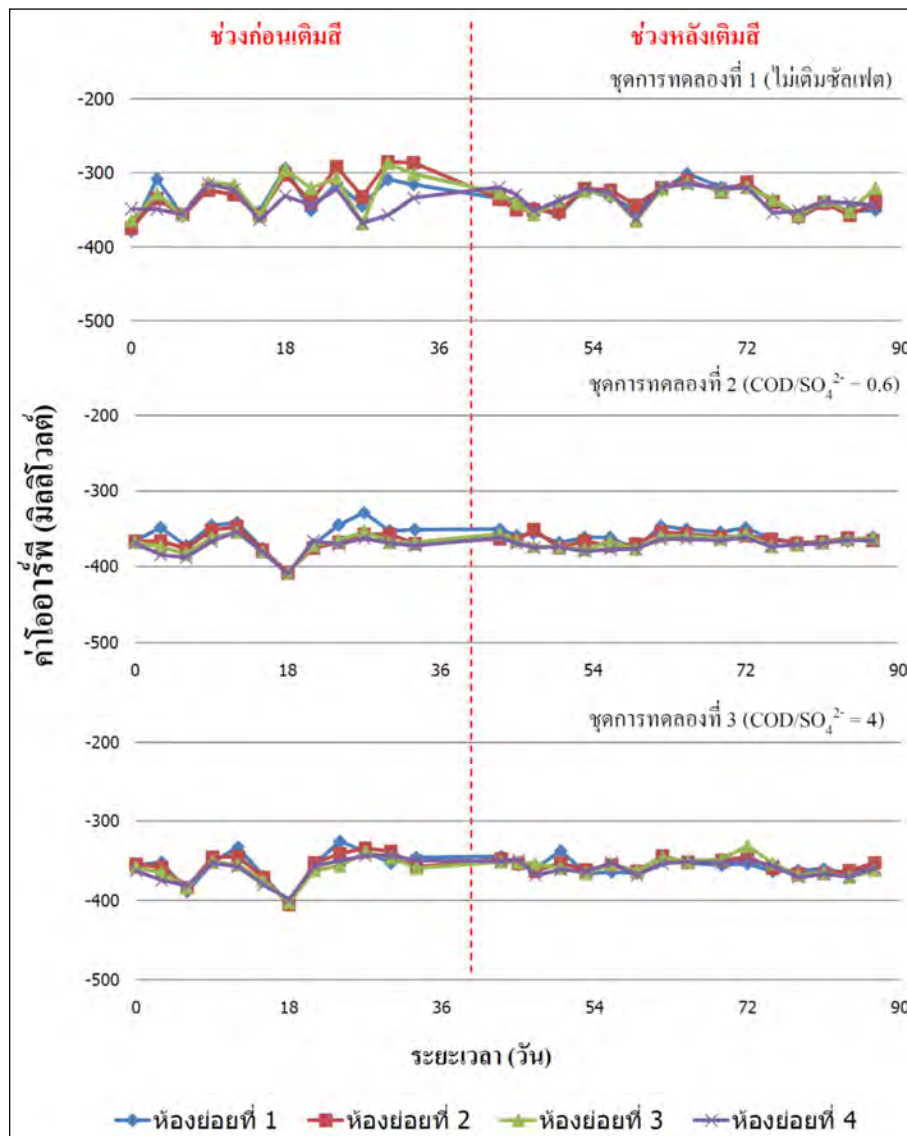
ผลการวิเคราะห์ค่าพีเอชตลอดการทดลองพบว่า ค่าพีเอชของน้ำเสียในทุกห้องย่อยของถังปฏิกรณ์ในชุดการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 7.0 ถึง 7.6 โดยเมื่อพิจารณาภายในชุดการทดลองเดียวกันพบว่า ค่าพีเอชของน้ำเสียในทุกห้องย่อยในช่วงเดินระบบมีการเปลี่ยนแปลงลดลงจากช่วงเริ่มต้นระบบเล็กน้อย

การวิเคราะห์ค่าไออาร์พีของน้ำเสียในแต่ละห้องย่อยในทั้ง 3 ชุดการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 8 การวิเคราะห์ค่าไออาร์พีในการทดลองช่วงที่ 1 ซึ่งยังไม่มี การเติมสีย้อมอะโซพบว่าในชุดการทดลองที่ 1-3 ค่าไออาร์พีของน้ำเสียในทุกห้องย่อยของถังปฏิกรณ์มีค่าอยู่ระหว่าง -280 ถึง -410 มิลลิโวลต์ ส่วนในการทดลองช่วงที่ 2 หลังจากทำการเติมสีย้อมอะโซ พบว่าในชุดการทดลองที่ 1-3 ค่าไออาร์พีของน้ำเสียในทุกห้องย่อยของถังปฏิกรณ์มีค่าอยู่ระหว่าง -300 ถึง -410 มิลลิโวลต์โดยทั้งในช่วงก่อนและหลังการเติมสีย้อมอะโซเมื่อพิจารณาค่าไออาร์พีของน้ำเสียจากทุกห้องย่อยภายในชุดการทดลองเดียวกันพบว่าไม่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการวิเคราะห์ค่าไออาร์พีตลอดการทดลองพบว่า ค่าไออาร์พีของน้ำเสียในทุกห้องย่อยของทุกถังปฏิกรณ์มีค่าอยู่ในช่วง -280 ถึง -410 มิลลิโวลต์ จึงกล่าวได้ว่าถังปฏิกรณ์สำหรับทั้ง 3 ชุดการทดลองนี้อยู่ในสภาวะไร้อากาศตลอดการทดลอง ทั้งนี้ค่าไออาร์พีที่พบในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับค่าไออาร์พีของระบบบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศที่เอื้อต่อการเกิดกระบวนการซัลเฟตรีดักชันและกระบวนการสร้างมีเทน ซึ่งควรมีค่าไออาร์พีน้อยกว่า -200 มิลลิโวลต์



รูปที่ 7 ค่าพีเอชของน้ำเสียจากแต่ละห้องย่อยในทุกชุดการทดลอง



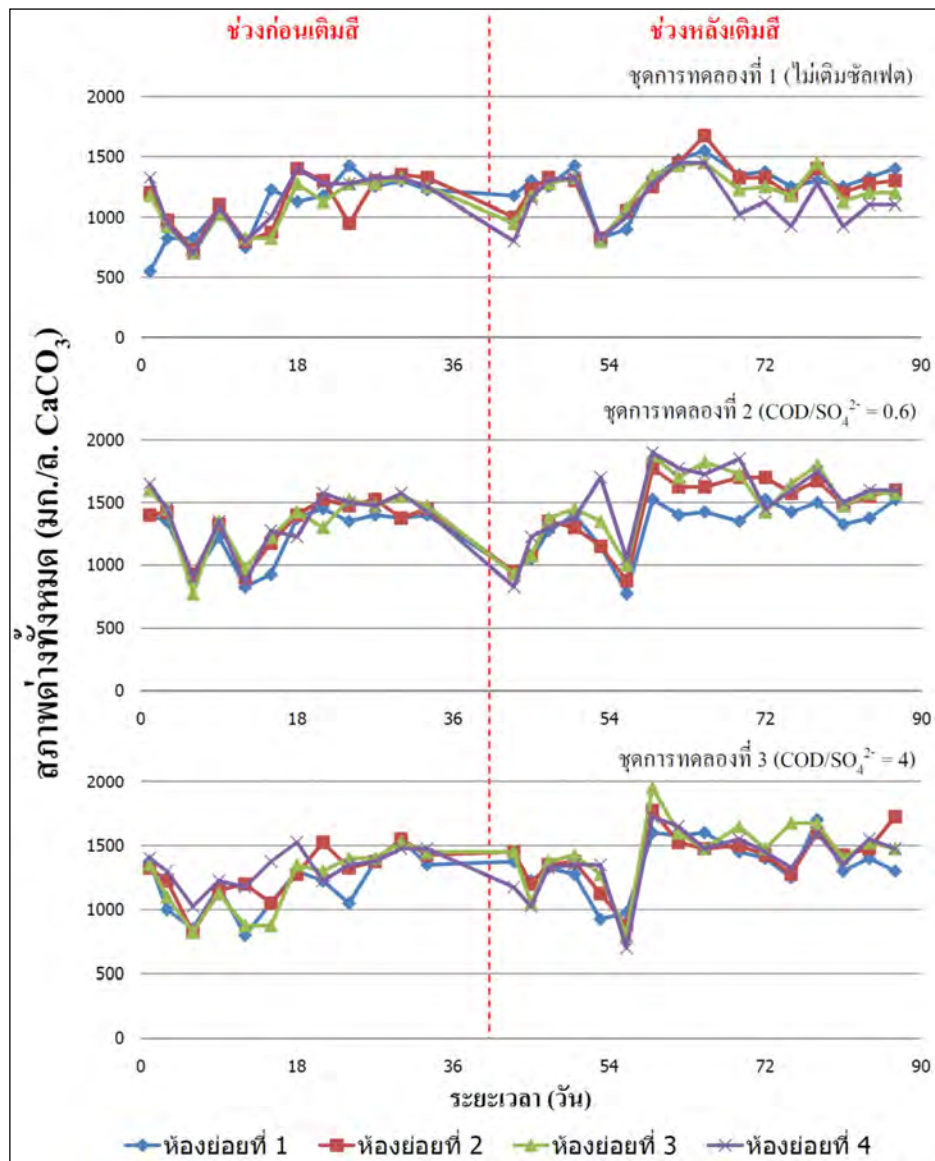
รูปที่ 8 ค่าโออาร์พีของน้ำเสียจากแต่ละห้องย่อยในทุกชุดการทดลอง

สภาพต่างทั้งหมดในระบบ

ผลการวิเคราะห์สภาพต่างทั้งหมดในเทอมของแคลเซียมคาร์บอเนตตลอดการทดลอง แสดงดังรูปที่ 9 การวิเคราะห์สภาพต่างในการทดลองช่วงที่ 1 ก่อนทำการเติมสีย้อมอะโซพบว่ หลังจากวันที่ 18 ของการทดลองเป็นต้นไป สภาพต่างทั้งหมดในห้องย่อยสุดท้ายของถัง ปฏิกรณ์ในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $1,308 \pm 54$ มก./ล., $1,462 \pm 130$ มก./ล. และ $1,514 \pm 227$ มก./ล. ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบในชุดการทดลองเดียวกันพบว่า ห้องย่อยที่ 4 มีสภาพต่างทั้งหมดสูงที่สุด ขณะที่ค่าเฉลี่ยของปริมาณต่างทั้งหมดไม่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างห้องย่อยในชุดการทดลองเดียวกัน ทั้งนี้ตลอดระยะเวลาใน

การทดลองช่วงที่ 1 ซึ่งยังไม่มี การเติมสีย้อมชนิดอะโซสภาพต่างทั้งหมดของถึงปฏิกิริยาในชุด การทดลองที่ 1-3 มีค่าอยู่ในช่วง 950-1,425 มก./ล., 1,300-1,575 มก./ล. และ 775-1,900 มก./ล. ตามลำดับ ซึ่งนับว่าเพียงพอในการช่วยควบคุมพีเอชในระบบให้อยู่ในช่วงคงที่

การวิเคราะห์สภาพต่างทั้งหมดในเทอมของแคลเซียมคาร์บอเนตในการทดลองช่วงที่ 2 หลังจากมีการเติมสีย้อมอะโซพบว่า สภาพต่างทั้งหมดในน้ำเสียจากห้องย่อยสุดท้ายจากถึง ปฏิกิริยาของชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ $1,279 \pm 188$ มก./ล., $1,308 \pm 166$ มก./ล. และ $1,354 \pm 211$ มก./ล. ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบในชุดการทดลองเดียวกันพบว่า ห้อง ย่อยที่ 4 มีสภาพต่างทั้งหมดสะสมสูงสุด โดยตลอดระยะเวลาในการทดลองช่วงที่ 2 หลังจากมี การเติมสีย้อมอะโซ สภาพต่างทั้งหมดของถึงปฏิกิริยาในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าอยู่ในช่วง 800-1,675 มก./ล., 1,050-1,550 มก./ล. และ 700-1,950 มก./ล. ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเพียงพอใน การควบคุมพีเอชในระบบให้อยู่ในช่วงคงที่

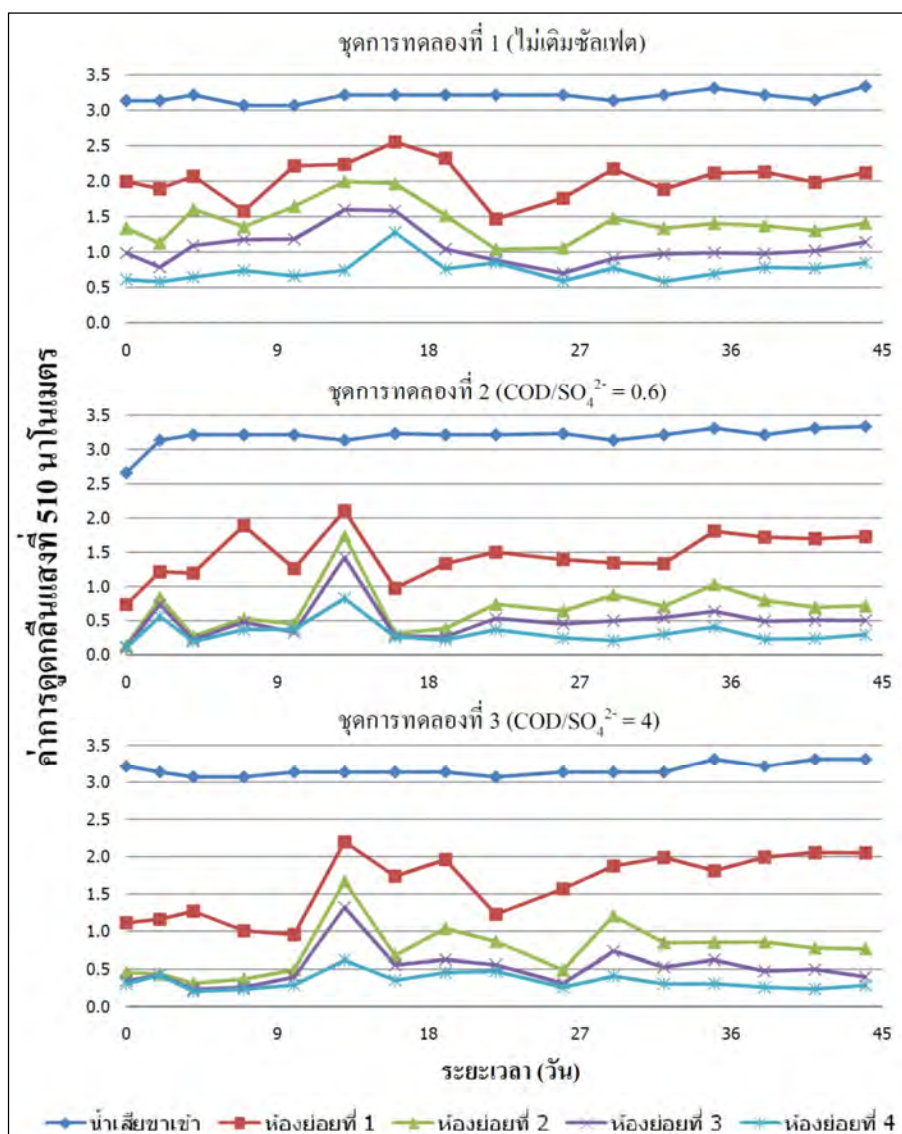


รูปที่ 9 สภาพต่างทั้งหมดในน้ำเสียจากแต่ละห้องย่อยของทุกชุดการทดลอง

ค่าความเข้มข้นของสีย้อมและประสิทธิภาพการบำบัดของระบบ

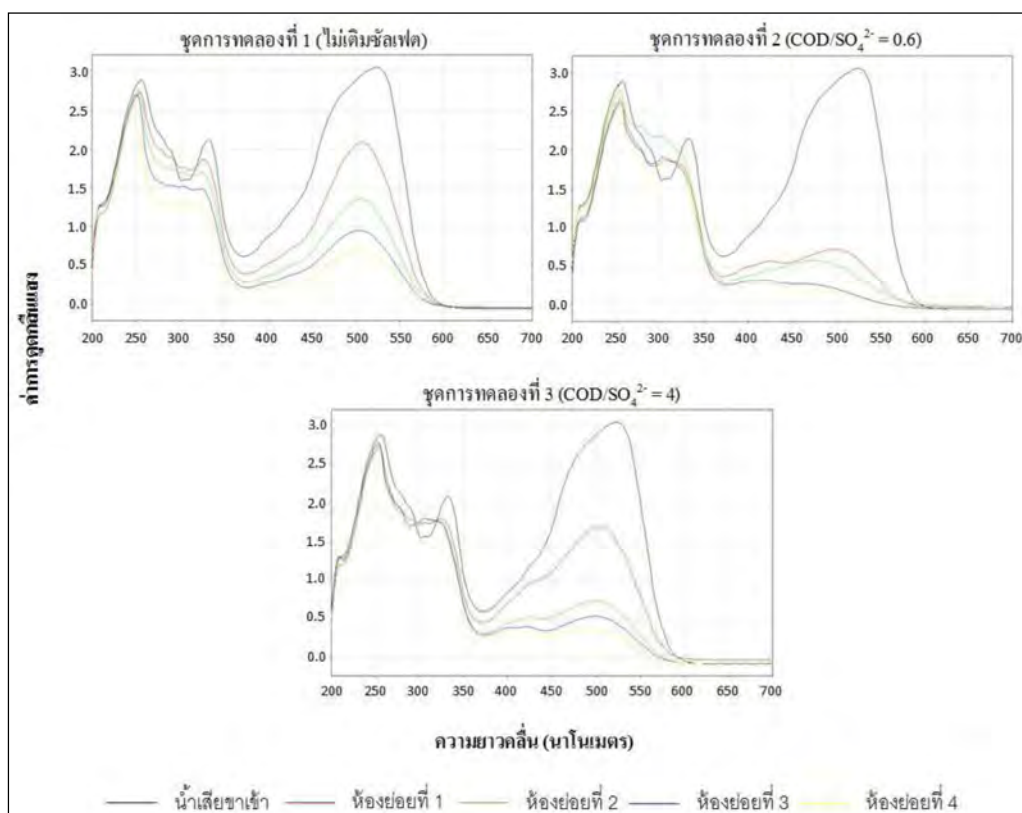
การวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรตลอดระยะเวลาการทดลองในช่วงเดินระบบแสดงรูปที่ 10 ผลการทดลองพบว่าค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของน้ำเสียขาเข้าในชุดการทดลองที่ 1-3 เท่ากับ 3.191 ± 0.074 , 3.187 ± 0.153 และ 3.166 ± 0.084 ตามลำดับ และค่าการดูดกลืนแสงของน้ำเสียจากห้องย่อยสุดท้ายเฉลี่ยตลอดการทดลองในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่าเท่ากับ 0.744 ± 0.168 , 0.325 ± 0.171 และ 0.336 ± 0.111 ตามลำดับ โดยพบว่า ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ซึ่งมีการเติมซัลเฟตมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีสูงใกล้เคียงกันคือ $89.9 \pm 5.50 \%$ และ $89.4 \pm 3.62 \%$ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 1 มีประสิทธิภาพเฉลี่ยเท่ากับ $76.7 \pm 5.14 \%$ ซึ่งน้อยกว่าในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ซึ่งมีการเติมซัลเฟตอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งพบว่าการกำจัดสีเกิดขึ้นในทุกห้องย่อยของถังปฏิกรณ์ โดยห้องย่อยที่ 1 มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีสูงที่สุดเทียบกับห้องย่อยอื่นๆ ในถังปฏิกรณ์เดียวกัน โดยประสิทธิภาพการกำจัดสีของห้องย่อยที่ 1 เฉลี่ยในชุดการทดลองที่ 1-3 มีค่า $36.4 \pm 8.41 \%$, $55.0 \pm 11.0 \%$ และ $48.9 \pm 13.1 \%$ ตามลำดับ ขณะที่ห้องย่อยที่ 2-4 ภายในถังปฏิกรณ์เดียวกันประสิทธิภาพในการกำจัดสีมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่ศึกษาการกำจัดสีด้วยถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศ Bell และ Buckley (2003) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นสีที่ลดลงราว 50% จะเกิดขึ้นใน 2 ห้องแรกภายในถังปฏิกรณ์ รูปที่ 12 แสดงลักษณะของน้ำเสียขาเข้าและน้ำเสียที่ออกจากแต่ละถังปฏิกรณ์

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสีย้อมตลอดการทดลองพบว่า ปริมาณซัลเฟตที่แตกต่างกันมีผลต่อการกำจัดสีในระบบอย่างมีนัยสำคัญ โดยปริมาณซัลเฟตที่เพิ่มขึ้นส่งผลในเชิงบวกต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสี อย่างไรก็ตามความแตกต่างของปริมาณซัลเฟตในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ซึ่งมีการเติมซัลเฟตในสัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต 0.6 และ 4 ตามลำดับนั้น ไม่ได้ส่งผลชัดเจนต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซปริมาณซัลเฟตที่มากเกินไปจึงอาจไม่ได้ช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซแต่อย่างใด



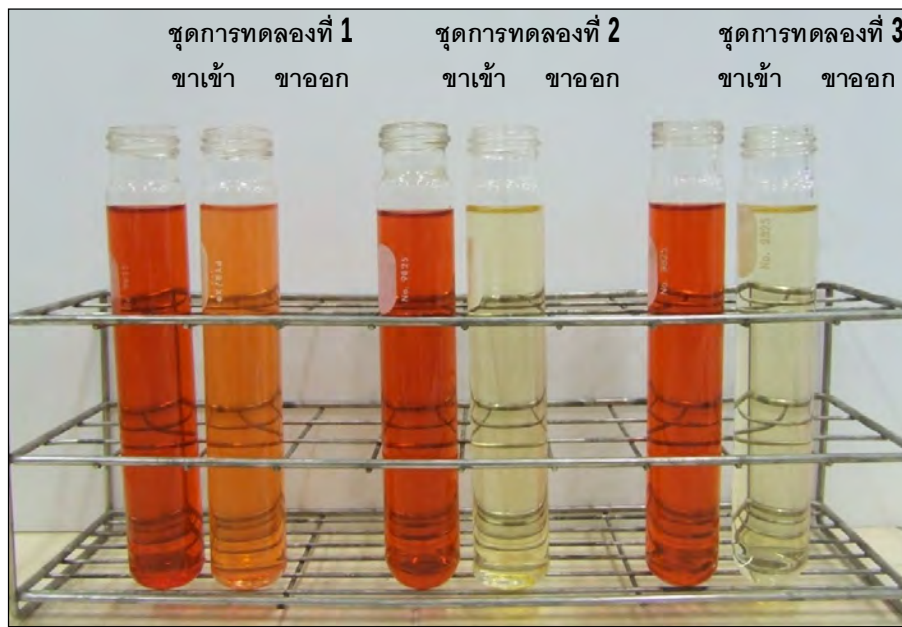
รูปที่ 10 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของน้ำเสียขาเข้าและน้ำเสียจากทุกห้องย่อยในทุกชุดการทดลอง

นอกจากนี้การวิเคราะห์การกำจัดสีที่เกิดขึ้นยังพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200-700 นาโนเมตรของน้ำเสียจากทุกถังปฏิกรณ์ในทุกชุดการทดลองเป็นการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเดิม ไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของสีย้อมไปยังช่วงความยาวคลื่นอื่นแต่อย่างใด โดยการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของทุกถังปฏิกรณ์ทั้ง 3 ชุดการทดลองแสดงดังรูปที่ 11 ซึ่งชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่ามีการกำจัดสีเกิดขึ้นจริงในทุกชุดการทดลอง

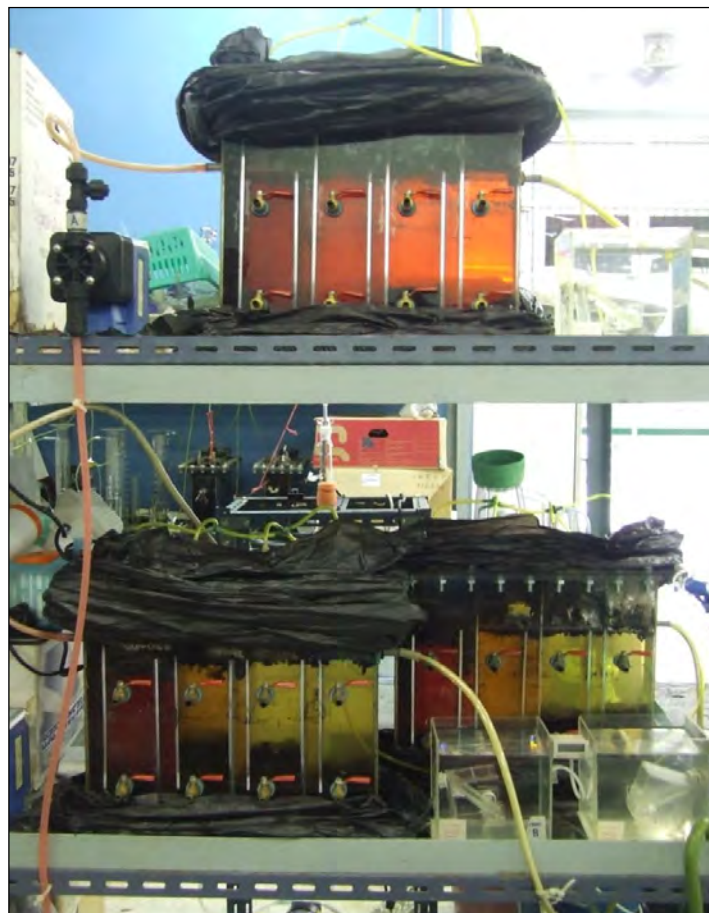


รูปที่ 11 ค่าการดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 200-700 นาโนเมตรใน ชุดการทดลอง 3 ณ วันที่ 35 ของการทดลอง

จากผลการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของทุกชุดการทดลองสามารถสรุปได้ว่า ถึงปฏิกิริยาที่มีการเติมซัลเฟตด้วยสัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 0.6 และ 4 มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซสูงขึ้นเมื่อเทียบกับถึงปฏิกิริยาที่ไม่มีการเติมซัลเฟตเพิ่มเติม ซึ่งสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนจากน้ำเสียขาเข้าเปรียบเทียบกับน้ำเสียจากห้องสุดท้ายของทุกถึงปฏิกิริยาและสีของน้ำเสียในแต่ละห้องย่อย (รูปที่ 12-13) โดยประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีเฉลี่ยในทุกชุดการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณซัลเฟตในระบบมีผลต่อการกำจัดสีย้อมอะโซ ทั้งนี้ Cervantes และคณะได้เคยทำการศึกษาเมื่อปี 2006 เกี่ยวกับผลของความเข้มข้นซัลเฟตในช่วงกว้าง (0-10 ก./ล.) ที่มีต่อการกำจัดสีย้อม Reactive Orange 14 ผลปรากฏว่า กระบวนการซัลเฟตรีดักชันและอะโซรีดักชันเกิดขึ้นพร้อมกันในทุกชุดการทดลอง และการกำจัดสีย้อมด้วยกระบวนการอะโซรีดักชันเกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของซัลเฟตเพิ่มสูงขึ้น แต่ที่ความเข้มข้นซัลเฟต 10 ก./ล. การเกิดขึ้นของทั้งสองกระบวนการลดลง จากผลการทดลองดังกล่าวนี้ชี้ให้เห็นว่ากระบวนการซัลเฟตรีดักชันมีความสัมพันธ์กับกระบวนการอะโซรีดักชันภายในระบบ ซึ่งสอดคล้องจากผลการทดลองของงานวิจัยนี้ตามที่ได้อธิบายมาแล้ว



รูปที่ 12 น้ำเสียขาเข้าและน้ำเสียที่ออกจากแต่ละถังปฏิกรณ์



รูปที่ 13 สีของน้ำเสียในแต่ละห้องย่อยภายในถังปฏิกรณ์

ทั้งนี้การเดินระบบด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีปริมาณซัลเฟตที่แตกต่างกันย่อมส่งผลต่อลักษณะประชากรจุลินทรีย์ในระบบ ซึ่งเป็นที่คาดหมายได้ว่าในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ซึ่งมีปริมาณซัลเฟตอยู่สูงนั้น ประชากรแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตน่าจะอยู่ในปริมาณที่สูงกว่าในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งมีปริมาณซัลเฟตอยู่เพียงเล็กน้อยจากการปะปนมากับสีย้อม ซึ่งสมมติฐานนี้สอดคล้องกับปริมาณการลดลงของซัลเฟตในแต่ละชุดการทดลองเป็นอย่างดี นั่นคือปริมาณการลดลงของซัลเฟตในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 นั้นมีค่าสูงกว่าปริมาณการลดลงของซัลเฟตในชุดการทดลองที่ 1 จึงกล่าวได้ว่าประชากรแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 นั้นมีปริมาณสูงกว่าในชุดการทดลองที่ 1 การเพิ่มขึ้นของประชากรแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในชุดการทดลองที่มีการเติมซัลเฟตนี้อาจมีส่วนสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ อย่างไรก็ตามความแตกต่างของปริมาณซัลเฟตใน 2 ชุดการทดลองไม่ได้ส่งผลชัดเจนต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ

หากพิจารณาถึงประชากรจุลินทรีย์ในถังปฏิกรณ์กล่าวได้ว่าเฟอร์เมนเทิฟแบคทีเรียและจุลินทรีย์สร้างมีเทนก็อาจสามารถเจริญเติบโตร่วมกับแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตได้เช่นกัน โดยจุลินทรีย์สร้างมีเทนสามารถเจริญเติบโตได้ดีเมื่อปริมาณซัลเฟตมีค่าค่อนข้างต่ำ และเจริญเติบโตได้ไม่ดีเมื่อซัลเฟตมีปริมาณสูง (Reilly และ Colleran, 2006) ด้วยเหตุนี้จึงคาดว่าจุลินทรีย์สร้างมีเทนจะมีปริมาณมากในชุดการทดลองที่ 1 และน้อยลงในชุดการทดลองที่ 3 และ 2 ซึ่งมีการเติม ซัลเฟตมากขึ้นตามลำดับ นอกจากนี้น้ำตาลทรายที่ใช้เป็นสารอาหารในการทดลองก็เป็นสารอาหารที่แบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตและจุลินทรีย์สร้างมีเทนไม่สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้โดยตรง เฟอร์เมนเทิฟแบคทีเรียซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายน้ำตาลทรายซึ่งเป็นสารอาหารตั้งต้นให้เป็นกรดอินทรีย์ระเหยจึงน่าจะเจริญเติบโตได้ดีในทุกชุดการทดลอง และอาจเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่บทบาทในการกำจัดสีย้อมอะโซได้เช่นกัน

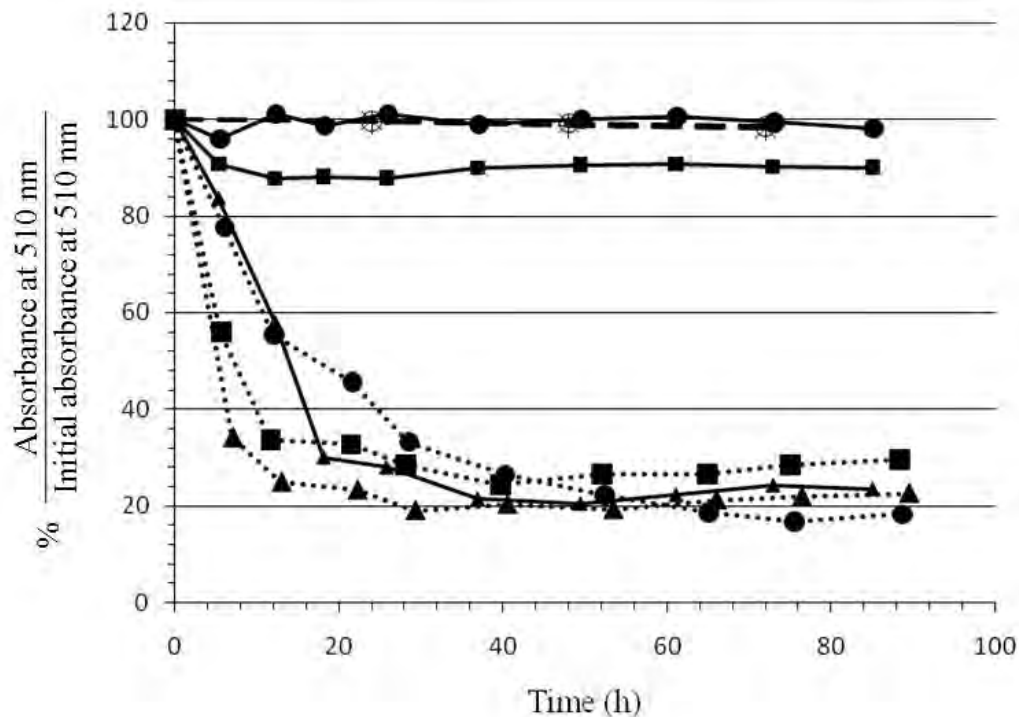
นอกจากนี้ยังเป็นที่สังเกตได้ว่าการกำจัดสีย้อมอะโซในทุกชุดการทดลองนั้นเกิดขึ้นได้พร้อม ๆ กันกับการบำบัดซัลเฟต ซึ่งหมายความว่าสีย้อมอะโซซึ่งสามารถเป็นสารรับอิเล็กตรอนได้นั้นไม่ได้ยับยั้งกระบวนการซัลเฟตรีดักชันซึ่งใช้ซัลเฟตเป็นสารรับอิเล็กตรอน ในขณะเดียวกันกระบวนการซัลเฟตรีดักชันก็ไม่ได้ยับยั้งการกำจัดสีย้อมอะโซหรือกระบวนการอะโซรีดักชันเช่นเดียวกัน ในทางตรงกันข้ามการเพิ่มซัลเฟตซึ่งเกี่ยวเนื่องถึงกระบวนการซัลเฟตรีดักชันกลับช่วยส่งผลให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซเพิ่มสูงขึ้น

อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้เป็นการศึกษาการกำจัดสีย้อมอะโซภายใต้สภาวะไร้อากาศ ซึ่งการกำจัดสีย้อมที่มีพันธะอะโซภายใต้สภาวะไร้อากาศนี้ โมเลกุลของสีย้อมจะถูกรีดิวซ์และเกิดกระบวนการอะโซรีดักชัน ทำให้พันธะคู่ของไนโตรเจนถูกสลายออกจากกันเพื่อรับอิเล็กตรอนที่มากับอะตอมไฮโดรเจน ได้เป็นสารประกอบอะโรมาติกเอมีน ($R-NH_2$) (Pandey และคณะ,

2007) ซึ่งสามารถย่อยสลายต่อเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และแอมโมเนียภายใต้สภาวะมีอากาศได้ (van der Zee และ Villaverde, 2005) ดังนั้นหากต้องการให้การย่อยสลายของโมเลกุลสีย้อมเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จำเป็นต้องเพิ่มระบบบำบัดแบบเดิมอากาศต่อเนื่องจากระบบบำบัดแบบไร้อากาศด้วย

กลไกการกำจัดสีย้อมอะโซภายใต้แต่ละถังปฏิกรณ์

ผลการทดลองช่วงที่ 3 เพื่อศึกษากลไกการกำจัดสีย้อมอะโซโดยตะกอนจุลชีพจากแต่ละถังปฏิกรณ์แสดงดังรูปที่ 14



รูปที่ 14 การกำจัดสีย้อมในระบบแบทช์

- การกำจัดสีย้อมโดยน้ำที่ผ่านการกรองจากถังปฏิกรณ์ที่ 1
- ▲— การกำจัดสีย้อมโดยน้ำที่ผ่านการกรองจากถังปฏิกรณ์ที่ 2
- การกำจัดสีย้อมโดยน้ำที่ผ่านการกรองจากถังปฏิกรณ์ที่ 3
-●..... การกำจัดสีย้อมโดยตะกอนจุลชีพจากถังปฏิกรณ์ที่ 1
-▲..... การกำจัดสีย้อมโดยตะกอนจุลชีพจากถังปฏิกรณ์ที่ 2
-■..... การกำจัดสีย้อมโดยตะกอนจุลชีพจากถังปฏิกรณ์ที่ 3
- การกำจัดสีย้อมโดยกระบวนการดูดซับบนตะกอนจุลชีพจากถังปฏิกรณ์ที่ 1
- +-- การกำจัดสีย้อมโดยกระบวนการดูดซับบนตะกอนจุลชีพจากถังปฏิกรณ์ที่ 2
- X-- การกำจัดสีย้อมโดยกระบวนการดูดซับบนตะกอนจุลชีพจากถังปฏิกรณ์ที่ 3

จากผลการทดลองพบว่ากระบวนการดูดซับด้วยตะกอนจุลชีพนั้นถือว่ามีผลน้อยมากในการกำจัดสีย้อมอะโซ และกลไกภายนอกเซลล์มีผลอย่างมากในการกำจัดสีย้อมอะโซในถังปฏิกรณ์ที่ 2 ซึ่งรับน้ำเสียซึ่งมีปริมาณซัลเฟตสูง (ซีโอดีต่อซัลเฟต 0.6) และกลไกภายนอกมีผลเพียงบางส่วนในถังปฏิกรณ์ที่ 3 ซึ่งมีค่าซีโอดีต่อซัลเฟต 4 และไม่มีผลในถังปฏิกรณ์ซึ่งไม่มีการเติมซัลเฟต ทั้งนี้กลไกภายนอกในการกำจัดสีย้อมอะโซที่เกิดขึ้นอาจประกอบด้วยกลไกจากเอนไซม์ภายนอก และ/หรือ การกำจัดสีย้อมอะโซด้วยกระบวนการทางเคมีจากไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการซัลเฟตรีดักชัน

6. สรุปผล

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของซัลเฟตที่มีการต่อกำจัดสีย้อมอะโซโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศแบบ 4 ห้องย่อย ซึ่งมีระยะเวลาพักน้ำรวม 1 วัน ดำเนินการทดลองโดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งมีน้ำตาลทรายเป็นสารอาหารหลักซึ่งมีค่าซีโอดีประมาณ 500 มก./ล. และมีค่าความเข้มข้นซัลเฟตแตกต่างกันใน 3 ชุดการทดลอง โดยชุดการทดลองที่ 1 ไม่มีการเติมซัลเฟต ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 2 และ 3 มีการเติมซัลเฟตที่สัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 0.6 และ 4 ตามลำดับ จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าปริมาณซัลเฟตส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมชนิดอะโซด้วยถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศอย่างมีนัยสำคัญ กล่าวคือ ถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศซึ่งมีการเติมซัลเฟตด้วยสัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 0.6 และ 4 มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับถังปฏิกรณ์ที่ไม่มีการเติมซัลเฟตซึ่งมีปริมาณซัลเฟตจากการปะปนมากับสีย้อมเท่านั้น โดยถังปฏิกรณ์ชนิดแผ่นกั้นไร้อากาศซึ่งมีการเติมซัลเฟตด้วยสัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟต 0.6 และ 4 มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมเฉลี่ยใกล้เคียงกันคือ $89.9 \pm 5.50 \%$ และ $89.4 \pm 3.62 \%$ ตามลำดับ ในขณะที่ถังปฏิกรณ์ที่ไม่มีการเติมซัลเฟตมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมเฉลี่ยอยู่ที่ $76.7 \pm 5.14 \%$ อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างของปริมาณซัลเฟตที่สัดส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตเท่ากับ 0.6 และ 4 ซึ่งอยู่ที่ 833 มก./ล. และ 125 มก./ล.ตามลำดับนั้นไม่ได้ส่งผลชัดเจนต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ ปริมาณสัดส่วนซัลเฟตที่มากเกินไปจึงอาจไม่ได้ช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซแต่อย่างใด ทั้งนี้ในทุกชุดการทดลองซึ่งมีปริมาณซัลเฟตที่แตกต่างกันการกำจัดสีย้อมที่เกิดขึ้นในทุกห้องย่อยของถังปฏิกรณ์โดยเกิดขึ้นสูงสุดในห้องย่อยที่ 1

ในส่วนของประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีในแต่ละชุดการทดลองพบว่าช่วงก่อนการเติมสีย้อมอะโซถังปฏิกรณ์ในทุกชุดการทดลองมีประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีใกล้เคียงกันคือมีค่าเฉลี่ยหลังระบบเข้าสู่สภาวะคงตัวอยู่ที่ $89.4 \pm 1.94 \%$, $83.5 \pm 2.53 \%$ และ $88.9 \pm 1.85 \%$ สำหรับชุดการทดลองที่ 1-3 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามภายหลังการเติมสีย้อมอะโซประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีของถังปฏิกรณ์ในทุกชุดการทดลองนั้นมีค่าลดลง โดยประสิทธิภาพในการ

บำบัดซีโอดีมีค่าเฉลี่ยลดลงอยู่ที่ $71.7 \pm 2.66 \%$, $69.0 \pm 2.70 \%$ และ $67.7 \pm 3.37 \%$ สำหรับชุดการทดลองที่ 1-3 ตามลำดับ ซึ่งการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีตลอดการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าห้องย่อยที่ 1 ของทุกถังปฏิกรณ์มีประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีสูงสุดเมื่อเทียบกับห้องย่อยอื่นๆ ภายในถังปฏิกรณ์เดียวกัน ซึ่งคล้ายคลึงกับประสิทธิภาพในการกำจัดสีที่มีค่ามากที่สุดในห้องย่อยที่ 1 ของถังปฏิกรณ์

ทั้งนี้ถังปฏิกรณ์ใน 3 ชุดการทดลองมีการเดินระบบด้วยน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งมีปริมาณซัลเฟตที่แตกต่างกัน จึงเป็นที่คาดหมายได้ว่าในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ซึ่งมีปริมาณซัลเฟตอยู่สูงนั้น ประชากรแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตจึงควรจะมีอยู่ในปริมาณที่สูงกว่าในชุดการทดลองที่ 1 ซึ่งมีปริมาณซัลเฟตอยู่ส่วนน้อยซึ่งปะปนมาพร้อมสีย้อมเท่านั้น ซึ่งค่าปริมาณการลดลงของซัลเฟตในแต่ละชุดการทดลองนั้นก็ให้ผลซึ่งสนับสนุนและสอดคล้องกับสมมติฐานเป็นอย่างดี การเพิ่มขึ้นของประชากรแบคทีเรียรีดิวซ์ซัลเฟตในถังปฏิกรณ์ที่มีการเติมซัลเฟตนั้นอาจมีส่วนสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ อย่างไรก็ตามความแตกต่างของปริมาณซัลเฟตในชุดการทดลองที่ 2 และ 3 ไม่ได้ส่งผลชัดเจนต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมอะโซ ซึ่งนับเป็นประเด็นที่น่าสนใจและควรได้รับการศึกษาวิจัยต่อยอดในอนาคต โดยอาจมีการทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับอัตราส่วนซีโอดีต่อซัลเฟตที่เหมาะสมในการกำจัดสีย้อมเนื่องจากจากผลงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าปริมาณซัลเฟตที่มากเกินไปไม่ได้มีส่วนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสี นอกจากนี้แล้วควรมีการศึกษาด้านกลุ่มประชากรจุลินทรีย์ในระบบเพิ่มเติมซึ่งจะสามารถช่วยเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับกระบวนการกำจัดสีภายใต้สภาวะไร้อากาศให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณซัลเฟตมีผลต่อการกำจัดสีในระบบบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมด้วยกระบวนการทางชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศ โดยปริมาณซัลเฟตที่เพิ่มขึ้นส่งผลเชิงบวกต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีโดยไม่ได้ทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีเปลี่ยนแปลงมากนัก ข้อมูลเชิงลึกที่ได้จากงานวิจัยนี้นับเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการปรับปรุงและพัฒนากระบวนการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น อีกทั้งยังเป็นองค์ความรู้ใหม่ในการต่อยอดและพัฒนาศักยภาพของระบบบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสีย้อมด้วยกระบวนการทางชีวภาพภายใต้สภาวะไร้อากาศได้ต่อไปในอนาคต

7. เอกสารอ้างอิง

- Bachmann, A., Beard, V. L., and McCarty, P. L. 1985. Performance Characteristics of the Anaerobic Baffled Reactor. Water Research. 19: 99-106.
- Barber, W. P., and Stuckey, D. C. 1999. The use of the anaerobic baffled reactor (ABR) for wastewater treatment : A review. Water Research. 33: 1559-1578.
- Bell, J., and Buckley, C. A. 2003. Treatment of a textile dye in the anaerobic baffled reactor. Water SA. 29: 129-134.
- Bell, J., Plumb, J. J., Buckley, C. A., and Stuckey, D. C. 2000. Treatment and decolorization of dyes in an anaerobic baffled reactor. Journal of Environmental Engineering. 126: 1026-1032.
- Cervantes, F. J., Enriquez, J. E., Mendoza-Hernandez, M. R., Razo-Flores, E., and Field, J.A. 2006. The role of sulphate reduction on the reductive decolorization of the azo dye reactive orange 14. Water Science & Technology. 54(2): 171-177.
- Chinwetkitvanich, S., Tuntoolvest, M., Panswad, T. 2000. Anaerobic decolorization of reactive dyebath effluents by a two-stage UASB system with tapioca as a co-substrate. Water Research. 34(8): 2223-2232.
- Dama, P., Bell, J., Foxon, K. M., Brouckaert, C. J., Huang, T., Buckley, C. A., Naidoo, V., and Stuckey, D. 2002. Pilot-scale study of an anaerobic baffled reactor for the treatment of domestic wastewater. Water Science and Technology. 46: 263-270.
- Dos Santos, A.B., Cervantes, F.J., and Van Lier, J.B. 2007. Review paper on current technologies for decolorization of textile wastewater: Perspectives for anaerobic biotechnology. Bioresource Technology. 98: 2369-2385.
- Forgacs, E., Cserhati, T., and Oros, G. 2004. Removal of synthetic dyes from wastewater: a review. Environmental international. 30: 953-971.
- Libra, J.A., Borchert, M., Vigelahn, L., and Storm, T. 2004. Two stage biological treatment of a diazo reactive textile dye and the fate of the dye metabolites. Chemosphere. 56: 167-180.
- Lopes, S. I. C., Wang, X., Capela, M. I., and Lens, P. N. L. 2007. Effect of COD/SO₄²⁻ ratio on thermophilic (55 °C) sulfate reduction during the acidification of sucrose at pH 6. Water Research. 41: 2379-2392.
- McCarty, P. L., and Rittmann, B. E. 2001. Environmental Biotechnology: Principles and Applications. New York: McGraw-Hill Book Co.

- Mozia, S., Tomaszewska, M., and Morawski A. W. 2005. Photocatalytic degradation of azo-dye Acid Red 18. Desalination and the Environment. 189: 445-496.
- Naimabadi, A., Attar, M. H., and Shahsavani, A. 2009. Decolorization and biological degradation of azo dye reactive Red2 by anaerobic/aerobic sequential process. Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering. 6: 67-72.
- Pandey, A., Singh, P., and Iyengar, L. 2007. Bacterial decolorization and degradation of azo dye. International Biodeterioration & Biodegradation. 59: 73-84.
- Pearce, C. I., Lloyd, J. R., and Guthrie, J. T. 2003. The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. Dyes Pigments. 58: 179–196.
- Plumb, J. J., Bell, J., and Stuckey, D. C., 2001. Microbial populations associated with treatment of an industrial dye effluent in an anaerobic baffled reactor. Applied and Environmental Microbiology. 67: 3226-3235.
- Reilly, C. O., and Colleran, E. 2006. Effect of influent COD/SO₄ ratios on mesophilic anaerobic reactor biomass populations: physico-chemical and microbiological properties. FEMS Microbiology Ecology. 56: 141–153.
- Ren, N. Q., Chua, H., Chun, S. Y., Tsang, Y. F., and Sin, N. 2007. Effect of COD/SO₄²⁻ ratios on an acidogenic sulfate-reducing reactor. Industrial and Engineering Chemistry Research. 46: 1661-1666.
- Stolz, A. 2001. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. Applied microbiology and biotechnology. 56: 69-80.
- van der Zee, F. P., and Villaverde, S. 2005. Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes: A short review of bioreactor studies. Water Research. 39: 1425-1440.
- van der Zee, F.P., Bisschops, I.A.E., Blanchard, V.G., Bouwman, R.H.M., Lettinga, G., and Field, J.A. 2003. The contribution of biotic and abiotic processes during azo dye reduction in anaerobic sludge. Water Research. 37: 3098-3109.
- Velasco, A., Ramirez, M., Volke-Sepulveda, T., Gonzalez-Sanchez, A., and Revah, S. 2008. Evaluation of feed COD/sulfate ratio as a control criteria for the biological hydrogen sulfide production and lead precipitation. Journal of Hazardous Materials. 151: 407- 413.
- Wang, A., Ren, N., Wang, X., and Lee, D. 2008. Enhanced sulfate reduction with acidogenic sulfate-reducing bacteria. Journal of Hazardous Materials. 154: 1060-1065.

8. Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ หัวข้อ "Sulfate supplements enhance the decolorization of an azo dye acid red 18 in anaerobic baffled reactors" Environmental Progress & Sustainable Energy (Impact factor 1.649) ผู้แต่งประกอบด้วย Benjaporn Boonchayaanant, Supakit Wangsaviboon, Wiboonluk Pungrasmi, Sutha, Khaodhjar ซึ่งได้รับการตอบรับ (Accepted) และได้รับการตีพิมพ์ล่วงหน้าออนไลน์ (DOI 10.1002/ep.11704) ในวันที่ 29 กันยายน 2555 ทั้งนี้ได้แนบบทความที่ได้รับการตีพิมพ์ล่วงหน้ามาท้ายรายงานนี้

Sulfate Supplements Enhance the Decolorization of an Azo Dye Acid Red 18 in Anaerobic Baffled Reactors

Benjaporn Boonchayaanant,^{a,b} Suppakit Wangsaviboon,^a Wiboonluk Pungrasmi,^a and Sutha Khaodhiar^a

^aDepartment of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

^bCenter of Excellence for Environmental and Hazardous Waste Management (EHWM), Bangkok 10330, Thailand;

benjaporn.bo@chula.ac.th (for correspondence)

Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI 10.1002/ep.11704

This study investigates the effects of sulfate on biological azo dye decolorization in anaerobic baffled reactors (ABRs) using Acid Red 18 as a model azo dye. The ABRs supplemented with sulfate at chemical oxygen demand (COD):sulfate ratios of 2.5 and 0.6 had the decolorization efficiencies of $(89.4 \pm 3.62)\%$ and $(89.9 \pm 5.50)\%$, respectively. These were significantly greater than the decolorization efficiency of the ABR without sulfate supplements that had the decolorization efficiency of $(76.7 \pm 5.14)\%$. The primary decolorization mechanisms in the ABR with no sulfate added and the ABR with the COD:sulfate ratio of 2.5 were biological and required the presence of cells. By contrast, the azo dye decolorization in the ABR with the COD:sulfate ratio of 0.6 can occur to a great extent in the absence of cells, suggesting the role of extracellular mechanisms on azo dye decolorization under this condition. © 2012 American Institute of Chemical Engineers Environ Prog, 00: 000–000, 2012

Keywords: decolorization, azo dyes, anaerobic baffled reactors, sulfate, anaerobic conditions

INTRODUCTION

Azo dyes, synthetic dyestuffs consisting of azo bonds ($N=N$), are widely used in the textile industry. Contamination of azo dyes in surface water can adversely affect aquatic ecosystems, as it impedes the penetration of sunlight into water. Physico-chemical processes can be used for the treatment of azo dyes in wastewater; however, these processes are usually expensive. Lower-cost biological treatments are an attractive option for the removal of azo dyes. Nevertheless, research and development on the biological treatment of azo dyes is still required to improve their efficiency and reliability.

Azo dyes are generally persistent in conventional aerobic treatment processes [1]. However, they can be decolorized biologically via azo reduction under anaerobic conditions, resulting in the breakage of $N=N$ double bonds, releasing aromatic amines that can be further degraded to CO_2 , H_2O , and NH_4^+ under aerobic conditions [1, 2]. Microbial populations in anaerobic bioreactors can play important roles in the decolorization of azo dyes. Sulfate concentration is one factor that influences microbial populations in anaerobic environ-

ments. Previous studies have shown that increases in sulfate concentrations and decreases in chemical oxygen demand (COD):sulfate ratios tend to favor the growth of sulfate-reducing bacteria (SRB) rather than methanogens [3–7]. Changes in microbial populations due to sulfate concentrations can potentially influence the decolorization of azo dyes.

Many studies have investigated the effects of sulfate on the biological decolorization of azo dyes [8–14]. Carliell *et al.* [9, 10] investigated the redox potential effects of sulfate on azo dye decolorization in anaerobic batch assays; the results showed that sulfate has no discernible effect on azo dye decolorization. Panswad and Luangdilok [13] reported that the presence of sulfate had no effect on azo dye decolorization in the anaerobic–aerobic sequencing batch reactor. However, the addition of *Desulfovibrio alaskensis* improved azo dye decolorization in the anaerobic–aerobic sequencing batch reactor, suggesting the role of SRB on the azo dye decolorization [8]. Furthermore, van der Zee *et al.* [14] found that in batch assays, sulfate influences azo dye reduction in accordance with biogenic sulfide formation from sulfate reduction, but that sulfate has no significant effect on azo dye decolorization in upward-flow anaerobic sludge bed reactors (UASBs). In addition, Cervantes *et al.* [11] found that increases in sulfate concentrations generally stimulate the decolorization of Reactive Orange 14 in batch studies with anaerobic sludge. Nevertheless, there was no effect of sulfate (5–10 g sulfate/L) on the rate of decolorization of Reactive Orange 14, Direct Blue 53, or Direct Blue 71 when no external redox mediator was provided [12]. Although many previous studies have investigated the effects of sulfate on biological azo dye decolorization, results remain inconclusive. Moreover, very few studies have directly investigated the effects of sulfate on azo dye decolorization in continuous anaerobic bioreactors, which can be further applied to the treatment of wastewater from the textile industry.

Anaerobic baffled reactors (ABRs) are alternative bioreactors that provide many advantages compared to other types of anaerobic bioreactors. ABRs can provide high capabilities of biomass retention with lower construction and operational costs and a low level of maintenance [15]. In addition, ABRs can be operated at a low COD range (438–730 mgCOD/L) [15]; this is suitable for textile industry wastewater, which generally contains low COD concentrations. Thus, ABRs are an attractive option for the treatment of wastewater from the textile industry. However, research on azo dye decolorization

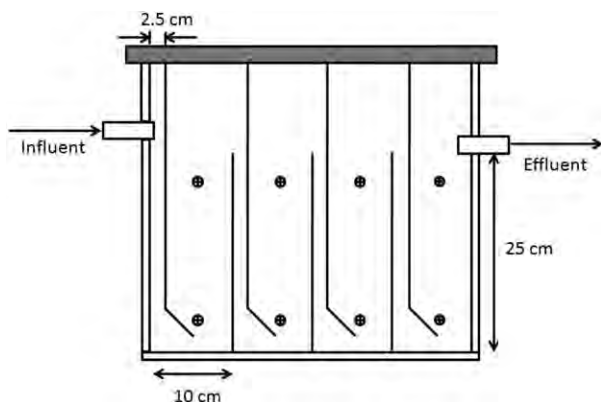


Figure 1. Anaerobic baffled reactor (ABR).

in ABRs is still limited [16–19], and none has investigated the effects of sulfate on azo dye decolorization in ABRs.

Therefore, this study aims to investigate the effects of sulfate on azo dye decolorization in ABRs. The mono-azo dye, Acid Red 18, was used as a model azo dye. Three ABRs were operated with three different sulfate concentrations to investigate the effects of sulfate on azo dye decolorization. This study will provide a better understanding of the azo reduction process under anaerobic conditions.

MATERIALS AND METHODS

Azo Dye Decolorization in ABRs

The effects of sulfate on azo dye decolorization were investigated in three four-compartment ABRs. Each reactor had a volume of 10 L with the configurations as shown in Figure 1.

All three ABRs were operated continuously with a flow rate of 10 L/day using synthetic wastewater consisting of sucrose as the electron donor, resulting in an influent COD of 500 mg/L. Influent sulfate concentrations were varied among the three ABRs at the sulfate concentrations of 0, 125, and 833 mg/L for ABR1 (no sulfate addition), ABR2 (medium-level sulfate), and ABR3 (high-level sulfate), respectively. The sulfate concentrations of 125 and 833 mg/L corresponded to the COD:sulfate ratios of 4 ($\frac{\text{COD } 500 \text{ mg/L}}{\text{sulfate } 125 \text{ mg/L}}$) and 0.6 ($\frac{\text{COD } 500 \text{ mg/L}}{\text{sulfate } 833 \text{ mg/L}}$), respectively. Sulfate was introduced in the form of sodium sulfate. Actual COD and sulfate concentrations in the influents were also measured. Previous research has shown that, at a COD:sulfate ratio of 4, methanogens and SRB can coexist [4]. On the other hand, a COD:sulfate ratio of 0.6 corresponds to the ratio at which sulfate is available slightly in excess compared to the COD. Other nutrients were supplied in synthetic wastewater as follows: NH_4Cl , 323 mg/L; NaH_2PO_4 , 44 mg/L; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 25 mg/L; $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 36 mg/L; $\text{CoCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.06 mg/L; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.09 mg/L; ZnCl_2 , 0.06 mg/L; $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.06 mg/L; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.15 mg/L; Na_2SeO_3 , 0.18 mg/L; $\text{NaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.05 mg/L; H_3BO_3 , 0.13 mg/L; KCl , 763 mg/L; and MgCl_2 , 987 mg/L. Sodium bicarbonate (2,520 mg/L, 30 mM) was added to synthetic wastewater, serving as a pH buffer. The reactors were seeded 20% by volume with the sludge (mixed liquor suspended solid [MLSS] $19,133 \pm 797$ mg/L) from an anaerobic digester operated until a steady state was reached. The reactors were operated continuously at room temperature (27–29°C) until steady states were reached. After 42 days of the experiment, 250 mg/L of the mono-azo dye, Acid Red 18 (P.K.S.Chemicals Co., Ltd., Bangkok, Thailand), was added to the synthetic wastewater for all three of the reactors. The chemical structure of Acid Red 18 is shown in Figure 2.

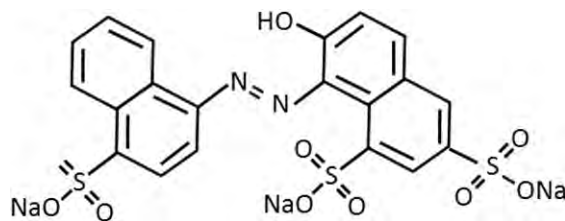


Figure 2. Chemical structure of Acid Red 18.

The reactors were further operated with the addition of the azo dye for 44 days until steady states were reached. Samples were collected over time and filtered using 0.45 μm membrane filters. COD, sulfate, decolorization, pH, oxidation–reduction potential (ORP), volatile fatty acids, and alkalinity were monitored over time. On the last day of the experiment, the first compartment of each reactor was mixed thoroughly. Then, the mixed liquors from the first compartment of each reactor were collected for the following experiments: (1) adsorption of the azo dye by inactive biomass and (2) extracellular mechanisms of azo dye decolorization.

Determination of Decolorization Rates

The rates of azo dye decolorization in all three ABRs are estimated using the assumption that the ABRs behave as a series of continuous stirred tank reactors (CSTRs). Each compartment of the ABRs is assumed to be completely mixed. The decolorization rate in each compartment is described in Eq. 1.

$$-r_n = \frac{A_{n-1} - A_n}{\text{HRT}}, \quad (1)$$

where $-r_n$ = the rate of azo dye decolorization in the n th compartment (h^{-1})

A_n = absorbance at 510 nm in the n th compartment

A_{n-1} = absorbance at 510 nm in the $n - 1$ th compartment

A_0 = absorbance at 510 nm in the influent

HRT = hydraulic retention time in each compartment, which is 6 h.

Adsorption of the Azo Dye by Inactive Biomasses

The mixed liquors obtained from the first compartment of each reactor were centrifuged and washed three times with deionized water. The cell pellets were autoclaved and resuspended with deionized water to obtain the MLSS concentrations equal to those in the first compartment of each reactor. Then 100 mL of resuspension was transferred into three replicate serum bottles (120 mL), and 250 mg/L of Acid Red 18 was added to the serum bottles. Samples were collected over time and filtered with 0.45- μm membrane filters. Decolorization of the azo dye was monitored over time.

Extracellular Mechanisms of Azo Dye Decolorization

Extracellular mechanisms of azo dye decolorization were investigated using membrane devices for cell separation. The mixed liquors from the first compartment of each reactor were collected and sterile filtered through 0.2- μm membrane filters. The filtrates were tested for their capabilities to decolorize the azo dye in anaerobic serum bottles with N_2 headspace sealed and capped with butyl rubber stoppers and aluminum seals. Similar approaches have been used to collect culture supernatants and to test extracellular mechanisms of microorganisms [20, 21]. Acid Red 18 was added to all of the serum bottles to obtain the initial absorbance at 510 nm of ~ 1.5 . Samples were collected over time with syringe needles.

The decolorization of azo dye by the filtrate was monitored for 3 days. In addition, batch experiments were conducted to test the decolorization of azo dye Acid Red 18 by the mixed liquor obtained from the first compartment of each reactor without cell separation in the same manner as the experiments using the filtrates.

Analytical Techniques

Decolorization of the azo dye was monitored using the measurement of absorbance on a UV-visible spectrophotometer (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) at 510 nm, the wavelength corresponding to the maximum absorbance of Acid Red 18. COD measurement was conducted using the closed reflux method [22]. Sulfide was removed from the samples prior to the COD measurement by H_2S stripping via acidification with sulfuric acid. Sulfate concentrations were analyzed using the turbidimetric method [22]. Volatile fatty acids—including acetate, propionate, butyrate, and lactate—were measured using gas chromatography (Agilent Technologies, CA) equipped with a HP-55% phenyl methyl siloxane capillary column (30 m $\times$ 320 μm $\times$ 0.25 μm) and a flame ionization detector. Alkalinity was measured using the potentiometric method [22]. ORP and pH were monitored using an ORP and pH meter (Thermo Fisher Scientific, MA).

RESULTS AND DISCUSSION

Azo Dye Decolorization in ABRs

The COD concentrations in each compartment of the three ABRs are shown in Figure 3. Before the addition of azo dye, the average COD removal efficiencies of ABR1, ABR2, and ABR3 after reaching steady states were (89.4 $\pm$ 1.94)%, (88.9 $\pm$ 1.85)%, and (83.5 $\pm$ 2.53)%, respectively. After the azo dye was introduced, the average COD removal efficiencies of all of the reactors decreased to (71.7 $\pm$ 2.66)%, (67.7 $\pm$ 3.37)%, and (69.0 $\pm$ 2.70)% for ABR1, ABR2, and ABR3, respectively. The COD removal efficiencies of all reactors were rather close both before and after the addition of the azo dye. For all of the reactors, COD removal occurred to the greatest extent in the first compartment.

Sulfate concentrations in all of the three ABRs are shown in Figure 4. Before the azo dye addition, the average concentrations of sulfate in the influents of ABR1, ABR2, and ABR3 were 12.12 $\pm$ 5.00 mg/L, 148 $\pm$ 9.72 mg/L, and 811 $\pm$ 27.3 mg/L, respectively. The actual COD:sulfate ratios in the influents of ABR1, ABR2, and ABR3 were 48.2 $\pm$ 18.2, 3.47 $\pm$ 0.227, 0.633 $\pm$ 0.020, respectively. The average concentrations of sulfate in the last compartments of the first, second, and third reactors after reaching steady states were 3.10 $\pm$ 1.98 mg/L, 4.86 $\pm$ 3.92 mg/L, and 469 $\pm$ 53.6 mg/L, respectively. The average sulfate removal for ABR1, ABR2, and ABR3 after reaching steady states was (84.5 $\pm$ 9.52)% (17.8 $\pm$ 5.19 mg/L), (96.8 $\pm$ 2.61)% (148 $\pm$ 12.7 mg/L), and (42.7 $\pm$ 5.00)% (348 $\pm$ 32.1 mg/L), respectively. However, after the addition of the azo dye, the average sulfate concentrations in the influents of all reactors increased to 76.2 $\pm$ 5.71 mg/L, 209 $\pm$ 12.2 mg/L, and 895 $\pm$ 26.1 mg/L for ABR1, ABR2, and ABR3, respectively. The increases in sulfate concentrations in the influents were due to the impurities in the azo dye used in this study. After the azo dye addition, the sulfate increases caused the COD:sulfate ratio of the influents to decrease to 6.74 $\pm$ 0.53, 2.48 $\pm$ 0.19, and 0.58 $\pm$ 0.02, for ABR1, ABR2, and ABR3, respectively. The average sulfate concentrations in the last compartments of ABR1, ABR2, and ABR3 after the addition of azo dye were 3.99 $\pm$ 6.50 mg/L, 67.5 $\pm$ 16.1 mg/L, and 393 $\pm$ 99.0 mg/L, respectively. The average sulfate removal for ABR1, ABR2, and ABR3 after the azo dye addition

was (94.7 $\pm$ 8.70)% (72.2 $\pm$ 9.09 mg/L), (67.6 $\pm$ 7.79)% (141 $\pm$ 18.9 mg/L), and (56.2 $\pm$ 10.7)% (502 $\pm$ 90.7 mg/L), respectively. For all of the three reactors, sulfate reduction occurred the most in the first compartment.

The pH and ORP levels were monitored throughout the experiment. The pH levels of all of the compartments in the three reactors were in the range of 6.9–7.6 (Figure 5). The ORP levels in all of the compartments in the three reactors were in the range of –300 to –380 mV, which indicated that the reactors were under anaerobic conditions throughout the experiment. Acetate was found to be the dominant volatile fatty acid in all of the compartments in the three reactors. Propionate and butyrate were found in only small amounts, while lactate was not detected. For all of the three reactors, volatile fatty acids accumulated the most in the first compartments (data not shown). The accumulation of volatile fatty acids was rather small, and acetic acid accumulation never exceeded 2 mM throughout the experiment.

Decolorization of the azo dye was monitored in all compartments of the three ABRs over time. The azo dye decolorization results are shown in Figure 6. The average absorbances at 510 nm for the influents of the ABR1, ABR2, and ABR3 reactors were 3.191 $\pm$ 0.074, 3.166 $\pm$ 0.084, and 3.187 $\pm$ 0.153, respectively. The average absorbances at 510 nm in the last compartments of ABR1, ABR2, and ABR3 were 0.744 $\pm$ 0.168, 0.336 $\pm$ 0.111, and 0.325 $\pm$ 0.171, respectively. The decolorization efficiencies of ABR2 and ABR3—with the COD:sulfate ratios of 2.5 and 0.6, respectively—were (89.4 $\pm$ 3.62)% and (89.9 $\pm$ 5.50)%, respectively. The decolorization efficiencies of these two reactors were rather close but greater than that observed in ABR1 [(76.7 $\pm$ 5.14)%], in which sulfate was not intentionally added but present in only a small amount due to the impurities of the azo dye.

For all of the three ABRs, the decolorization of the azo dye occurred in all compartments but to the greatest extent in the first compartments. The results from this study suggest that a sulfate supplement can improve azo dye decolorization in ABRs. However, excessively high sulfate concentrations (as added in ABR3) did not appear to increase azo dye decolorization compared with ABR2 (in which sulfate was added in lower amounts). This observation may suggest that there is an appropriate ratio of COD:sulfate that would improve azo dye decolorization. Sulfate concentrations greater than such ratio may not improve azo dye decolorization. In addition, the decolorization efficiencies in ABR2 and ABR3 are rather close, and the effluents from these reactors are obviously clear. These decolorization efficiencies (89–90%) may be the maximum that the biological treatment systems can reach.

Table 1 summarizes the COD removal, sulfate removal, and the azo dye decolorization efficiencies of each compartment of the ABRs. The azo dye decolorization efficiencies in each compartment of the three ABRs are also plotted versus the corresponding COD:sulfate ratio in the compartment as shown in Figure 7. However, the relationship between azo dye decolorization efficiencies and the COD:sulfate ratio cannot be obtained clearly, since the azo dye decolorization efficiencies among the compartments cannot directly be compared due to the differences in biomass concentrations among the compartments. Nevertheless, when compared only among the Compartments 1 and 2 of the three ABRs, it appeared that the low COD:sulfate ratio corresponded to the high decolorization efficiencies. However, this trend is not true for Compartments 3 and 4, in which azo dye decolorization in ABR2 and ABR3 might already achieve the maximum decolorization efficiency limits for the azo dye. In addition, due to the huge difference between the COD:sulfate ratio in ABR1 and ABR2, the optimum COD:sulfate ratio cannot be obtained in this study. Further studies are required to investigate the effects of COD:sulfate ratio within this range (2.5–37)

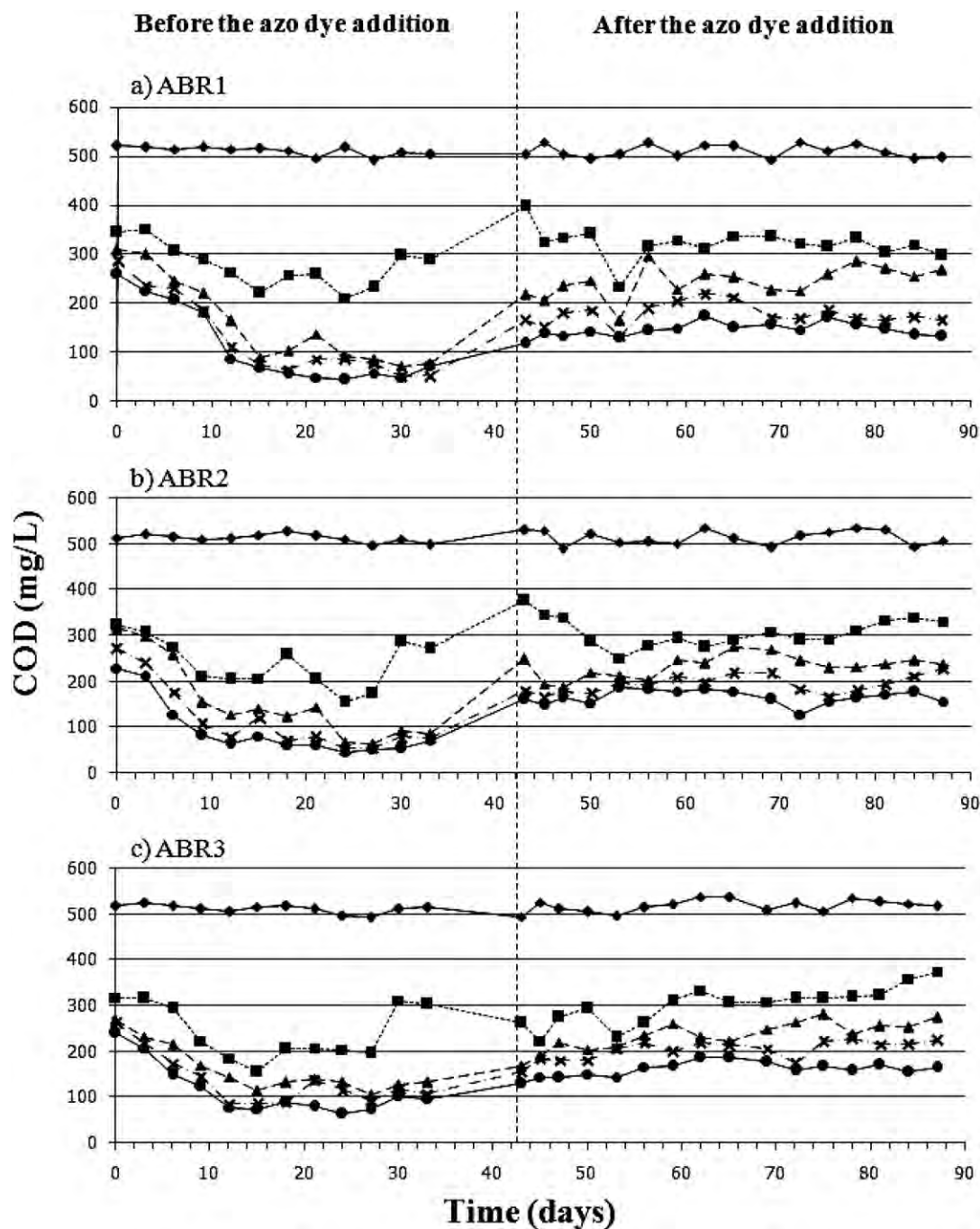


Figure 3. COD concentrations (mg/L) in (a) ABR1 (no sulfate addition), (b) ABR2 (medium-level sulfate), and (c) ABR3 (high-level sulfate): —◆—, Influent;■....., First compartment; ---▲---, Second compartment; ---×---, Third compartment; —●—, Fourth compartment.

on the decolorization efficiencies with better controls on biomass concentrations for more accurate comparison.

Cervantes *et al.* [11] have reported that increases in sulfate concentrations from 0 to 5 g/L enhanced the decolorization of the azo dye Reactive Orange 14 in batch studies but that decolorization decreased at 10 g/L of sulfate. They also found that sulfate reduction and azo reduction occurred simultaneously. The results from the present study of ABRs are in agreement with the findings of Cervantes *et al.* [11]. However, it has been shown that sulfate had no significant effect on the decolorization of azo dye Reactive Red 2 in UASBs with 35 g/L volatile suspended solid (VSS) [14]. Never-

theless, van der Zee *et al.* [14] have commented that the effects of biogenic sulfide may be more pronounced and may improve azo dye decolorization in systems with lower amounts of biomass (<35 g/L VSS). Such situations were observed in this study using ABRs with the MLSS <22,000 mg/L. In addition, the characteristics of ABRs and UASBs differ in many respects. Different operating conditions and configurations of ABRs and UASBs could result in different microbial populations within the reactors. The characteristics of the biomass in these reactors are also greatly different. The conditions of ABRs may be more favorable to SRB than those of UASBs, which may also explain the observed effects of

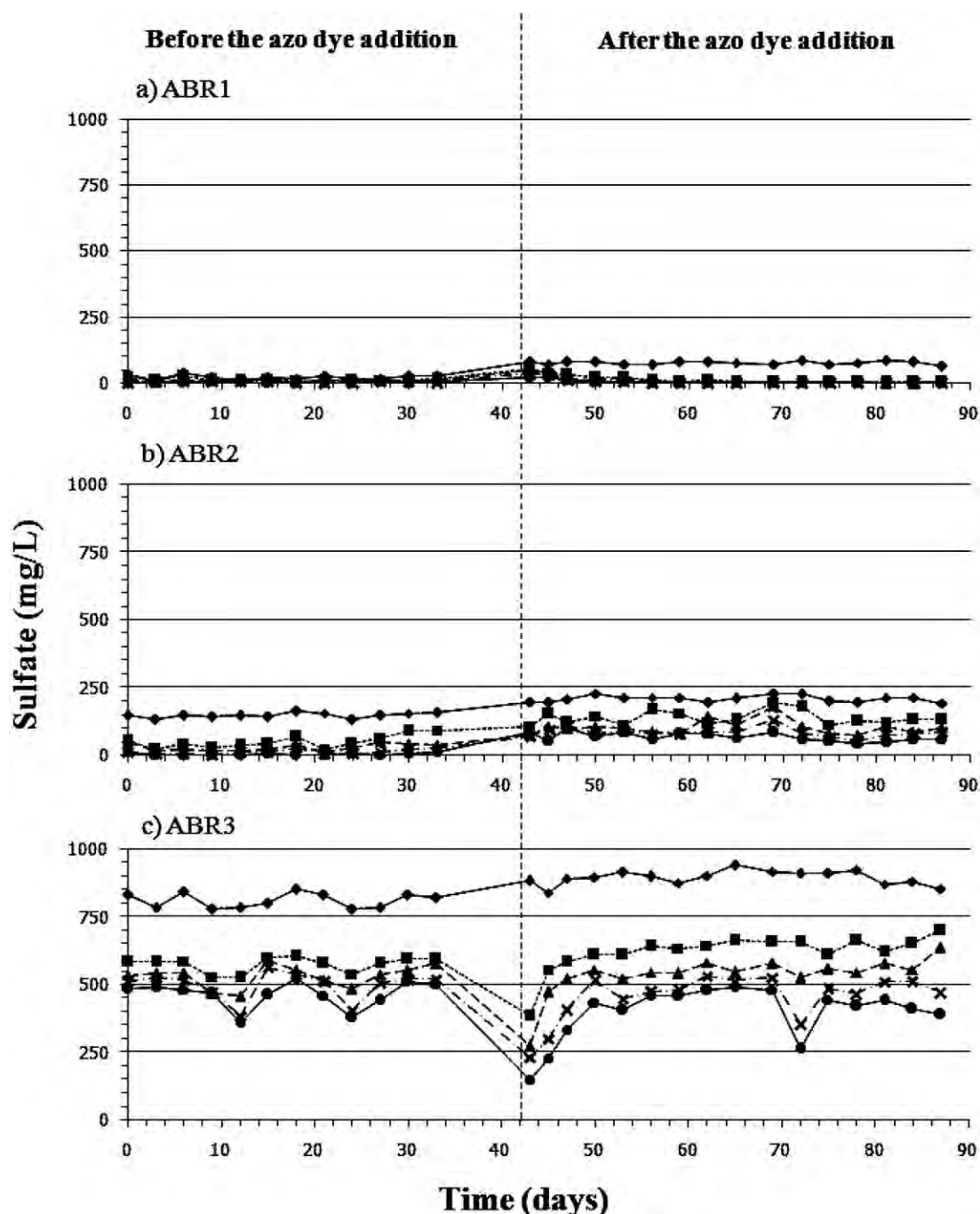


Figure 4. Sulfate concentrations (mg/L) in (a) ABR1 (no sulfate addition), (b) ABR2 (medium-level sulfate), and (c) ABR3 (high-level sulfate): —◆—, Influent;■....., First compartment; ---▲---, Second compartment; ---×---, Third compartment; —●—, Fourth compartment.

sulfate on azo dye decolorization in ABRs but not in UASBs. However, studies on the effects of different operating conditions and configurations of ABRs and UASBs on microbial populations are still lacking.

Since the three ABRs were operated with three different sulfate concentrations, it was expected that different amounts of SRB were likely to exist in these three reactors. It was expected that the amount of SRB in ABR2 and ABR3, in which sulfate was intentionally added in high amounts, would have been greater than the amount of SRB in ABR1. The extent of sulfate removal observed in ABR1, ABR2, and ABR3 (i.e., 72.2 ± 9.09 mg/L, 141 ± 18.9 mg/L, and $502 \pm$

90.7 mg/L, respectively) suggests the expected trend of SRB. The greater extent of sulfate removal in ABR2 and ABR3 compared with ABR1 suggests that ABR2 and ABR3 contained higher amounts of SRB than ABR1. The increase in the SRB population in the second and the third reactors probably contributed to the enhancement of azo dye decolorization. The pure culture of SRB, *Desulfovibrio desulfuricans*, has also been reported to be capable of decolorizing the azo dyes Reactive Orange 96 and Reactive Orange 120 [23]. In addition, bioaugmentation of *D. desulfuricans* in anaerobic sludge has been shown to improve azo dye decolorization in authentic textile wastewater [24].

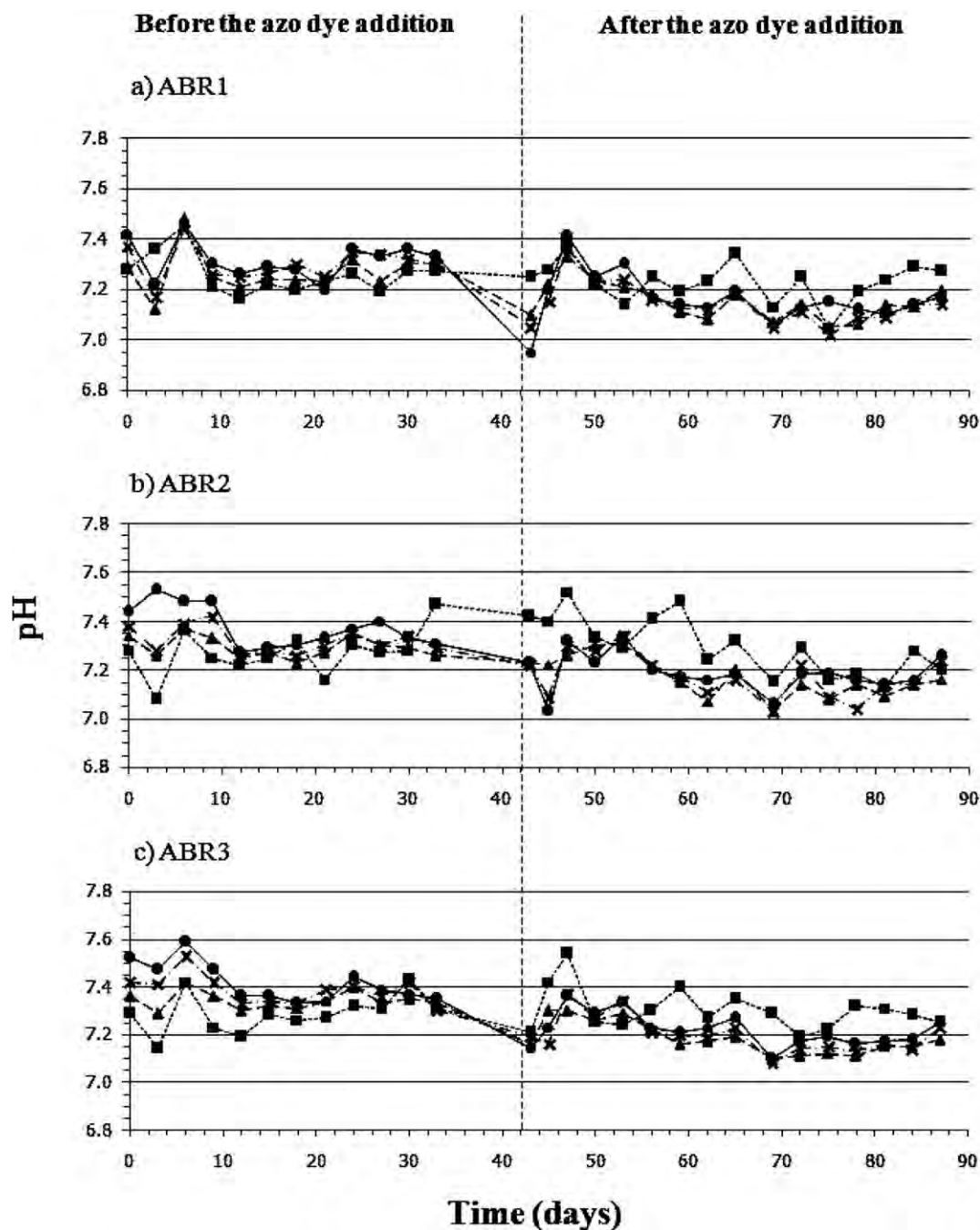


Figure 5. pH values in (a) ABR1 (no sulfate addition), (b) ABR2 (medium-level sulfate), and (c) ABR3 (high-level sulfate):■....., First compartment; ---▲---, Second compartment; ---×---, Third compartment; —●—, Fourth compartment.

However, fermentative bacteria and methanogens were also expected to coexist in these reactors. Since the growth of methanogens is more favorable when sulfate concentrations are low [3], it was expected that ABR1 would contain the greatest number of methanogens with lower numbers in ABR2 and ABR3, respectively. We estimated the percentages of electron equivalents transferred to sulfate reduction compared to the total COD removal after the azo dye was added, which were $(13.2 \pm 1.95)\%$, $(27.0 \pm 3.67)\%$, and $(87.43 \pm 6.24)\%$ in ABR1, ABR2, and ABR3, respectively. The electron equivalents for sulfate reduction were estimated assuming that sulfate is converted to sulfide, as commonly occurs in biological sulfate reduction. The rest of the electron equivalents were expected to be transferred to methane production and biomass produc-

tion. However, the growth yields of anaerobic microorganisms were generally low; thus, these electron equivalents primarily transferred to methane production rather than biomass production. Moreover, only a negligible number of electron equivalents were transferred to azo reduction (2 eq/mol of azo dye reduced). In addition, since methanogens and SRB are not able to utilize sucrose directly as a substrate, fermentative bacteria capable of degrading sucrose to volatile fatty acids and hydrogen gas must also coexist in these systems. Fermentative bacteria may also play important roles in azo dye decolorization, as suggested in dos Santos *et al.* [25].

It should be noted that azo dye decolorization and sulfate reduction occurred simultaneously, suggesting that the presence of azo dyes did not prevent sulfate reduction.

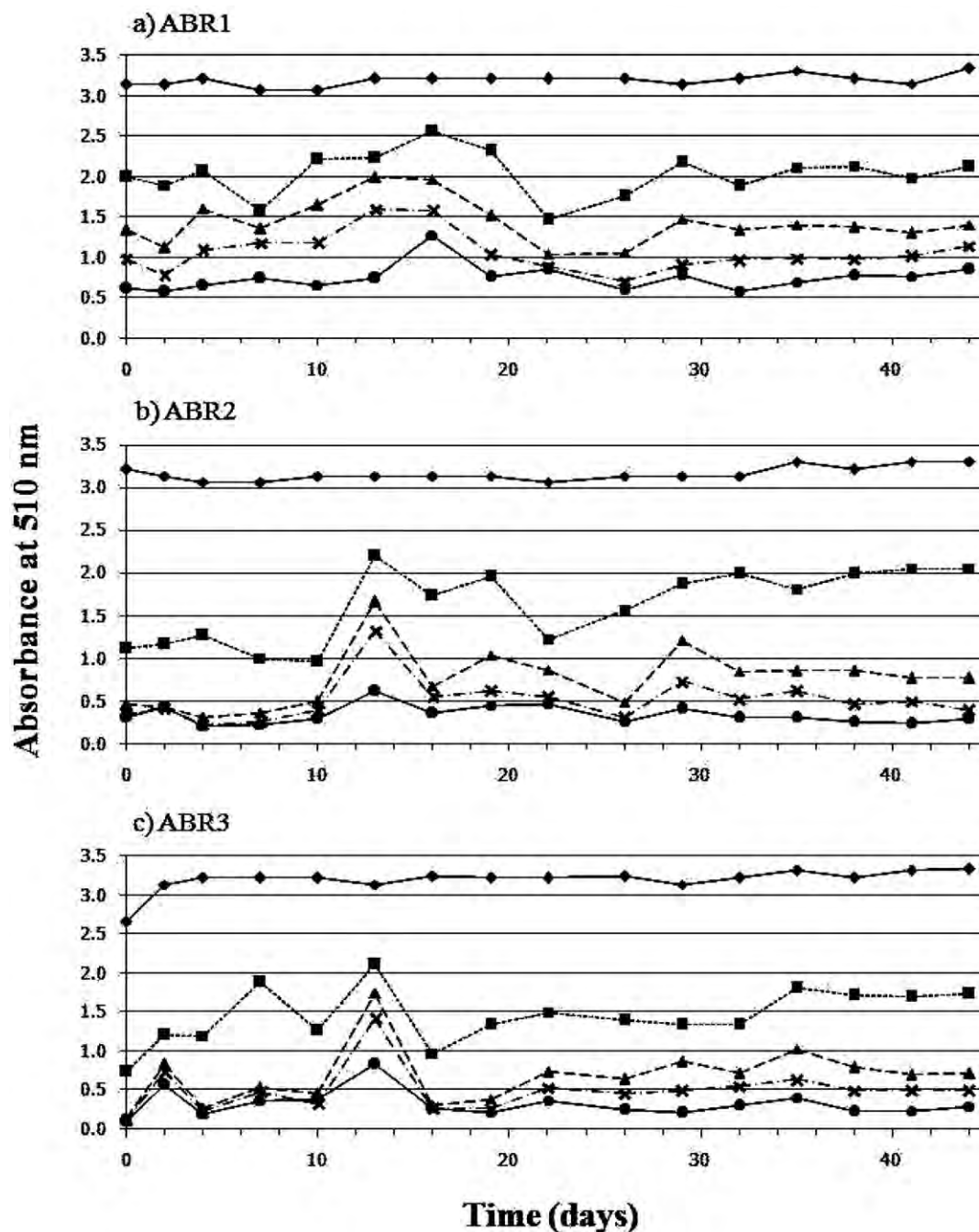


Figure 6. Absorbance at 510 nm in (a) ABR1 (no sulfate addition), (b) ABR2 (medium-level sulfate), and (c) ABR3 (high-level sulfate): —◆—, Influent;■....., First compartment; ---▲---, Second compartment; ---×---, Third compartment; —●—, Fourth compartment.

At the same time, the presence of sulfate did not prevent azo reduction. In contrast, the addition of sulfate enhanced azo dye decolorization in ABRs.

Rates of Azo Dye Decolorization in ABRs

Azo dye decolorization rates in each compartment of the ABRs are summarized in Table 2. The rates of azo dye decolorization in the first compartments of ABR2 and ABR3 are significantly higher than that in the first compartment of ABR1. For all of the three reactors, the rates of azo dye decolorization in the first compartments are higher than those in the other compartments in the same reactor.

Although the assumption that each compartment of the reactors is completely mixed might not be true in terms of the mixing of biomass, the azo dye used in this study appeared to be well mixed in each compartment. The appearance of color appears to be homogenous within each compartment. The assumption that each compartment behaves as a CSTR may be the best among the other ideal types of reactors (i.e., batch reactors and plug-flow reactors).

Adsorption of the Azo Dye by Inactive Biomass

The results suggest that the decolorization of azo dye via the adsorption to biomass was negligible for all of the three reactors (Figure 8).

Table 1. COD removals, sulfate removals, and decolorization efficiencies in each compartment of the ABRs

Reactor	Compartments in ABR	Before the azo dye addition (excluding the start-up period)		After the azo dye addition		
		COD removal (%) (average $\pm$ SD)	Sulfate removal (%) (average $\pm$ SD)	COD removal (%) (average $\pm$ SD)	Sulfate removal (%) (average $\pm$ SD)	Decolorization (%) (average $\pm$ SD)
ABR1 (No sulfate addition)	Compartment 1	49.0 $\pm$ 6.67	48.1 $\pm$ 15.2	36.9 $\pm$ 6.67	82.7 $\pm$ 19.5	36.4 $\pm$ 8.41
	Compartment 2	62.9 $\pm$ 10.7	46.7 $\pm$ 16.6	24.0 $\pm$ 10.8	34.2 $\pm$ 34.5	29.5 $\pm$ 8.42
	Compartment 3	25.6 $\pm$ 14.2	43.3 $\pm$ 43.5	26.5 $\pm$ 8.90	45.3 $\pm$ 40.8	25.8 $\pm$ 7.06
	Compartment 4	27.7 $\pm$ 18.6	N/A	17.8 $\pm$ 8.79	N/A	28.8 $\pm$ 12.8
ABR2 (medium-level sulfate)	Overall	89.4 $\pm$ 1.94	84.5 $\pm$ 9.52	71.7 $\pm$ 2.66	94.7 $\pm$ 8.70	76.7 $\pm$ 5.14
	Compartment 1	55.8 $\pm$ 10.7	58.5 $\pm$ 16.2	39.9 $\pm$ 6.48	33.5 $\pm$ 10.3	48.9 $\pm$ 13.1
	Compartment 2	56.3 $\pm$ 14.3	43.5 $\pm$ 8.69	23.7 $\pm$ 11.1	28.7 $\pm$ 12.9	54.3 $\pm$ 14.1
	Compartment 3	25.4 $\pm$ 14.2	49.5 $\pm$ 20.1	16.5 $\pm$ 7.78	18.7 $\pm$ 10.5	30.5 $\pm$ 11.5
ABR3 (high-level sulfate)	Compartment 4	17.1 $\pm$ 9.56	63.2 $\pm$ 33.8	14.0 $\pm$ 8.52	22.8 $\pm$ 11.5	29.8 $\pm$ 17.2
	Overall	88.9 $\pm$ 1.85	96.8 $\pm$ 2.61	67.7 $\pm$ 3.37	67.6 $\pm$ 7.79	89.4 $\pm$ 3.62
	Compartment 1	53.2 $\pm$ 10.2	28.8 $\pm$ 1.83	41.9 $\pm$ 7.58	30.9 $\pm$ 7.91	55.0 $\pm$ 11.0
	Compartment 2	44.1 $\pm$ 11.8	7.75 $\pm$ 2.91	21.7 $\pm$ 8.20	14.0 $\pm$ 5.31	55.2 $\pm$ 17.6
ABR3 (high-level sulfate)	Compartment 3	14.1 $\pm$ 11.0	6.88 $\pm$ 5.50	12.7 $\pm$ 8.98	15.4 $\pm$ 9.09	24.9 $\pm$ 10.5
	Compartment 4	21.9 $\pm$ 17.9	6.37 $\pm$ 4.53	20.5 $\pm$ 6.58	14.4 $\pm$ 8.66	33.4 $\pm$ 16.7
	Overall	83.5 $\pm$ 2.53	42.7 $\pm$ 5.00	69.0 $\pm$ 2.70	56.2 $\pm$ 10.7	89.9 $\pm$ 5.50

Removal and decolorization efficiencies in each compartment are calculated from:

$$\frac{(\text{concentrations or absorbances in the preceding compartment or influent}) - (\text{concentrations or absorbance in the compartment}) \times 100}{\text{concentrations or absorbances in the preceding compartment or influent}}$$

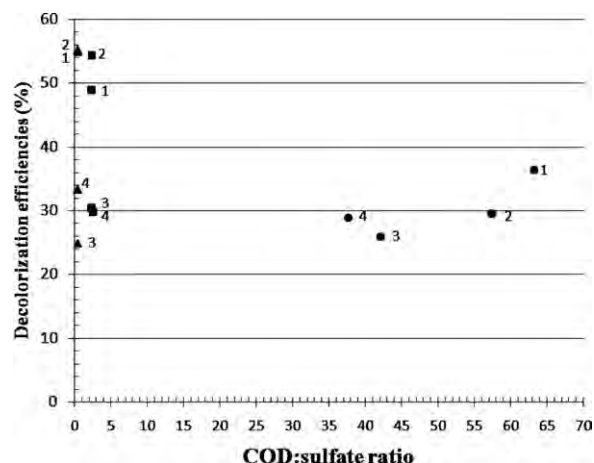


Figure 7. Decolorization efficiencies (%) of each compartment of the ABRs versus the corresponding COD:sulfate ratio in the compartment. ● ABR1 (no sulfate addition); ■ ABR2 (medium-level sulfate, COD:sulfate ratio of 2.5); ▲ ABR3 (high-level sulfate, COD:sulfate ratio of 0.6).

Table 2. The decolorization rates (h^{-1}) in ABR1, ABR2, and ABR3

Reactor	Compartments in ABR	Rates of decolorization (h^{-1})
ABR1 (no sulfate addition)	Compartment 1	0.193 ± 0.0046
	Compartment 2	0.100 ± 0.0296
	Compartment 3	0.061 ± 0.0184
	Compartment 4	0.053 ± 0.0322
ABR2 (medium-level sulfate) (COD/ $\text{SO}_4^{2-} = 2.5$)	Compartment 1	0.257 ± 0.0660
	Compartment 2	0.145 ± 0.0488
	Compartment 3	0.040 ± 0.0233
	Compartment 4	0.029 ± 0.0290
ABR3 (high-level sulfate) (COD/ $\text{SO}_4^{2-} = 0.6$)	Compartment 1	0.296 ± 0.0594
	Compartment 2	0.129 ± 0.0433
	Compartment 3	0.029 ± 0.0200
	Compartment 4	0.029 ± 0.0257

Extracellular Mechanisms of Azo Dye Decolorization

The sterile filtrates through $0.2 \mu\text{m}$ membrane filters were tested for their capabilities to decolorize the azo dye, Acid Red 18. The azo dye decolorization by the filtrates and the mixed liquors obtained from the first compartments of the three reactors is shown in Figure 8. The filtrate from the third reactor decolorized the azo dye to a great extent, while the filtrate from the second reactor decolorized the azo dye to a lesser extent. Decolorization did not occur in the filtrate obtained from ABR1. The capabilities of the sterile filtrates to decolorize the azo dye demonstrate the extracellular mechanisms of azo dye decolorization. The results suggest that extracellular mechanisms were involved in azo dye decolorization in ABR2 and ABR3 but played an important role only in ABR3. On the other hand, decolorization via extracellular mechanisms was considered negligible in ABR1. Extracellular mechanisms of azo dye decolorization could occur via extracellular enzyme cofactors or by biogenic sulfide [13].

The results suggest that the primary decolorization mechanism in ABR1 and ABR2 was a biological process in which the presence of cells was required. On the other hand, decolorization in ABR3 occurred primarily via an extracellular

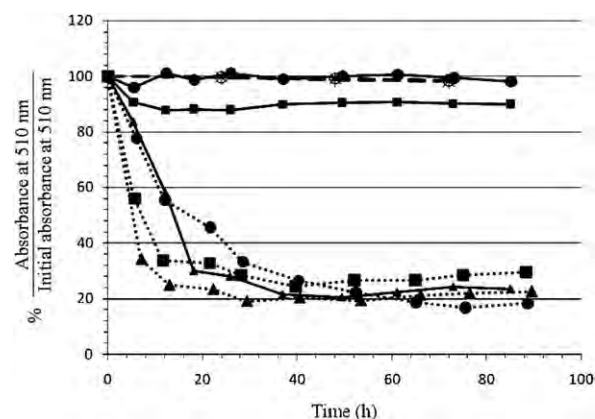


Figure 8. The azo dye decolorization by biomass adsorption, mixed liquors, and the filtrates obtained from the first compartments of the three ABRs: —●—, decolorization by the filtrate from ABR1 (no sulfate addition); —■—, decolorization by the filtrate from ABR2 (COD:sulfate ratio of 2.5); —▲—, decolorization by the filtrate from ABR3 (COD:sulfate ratio of 0.6);●....., decolorization by the mixed liquor from ABR1 (no sulfate addition);■....., decolorization by the mixed liquor from ABR2 (COD:sulfate ratio of 2.5);▲....., decolorization by the mixed liquor from ABR3 (COD:sulfate ratio of 0.6); --○--, decolorization by adsorption to biomass from ABR1 (no sulfate addition); --×--, decolorization by adsorption to biomass from ABR2 (COD:sulfate ratio of 2.5); --+--+, decolorization by adsorption to biomass from ABR3 (COD:sulfate ratio of 0.6).

mechanism, which could have been via biogenic hydrogen sulfide or extracellular enzymes. Although the decolorization efficiencies of ABR2 and ABR3 appear to be the same, the decolorization mechanisms within these two reactors seem to be different. Sulfate reduction occurred to a much greater extent in ABR2 than in ABR3. The microbial communities in ABR2 and ABR3 were also likely to be different. However, it is possible that the extracellular mechanisms in ABR2, though only to a small extent, might have helped enhance the decolorization efficiency in ABR2, resulting in ABR2 exhibiting greater decolorization efficiency than ABR1, in which no extracellular mechanisms were observed.

The results from this study suggested that azo dye decolorization in ABRs can be enhanced via the supplements of sulfate. However, azo dyes cannot be completely mineralized under anaerobic conditions; intermediates, such as aromatic amines, were likely to be formed, requiring further aerobic treatment for complete mineralization [1, 2]. It should also be noted that real textile industry wastewater could contain various compounds that may inhibit certain biological processes. Further studies are still required to investigate the applicability of this process to real textile industry wastewaters. Moreover, the production of sulfide from the process can create concerns about odor and corrosion problems although it can be removed in a typical aerobic treatment system. In addition, the presence of sulfate in the system can cause inefficiency in methanogenic activity and lower the methane production yield in anaerobic bioreactors.

CONCLUSIONS

The azo dye decolorization efficiencies of the ABRs supplemented with sulfate at the COD:sulfate ratios of 2.5 [$89.4 \pm 3.62\%$] and 0.6 [$89.9 \pm 5.50\%$] were greater than that of the ABR in which sulfate was only present in a small amount due to the impurities of the azo dye [$76.7 \pm 5.14\%$]. This

finding suggests that the addition of sulfate can enhance the decolorization efficiencies of ABRs. Adsorption of the azo dye to biomass was negligible in all of these reactors. Biological processes with the presence of cells appear to be the primary mechanisms for azo dye decolorization in the ABRs with the COD:sulfate ratio of 2.5 and in the ABR with no sulfate added. However, azo dye decolorization in the ABR with a COD:sulfate ratio of 0.6 can occur to a great extent in the absence of cells, suggesting the involvement of extracellular mechanisms.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was funded by the Thailand Research Fund, Thailand under grant no. MRG5480154. The authors wish to thank San E. 68 Lab Co., Ltd. for providing the seeds for the ABRs. They also thank the anonymous reviewers for their thoughtful recommendations, which significantly improved the manuscript.

LITERATURE CITED

1. Stolz, A. (2001). Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56, 69–80.
2. van der Zee, F.P. & Villaverde, S. (2005). Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes: A short review of bioreactor studies, *Water Research*, 39, 1425–1440.
3. Lopes, S.I.C., Wang, X., Capela, M.I., & Lens, P.N.L. (2007). Effect of COD/SO₄²⁻ ratio on thermophilic (55°C) sulfate reduction during the acidification of sucrose at pH 6, *Water Research*, 41, 2379–2392.
4. Reilly, C.O. & Collier, E. (2006). Effect of influent COD/SO₄²⁻ ratios on mesophilic anaerobic reactor biomass populations: Physico-chemical and microbiological properties, *FEMS Microbiology Ecology*, 56, 41–153.
5. Ren, N.Q., Chua, H., Chun, S.Y., Tsang, Y.F., & Sin, N. (2007). Effect of COD/SO₄²⁻ ratios on an acidogenic sulfate-reducing reactor, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 46, 1661–1666.
6. Velasco, A., Ramirez, M., Volke-Sepulveda, T., Gonzalez-Sanchez, A., & Revah, S. (2008). Evaluation of feed COD/sulfate ratio as a control criteria for the biological hydrogensulfide production and lead precipitation, *Journal of Hazardous Materials*, 151, 407–413.
7. Wang, A., Ren, N., Wang, X., & Lee, D. (2008). Enhanced sulfate reduction with acidogenic sulfate-reducing bacteria, *Journal of Hazardous Materials*, 154, 1060–1065.
8. Albuquerque, M.G.E., Lopes, A.T., Serralheiro, M.L., Novais, J.M., & Pinheiro, H.M. (2005). Biological sulphate reduction and redox mediator effects on azo dye decolourisation in anaerobic-aerobic sequencing batch reactors. *Enzyme and Microbial Technology*, 26, 790–799.
9. Carliell, C.M., Barclay, S.J., Naidoo, N., Buckley, C.A., Mulholland, D.A., & Senior, E. (1995). Microbial decolourisation of a reactive azo dye under anaerobic conditions, *Water SA*, 21, 61–69.
10. Carliell, C.M., Barclay, S.J., Shaw, C., Wheatley, A.D., & Buckley, C.A. (1998). The effects of salts used in textile dyeing on microbial decolourisation of a reactive azo dye, *Environmental Technology*, 19, 1133–1137.
11. Cervantes, F.J., Enriquez, J.E., Mendoza-Hernandez, M.R., Razo-Flores, E., & Field, J.A. (2006). The role of sulphate reduction on the reductive decolorization of the azo dye reactive orange 14, *Water Science and Technology*, 54, 171–177.
12. Cervantes, F.J., Enriquez, J.E., Galindo-Petatan, E., Arvayo, H., Razo-Flores, E., & Field, J.A. (2007). Biogenic sulphide plays a major role on the riboflavin-mediated decolourisation of azo dyes under sulphate-reducing conditions, *Chemosphere*, 68, 1082–1089.
13. Panswad T. & Luangdilok, W. (2000). Decolorization of reactive dyes with different molecular structures under different environmental conditions, *Water Research*, 34, 4177–4184.
14. van der Zee, F.P., Bisschops, I.A.E., Blanchard, V.G., Bouwman, R.H.M., Lettinga, G., & Field, J.A. (2003). The contribution of biotic and abiotic processes during azo dye reduction in anaerobic sludge, *Water Research*, 37, 3098–3109.
15. Barber, W.P. & Stuckey, D.C. (1999). The use of the anaerobic baffled reactor (ABR) for wastewater treatment: A review, *Water Research*, 33, 1559–1578.
16. Bell, J., Plumb, J.J., Buckley, C.A., and Stuckey, D.C. (2000). Treatment and decolorization of dyes in an anaerobic baffled reactor. *Journal of Environmental Engineering*, 126, 1026–1032.
17. Plumb, J. J., Bell, J., & Stuckey, D.C. (2001). Microbial populations associated with treatment of an industrial dye effluent in an anaerobic baffled reactor, *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 3226–3235.
18. Bell, J. & Buckley, C.A. (2003). Treatment of a textile dye in the anaerobic baffled reactor, *Water SA* 29, 129–134.
19. Naimabadi, A., Attar, M.H., & Shahsavani, A. (2009). Decolorization and biological degradation of azo dye reactive Red2 by anaerobic/aerobic sequential process, *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 6, 67–72.
20. Zawadzka, A.M., Crawford, R.L., & Paszczynski, A.J. (2006). Pyridine-2-6-bis(thiocarboxylic acid) produced by *Pseudomonas stutzeri* KC reduces and precipitates selenium and tellurium oxyanions, *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 3119–3129.
21. Shiang Fu, Q., Boonchayaanant, B., Tang, W., Trost, B.M., & Criddle, C.S. (2009). Simple menaquinones reduce carbon tetrachloride and iron (III), *Biodegradation*, 20, 109–116.
22. APHA, AWWA, & WEF. (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater (21st Edition), Washington DC: American Public Health Association.
23. Yoo, E.S., Libra, J., & Wiesmann, U. (2000). Reduction of azo dyes by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Water Science and Technology*, 41, 15–22.
24. Kim, S.Y., An, J.Y., & Kim, B.W. (2007). Improvement of the decolorization of azo dye by anaerobic sludge bio-augmented with *Desulfovibrio desulfuricans*, *Biotechnology and Bioengineering*, 12, 222–227.
25. dos Santos, A.B., de Madrid, M.P., de Bok, F.A.M., Stams, A.J.M., van Lier, J.B., & Cervantes, F.J. (2006). The contribution of fermentative bacteria and methanogenic archaea to azo dye reduction by a thermophilic anaerobic consortium. *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 38–46.