

การย่อยสลายกรดฮิวมิกในสารละลายด้วยปฏิกิริยาเฟนตันและเทคนิคทางจุลชีววิทยา

ทศวัตต์ สุชัยยะ¹⁾ ประภากร กรงทอง¹⁾ ณัฐวรรณ ยศวัฒน์²⁾ และ วรนาถ จงเลิศจรรยา^{* 2)}

บทคัดย่อ

สารประกอบฮิวมิกเป็นองค์ประกอบในดิน ตะกอนและน้ำ (น้ำบาดาลและน้ำผิวดิน) ซึ่งสารประกอบฮิวมิกเกิดจากการย่อยสลายของเซลลูโลส เซลลูลอส และจุลินทรีย์ ในกระบวนการคลอรีเนชัน (Chlorination) ของระบบการบำบัดน้ำประปา สารประกอบฮิวมิกจะทำปฏิกิริยาให้เกิดสารประกอบไตรฮาโลมีเทน (Trihalomethanes) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งตามนิยามของ US Environmental Protection Agency (US EPA) การย่อยสลายกรดฮิวมิกในสารละลายกรดฮิวมิกด้วยวิธีการใช้เทคนิคเฟนตันและเทคนิคทางจุลชีววิทยา ปฏิกิริยาเฟนตันคือการใช้ไฮดรอกซิลเรดิคัลที่ได้จากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำปฏิกิริยากับเฟอร์รัสไอออนซึ่งไฮดรอกซิลเรดิคัลจะเป็นตัวออกซิเดชันที่ดีสำหรับการทำลายสารอินทรีย์เป็นพิษ งานวิจัยนี้ศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง และอัตราส่วนของโดยโมลของสารละลายเฟนตันในการย่อยสลายกรดฮิวมิกในสารละลาย จากผลการทดลองการย่อยสลายกรดฮิวมิกที่เหมาะสมที่สุดเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.0 และอัตราส่วนโดยโมลอัตราส่วนของฮิวมิกต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อเฟอร์รัสไอออน ($\text{HA}:\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) เท่ากับ 1:560:140 โดยเมื่อใช้เวลาทำปฏิกิริยา 180 นาที จะให้ค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายกรดฮิวมิกได้สูงที่สุดคือ 66 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการย่อยสลายกรดฮิวมิกในสารละลายกรดฮิวมิกด้วยวิธีการทางจุลชีววิทยาโดยจุลินทรีย์สองสายพันธุ์ได้แก่ *Pseudomonas fluorescens* (*P. fluorescens*) และ *Lactococcus lactis* (*L. lactis*) พบว่าการย่อยสลายกรดฮิวมิกในสารละลายได้สูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ *P. fluorescens* สายพันธุ์เดียวภายใน 27 วัน

คำสำคัญ: กรดฮิวมิก ปฏิกิริยาเฟนตัน *Pseudomonas fluorescens* *Lactococcus lactis*

¹⁾ นักศึกษาปริญญาตรี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม 73170

อีเมล: p_suchaiya@hotmail.com, killua_zoldick30@hotmail.com

²⁾ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม 73170

อีเมล: egnyw@mahidol.ac.th, egwjl@mahidol.ac.th

* corresponding author

Degradation of Humic acid from aqueous solution by Fenton reaction and microbiological technique

Thassawathas Suchaiya¹⁾, Prapakorn Krongthong¹⁾, Nuttawan Yoswathana²⁾ and Woranart Jonglertjunya^{* 2)}

Abstract

Humic substances (HS) are the components in soils, sediments, and waters (ground and surface water) and they are formed by the decay of plant, animal and microbial cell. The presence of humic substances may result in the formation of trihalomethanes (THMs) during the chlorination process in drinking water supplies. THMs are identified as a human carcinogen compound by the US Environmental Protection Agency (US EPA). The degradation of humic acid (HA) from synthetic humic acid solutions was carried out by Fenton reaction and microbiological technique. The Fenton reaction is the formation of hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}$) from the catalytic decomposition of hydrogen peroxide (H_2O_2) by soluble ferrous ion (Fe^{2+}). The hydroxyl radicals ($\bullet\text{OH}$) is a strong oxidizing agent for the destruction of organic pollutants. At pH 3.0 of Fenton solution showed the maximum percentage of HA solution removal from the humic acid solution. The optimal ratio of $\text{HA}:\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$ for extracted HA solution appeared to be 1:560:140 giving the maximum HA removal of 66 % at reaction time of 180 minutes. The two microorganisms; *Pseudomonas fluorescens* (*P. fluorescens*) and *Lactococcus lactis* (*L. lactis*) were evaluated for degradation of HA. The highest HA removal from solution was observed when *P. fluorescens* was used as a single culture, with 33% efficiency within 27 days treatment.

Keywords: Humic acid, Fenton reaction, *Pseudomonas fluorescens*, *Lactococcus lactis*

¹⁾ Undergraduate Students, Department of Chemical Engineering, Mahidol University, Nakhon Pathom 73170, E-mail: p_suchaiya@hotmail.com, killua_zoldick30@hotmail.com

²⁾ Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Mahidol University, Nakhon Pathom 73170, E-mail: egnyw@mahidol.ac.th, egwjl@mahidol.ac.th

* corresponding author

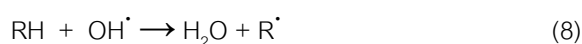
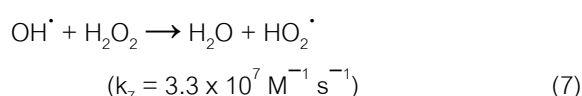
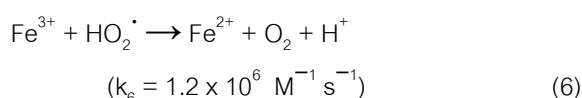
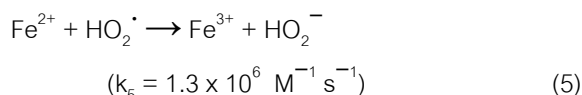
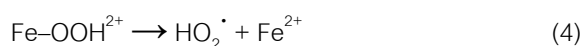
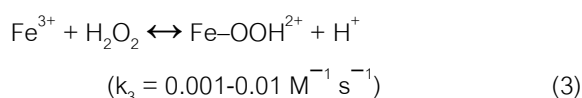
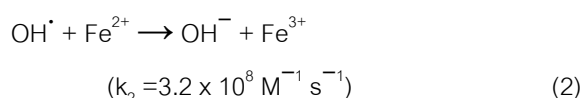
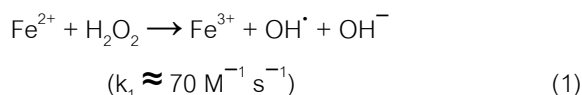
1. บทนำ

น้ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการดำเนินชีวิตของมนุษย์ ความต้องการใช้น้ำทั้งเพื่อการอุปโภคและบริโภคในปัจจุบันมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นจากผลของการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากร ผลกระทบจากมลภาวะต่างๆ ที่เกิดขึ้นไม่ว่าจะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติหรือเกิดจากการกระทำของมนุษย์เอง ส่งผลกระทบต่อแหล่งน้ำสะอาด ดังนั้นการจัดหาแหล่งน้ำสะอาดจึงเป็นเรื่องที่สำคัญมากสำหรับแหล่งน้ำดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำประปานั้น ส่วนใหญ่มาจากน้ำผิวดิน ซึ่งจะมีทั้งส่วนที่เป็นสารอินทรีย์และอินทรีย์ปะปนอยู่ โดยส่วนที่เป็นสารอินทรีย์นั้นส่วนใหญ่จะมีแหล่งกำเนิดมาจาก ดิน พืช หรือปนเปื้อนมาจากน้ำทิ้งของชุมชนและน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรม สารเหล่านี้เกิดจากการเน่าเปื่อยย่อยสลายของพืช ทำให้น้ำมีสีเหลืองไปจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ซึ่งสารส่วนใหญ่จะเป็นสารฮิวมิก (Humic substance) สารฮิวมิกเป็นตัวทำให้เกิดสีขึ้นในน้ำ น้ำที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูงจะมีสีน้ำตาลเข้ม ซึ่งสารฮิวมิกสามารถพบได้ในดิน ทะเลสาบ น้ำใต้ดิน แม่น้ำ และทะเล

สารฮิวมิกสามารถจำแนกได้ 3 องค์ประกอบ ได้แก่ กรดฮิวมิก (Humic acid), กรดฟุลวิก (Fulvic acid) และฮิวมิน (Humin) โดยปกติกรดฮิวมิกเป็นสารที่ไม่มีพิษไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ แต่หากกรดฮิวมิกทำปฏิกิริยากับสารฮาโลเจน เช่นในกระบวนการคลอรีนชัน (Chlorination) ของระบบการทำน้ำประปาจะทำให้เกิดสารประกอบไตรฮาโลมีเทน (Trihalomethanes) เป็นสารก่อมะเร็งจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพภายใต้การกำหนดของ US Environmental Protection Agency (US EPA) ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ในบางประเทศได้มีการกำหนดมาตรฐานของปริมาณไตรฮาโลมีเทน (THMs) ในน้ำดื่มไว้ เช่น สหรัฐอเมริกา โดย US EPA และประเทศอังกฤษให้มีได้ไม่เกิน 0.10 mg/l ขณะที่ประเทศเยอรมันกำหนดค่ามาตรฐานไว้ที่ 0.025 mg/l สำหรับมาตรฐานคุณภาพน้ำดื่มขององค์การอนามัยโลก (WHO) ในปี 1993 ได้กำหนดค่าความเข้มข้นของคลอโรฟอร์มและโบโรไมโดคลอโรมีเทน ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม THMs เท่ากับ 0.20 และ 0.06

mg/l ตามลำดับ ซึ่งหากผู้บริโภคหนึ่งแสนคนดื่ม น้ำที่มียคลอโรฟอร์มเข้มข้น 0.20 mg/l หรือโบโรไมโดคลอโรมีเทนเข้มข้น 0.06 mg/l เป็นเวลาต่อเนื่องกัน 70 ปี จะมีโอกาสเป็นมะเร็ง 1 คน

ปฏิกิริยาเฟนตัน คือการรวมกันของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และ เฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) จากปฏิกิริยาเฟนตัน (แสดงดังในสมการที่ (1) – (7), Neyens and Baeyens, 2003) จะได้ผลิตภัณฑ์ที่สำคัญ คืออนุมูลอิสระของไฮดรอกซิล ($\cdot OH$) ในสมการที่ (1) ซึ่งสามารถออกซิไดซ์สารอินทรีย์เช่นกรดฮิวมิกได้ดี ยกตัวอย่างการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ (RH) ดังแสดงในสมการที่ (8) (Neyens and Baeyens, 2003)



สำหรับการย่อยสลายกรดฮิวมิกด้วยแบคทีเรียที่ศึกษาโดย Benz *et al*, 1998 ในการย่อยสลายโดยใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *P. freudenrichii*, *L. lactis*, *E. cecorum* และ *E. coli* พบว่า *P. freudenrichii* สามารถใช้ลดปริมาณของกรดฮิวมิกได้ถึง 43% ของทั้งหมด ส่วนแบคทีเรียชนิดอื่นๆนั้นสามารถใช้ลดปริมาณของกรดฮิวมิกได้เพียง 34% แต่สำหรับ *E. coli* ไม่สามารถที่จะใช้ในการลดปริมาณของกรดฮิวมิกได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาการย่อยสลายกรดฮิวมิกในสารละลายด้วยวิธีการใช้สารละลายเฟนตัน และเทคนิคทางจุลชีววิทยา ซึ่งเป็นการทำปฏิกิริยาเฟนตันเป็นปฏิกิริยาระหว่างสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารเฟอร์รัสไอออน เพื่อหาอัตราส่วนโดยโมลและค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม ในการบำบัดสารละลายกรดฮิวมิก และการใช้จุลินทรีย์ในการบำบัดเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้จุลินทรีย์สองสายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas fluorescens* (*P. fluorescens*) และ *Lactococcus lactis* (*L. lactis*) เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี

2. วัสดุและวิธีการทดลอง

2.1 สารละลายมาตรฐานกรดฮิวมิก

กรดฮิวมิก (ในสถานะของแข็ง) ซื้อมาจากบริษัท Sigma Aldrich ทำการทดลองโดยเตรียมสารละลายกรดฮิวมิก (HA) 100 mg/l ในสารละลายน้ำกลั่นที่ใช้สารละลาย 0.5M NaOH ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 11 แล้วทำการกรองสารละลายและเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นสารละลายกรดฮิวมิก (HA) 10, 15, 20, 25 และ 30 mg/l

2.2 การวิเคราะห์กรดฮิวมิก

สารละลายกรดฮิวมิกที่ค่าความเข้มข้นต่างๆวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV/VIS spectrophotometer (Spectrumlab 752s) ที่ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 272 nm (Traina *et al.*, 1989, Haderlein *et al.*, 2001, Young *et al.*, 2004).

2.3 การย่อยสลายกรดฮิวมิกด้วยสารละลายเฟนตัน

2.3.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

ผสมสารละลายกรดฮิวมิก (HA) 50 mg/l กับ สารละลายเฟนตัน ($\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) โดย H_2O_2 และ Fe^{2+} มีความเข้มข้น 0.097 และ 0.02 โมลาร์ ตามลำดับ ด้วยอัตราส่วนโดยโมล 1:560:112 ($\text{HA}:\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 2.5 ด้วย 0.5 โมลาร์ H_2SO_4 หลังจากนั้นกวนสารละลายด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที ทำการทดลองซ้ำโดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3 และ 3.5

หมายเหตุ เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างมากกว่า 3.5 จะทำให้เกิดการตกตะกอนของเหล็ก

2.3.2 ค่าอัตราส่วนของสารละลายเฟนตัน

ผสมสารละลายกรดฮิวมิก 50 mg/l กับสารละลายเฟนตันด้วยอัตราส่วนโดยโมล 1:560:560 ($\text{HA}:\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่สุดจากผลการทดลองของ 2.3.1 ด้วย H_2SO_4 หลังจากนั้นกวนสารละลายด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที ทำการทดลองซ้ำโดยการปรับอัตราส่วนสารละลายเฟนตัน ($\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) เป็น 2:1, 4:1, 5:1 และ 10:1

2.3.3 ค่าอัตราส่วนของกรดฮิวมิกต่อสารละลายเฟนตัน

เตรียมสารละลายเฟนตัน $\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$ ที่อัตราส่วนที่เหมาะสมจากผลการทดลอง 2.3.2 ผสมสารละลายกรดฮิวมิก 50mg/l กับสารละลายเฟนตันที่อัตราส่วน 0.5:560:140 ปรับ pH ที่เหมาะสมที่สุดจากผลการทดลอง 2.3.1 ด้วย H_2SO_4 หลังจากนั้นกวนสารละลายด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที ทำการทดลองซ้ำโดยปรับอัตราความเข้มข้นของสารละลายกรดฮิวมิกต่อ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($\text{HA}:\text{H}_2\text{O}_2$) เป็น 1:560, 1.5:560 และ 2:560

2.3.4 ขั้นตอนการวัดผล

ทำการเก็บตัวอย่างมา 2 มิลลิลิตรในแต่ละช่วงเวลา แล้วเติมโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.05 มิลลิลิตร เพื่อหยุดการทำปฏิกิริยาในแต่ละช่วงเวลา (Khan *et al.*, 2009) และนำมาเจือจางในอัตราส่วน 1:5 ด้วยน้ำกลั่น และทำการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ทำการเก็บตัวอย่างจนครบเวลา 180 นาที แล้วนำสารละลายวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 272 nm ด้วยเครื่อง UV/VIS spectrophotometer คำนวณค่าที่ได้โดยเทียบกราฟมาตรฐาน

2.4 การย่อยสลายกรดฮิวมิกด้วยจุลินทรีย์

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ สำหรับจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ใช้อาหาร Nutrient Broth (NB) และ สำหรับจุลินทรีย์ *L. lactis* ใช้อาหาร MRS Medium ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 และเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้มีสภาวะการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิแตกต่างกันโดย *P. fluorescens* จะเจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิ 30°C

ส่วน *L. lactis* นั้นสามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 37 °C จึงทำให้ในการทดลองผสมสองสายพันธุ์ในอัตราส่วน 1:1 ทำการทดลองที่ทั้งสองอุณหภูมิ

2.4.1 การย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ *L. lactis*

เตรียมสารละลายกรดฮิวมิกความเข้มข้น 50 mg/l ปริมาตร 270 ml ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 ml โดยทำการทดลอง 4 ข้าง ซ้ำ เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที เติมเชื้อจุลินทรีย์ *L. lactis* ที่มีความเข้มข้น 3.97×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 30 มิลลิลิตรต่อหนึ่งขวดรูปชมพู่ ปิดฝาเกลียวเนื่องจาก *L. lactis* เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต เข้าเครื่อง Incubator โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 37 °C แล้วเก็บตัวอย่างตามระยะเวลา โดยนำมาเจือจาง 5 เท่าด้วยน้ำกลั่น แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่นไว้ที่ 272 nm

2.4.1 การย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ *P. fluorescens*

เตรียมสารละลายกรดฮิวมิกความเข้มข้น 50 mg/l ปริมาตร 270 ml ในขวดรูปชมพู่ปิดด้วยจุกสำลี เนื่องจาก *P. fluorescens* ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ขนาด 500 ml โดยทำการทดลอง 4 ข้าง ซ้ำ เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนด้วยเครื่อง Autoclave เติมเชื้อจุลินทรีย์ *P. fluorescens* ที่มีความเข้มข้น 1.07×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 30 มิลลิลิตรต่อหนึ่งขวดรูปชมพู่ เข้าเครื่อง Rotary Shaker โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 30 °C และเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที แล้วเก็บตัวอย่างตามระยะเวลาโดยนำมาเจือจาง 5 เท่าด้วยน้ำกลั่น แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่นไว้ที่ 272 nm

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 ผลกระทบของค่าความเป็นกรด-ด่างในการย่อยสลายกรดฮิวมิก

การศึกษาผลกระทบของค่าความเป็นกรด-ด่างในการย่อยสลายกรดฮิวมิก ในการทดลอง 3 ค่าคือที่ pH 2.5, 3, 3.5 โดยใช้อัตราส่วนโมลของกรดฮิวมิกต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และต่อเฟอร์รัสไอออน ($\text{HA:H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) คงที่คือ 1:560:112 ในทุกการทดลอง ได้ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งพบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเวลาในการทำ

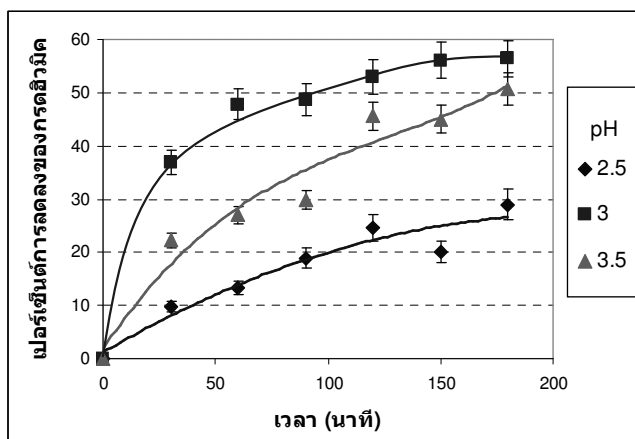
ปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นสามารถกำจัดกรดฮิวมิกได้มากขึ้น โดยที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 2.5 จะสามารถกำจัดกรดฮิวมิกได้ร้อยละ 28 ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.5 สามารถกำจัดกรดฮิวมิกได้ร้อยละ 51 และที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3 สามารถกำจัดกรดฮิวมิกได้สูงที่สุด โดยสามารถกำจัดได้ร้อยละ 56

การที่ปฏิกิริยาเฟนตันจะต้องมีค่าความเป็นกรด-ด่างเหมาะสมกับปฏิกิริยา เนื่องจากเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าสูง จะทำให้เฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) ซึ่งอยู่ในรูป $\text{Fe}(\text{OH})_3$ จะไม่ทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 (Neyens and Baeyens, 2003) ดังนั้นก็จะทำให้ประสิทธิภาพของสารละลายเฟนตัน ในการย่อยสลายกรดฮิวมิกลดลง และในทางตรงกันข้ามที่ค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าต่ำ ทำให้มีค่าความเข้มข้นของ H^+ สูง แล้วทำให้ Fe-OOH^{2+} จะแตกตัวให้ Fe^{2+} น้อย (Neyens and Baeyens, 2003) ทำให้ไฮดรอกซิลเรดิคัล ($\text{OH}^\cdot$) เกิดขึ้นน้อยลง ดังนั้นทำให้ประสิทธิภาพของสารละลายเฟนตันในการย่อยสลายกรดฮิวมิกลดลง

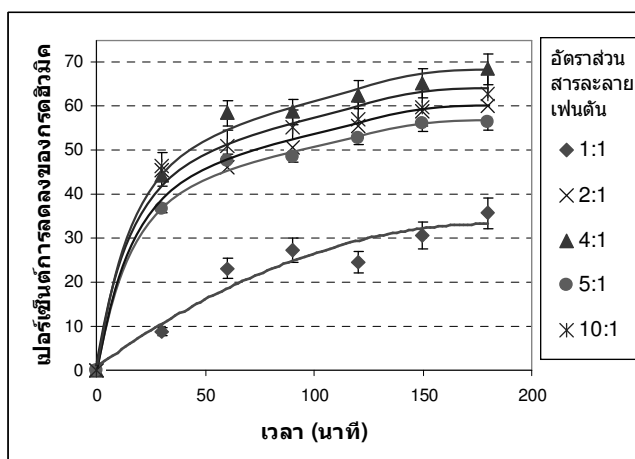
3.2 ผลกระทบของอัตราส่วนของสารละลายเฟนตันในการย่อยสลายกรดฮิวมิก

อัตราส่วนระหว่าง ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อเฟอร์รัสไอออน ($\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) ถูกทำการทดลองที่ 1:1, 2:1, 4:1, 5:1 และ 10:1 โดยที่ควบคุมอัตราส่วนระหว่างกรดฮิวมิกต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($\text{HA:H}_2\text{O}_2$) คงที่ที่ 1:560 และค่าความเป็นกรด-ด่าง คือ 3 ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งพบว่า เมื่อเวลาในการทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นสามารถกำจัดกรดฮิวมิกได้มากขึ้น และจะเริ่มคงที่ตั้งแต่เวลาที่ 60 จนถึงเวลาที่ 180 โดยสามารถกำจัดกรดฮิวมิกได้ร้อยละ 35, 60, 66, 56 และ 63 ที่อัตราส่วนของกรดฮิวมิกต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อเฟอร์รัสไอออน

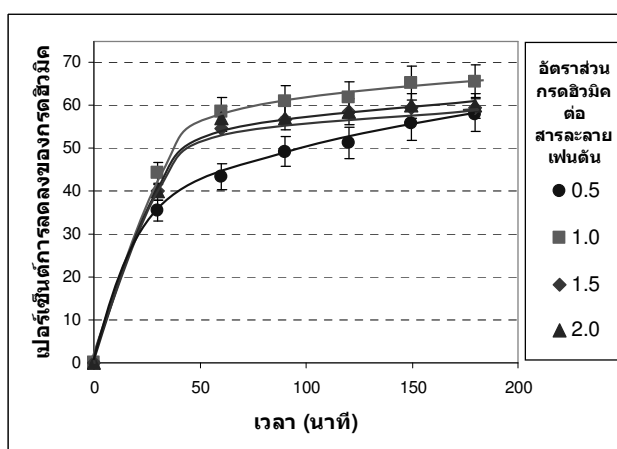
($\text{HA:H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) คือ 1:560:560, 1:560:280, 1:560:140, 1:560:112 และ 1:560:56 ตามลำดับ โดยที่อัตราส่วนระหว่าง ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อเฟอร์รัสไอออน ($\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) คือ 4:1 สามารถย่อยสลายกรดฮิวมิกได้สูงสุดคือ ร้อยละ 66



รูปที่ 1 ผลกระทบของค่าความเป็นกรด-ด่างในการย่อยสลายกรดฮิวมิกด้วยสารละลายเฟนตัน



รูปที่ 2 ผลกระทบของอัตราส่วนของสารละลายเฟนตันในการย่อยสลายกรดฮิวมิก



รูปที่ 3 ผลกระทบของอัตราส่วนของความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดฮิวมิกต่อสารละลายเฟนตันในการย่อยสลายกรดฮิวมิก

จากสมการที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาเฟนตันในบทนำ สมการที่ (1) – (7) (Neyens and Baeyens, 2003) จะมีทั้งปฏิกิริยาที่ส่งเสริมให้เกิดการผลิตไฮดรอกซิลเรดิคัล ($\text{OH}^\cdot$) และปฏิกิริยาตรงกันข้ามให้ปริมาณไฮดรอกซิลเรดิคัล ($\text{OH}^\cdot$) น้อยลง ซึ่งค่าตัวแปรต่างๆเช่น ปริมาณกรด-ต่าง ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสไอออน ก็จะส่งผลทำให้การมีปริมาณไฮดรอกซิลเรดิคัล ($\text{OH}^\cdot$) มากหรือน้อยได้ ซึ่งปริมาณไฮดรอกซิลเรดิคัล ($\text{OH}^\cdot$) ก็จะมีผลต่อปฏิกิริยาการกำจัดสารอินทรีย์ทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดสารอินทรีย์กรดฮิวมิกเพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ ดังนั้นในการทำปฏิกิริยาของสารละลายเฟนตันกับกรดฮิวมิกปริมาณหนึ่งๆ ก็จะมีค่าปริมาณตัวแปรต่างๆ เช่น ปริมาณกรด-ต่าง ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเฟอร์รัสไอออน ที่เหมาะสมค่าหนึ่งๆ

ปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อเฟอร์รัสไอออนทำให้เกิดไฮดรอกซิลเรดิคัล ($\text{OH}^\cdot$) ขึ้น เมื่อเติมเฟอร์รัสไอออนปริมาณมากขึ้น จะมีปริมาณของเฟอร์รัสไอออนเหลือให้ ทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซิลเรดิคัล ($\text{OH}^\cdot$) ที่เกิดขึ้นดังสมการที่ (2) – (7) (Neyens and Baeyens, 2003) ดังแสดงข้างต้นในบทนำ จึงส่งผลให้ความสามารถในการย่อยสลายกรดฮิวมิกลดลงแต่ในทางกลับกันเมื่อเฟอร์รัสไอออนลดลงจะมีปริมาณเฟอร์รัสไอออนน้อยมากเกินไป ซึ่งเฟอร์รัสไอออนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นจึงทำให้เกิดไฮดรอกซิลเรดิคัล ($\text{OH}^\cdot$) น้อยเช่นกันดังสมการ (1) ส่งผลให้ความสามารถในการย่อยสลายกรดฮิวมิกลดลงเช่นกัน

3.3 ผลกระทบของอัตราส่วนของกรดฮิวมิกต่อสารละลายเฟนตันในการย่อยสลายกรดฮิวมิก

กรดฮิวมิกถูกย่อยสลายโดยการใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดฮิวมิกต่อสารละลายเฟนตัน ($\text{HA:H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) ที่แตกต่างกัน 4 ค่าคือ 0.5:560:140, 1: 560:140, 1.5: 560:140, และ 2: 560:140 โดยที่ควบคุมอัตราส่วนของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อเฟอร์รัสไอออน ($\text{H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) คงที่ที่ 4:1 และ ค่าความเป็นกรด-ต่างเท่ากับ 3 ในทุกการทดลอง ผลการทดลองพบว่าสามารถย่อยสลายกรดฮิวมิกได้ร้อยละ 58, 66, 60 และ

59 ตามลำดับ (รูปที่ 3) แสดงให้เห็นว่า เมื่อเวลาในการทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นสามารถกำจัดกรดฮิวมิกได้มากขึ้น และจะเริ่มคงที่ตั้งแต่เวลาที่ 60 จนถึงเวลาที่ 180 ซึ่งอัตราส่วนที่ดีที่สุดคือ 1:560:140 สามารถกำจัดกรดฮิวมิกได้ถึงร้อยละ 66

กรณีที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายกรดฮิวมิกมีค่าน้อย ($\text{HA:H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$ เท่ากับ 0.5:560:140) แล้วทำให้สามารถย่อยสลายกรดฮิวมิกได้น้อยนั้น อาจมาจากสาเหตุที่ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สลายตัวเอง ดังสมการที่ (3) – (7) (Neyens and Baeyens, 2003) ดังแสดงข้างต้นในบทนำ และได้ผลิตภัณฑ์เป็นออกซิเจนและน้ำดังสมการที่ (6) และ (7) แต่ในกรณีตรงกันข้ามเมื่อความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายกรดฮิวมิกสูง ($\text{HA:H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$ เท่ากับ 2:560:140) แล้วพบว่าสามารถย่อยสลายกรดฮิวมิกได้น้อยนั้น อาจเนื่องจากปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไม่เพียงพอในการย่อยสลายกรดฮิวมิกที่มีความเข้มข้นสูง (Neyens and Baeyens, 2003)

3.4 การย่อยสลายกรดฮิวมิกในแหล่งน้ำธรรมชาติ

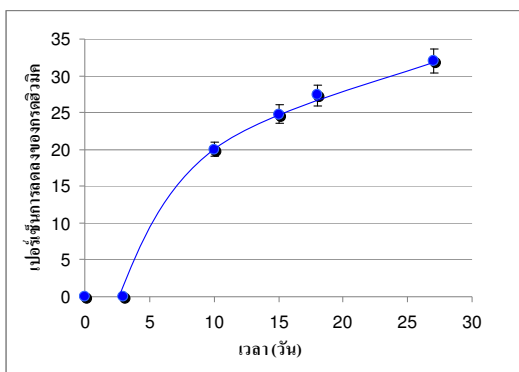
จากการนำน้ำจากคลองมหาสวัสดิ์มาทดสอบ พบว่ามีปริมาณกรดฮิวมิกอยู่ 3.58 mg/l เมื่อทำการทดลองย่อยสลายกรดฮิวมิกโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือความเป็นกรด - ต่าง 3 อัตราส่วนโมลของสารละลายกรดฮิวมิกต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อเฟอร์รัสไอออน ($\text{HA:H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) เท่ากับ 1:560:140 พบว่าสามารถย่อยสลายกรดฮิวมิกได้ร้อยละ 28 ในการทำปฏิกิริยา 180 นาที ซึ่งผลที่ได้นี้น้อยกว่าการทดลองจากสารละลายฮิวมิกสังเคราะห์เนื่องจากสารละลายเฟนตัน อาจถูกใช้ไปในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ชนิดอื่นเช่นกรดฟลูวิกจึงทำให้มีปริมาณไฮดรอกซิลเรดิคัล ($\text{OH}^\cdot$) ลดน้อยลงกว่าปริมาณที่เหมาะสมในการย่อยสลายกรดฮิวมิก (Neyens and Baeyens, 2003)

3.5 การย่อยสลายกรดฮิวมิกด้วยจุลินทรีย์

เมื่อทดลองทำการย่อยสลายกรดฮิวมิกด้วย *L. lactis* โดยใช้เวลาในการทดลองทั้งหมด 27 วัน พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในช่วงประมาณ 6-10 วันแรกนั้น มี

ปริมาณเพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และที่สำคัญพบว่าจากการทดลองชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะแบคทีเรีย *L. lactis* ผสมกับน้ำกลั่นแทนสารละลายอีวมิคนั้น ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดในช่วงวันที่ 6-10 เช่นเดียวกัน ดังนั้นจากตัวของจุลินทรีย์เอง หรือสารอื่นที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโต ก็สามารถตรวจวัดที่ค่าการดูดกลืนแสง 272 nm ได้ด้วย จึงทำให้ไม่อาจสรุปได้ถึงประสิทธิภาพการย่อยสลายกรดอีวมิคด้วย *L. lactis*

ในการทดลองด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ผสมระหว่าง *P. fluorescens* และ *L. lactis* พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับการทดลองด้วย *L. lactis* สายพันธุ์เดียว จึงทำให้ไม่อาจสรุปได้ถึงประสิทธิภาพการย่อยสลายกรดอีวมิคด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ผสม



รูปที่ 4 เปอร์เซ็นต์การลดลงของกรดอีวมิคในการทดลองด้วยแบคทีเรีย *P. fluorescens* สายพันธุ์เดียว

เมื่อทดลองการย่อยสลายกรดอีวมิคด้วยแบคทีเรีย *P. fluorescens* สายพันธุ์เดียว โดยใช้เวลาในการทดลองทั้งหมด 27 วัน พบว่าค่าการดูดกลืนแสงลดลง ทำให้สามารถวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยสลายกรดอีวมิคได้ และเมื่อนำผลของความเข้มข้นที่ลดลงของสารละลายกรดอีวมิคมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลง ดังแสดงในรูปที่ 4 ซึ่งพบว่าในช่วง 6 วันแรกนั้นยังไม่สามารถที่จะลดปริมาณกรดอีวมิคได้ เนื่องจากแบคทีเรียต้องใช้เวลาในการปรับตัวเพื่อจะเจริญเติบโต และหลังจากวันที่ 6 ของการทดลอง พบว่าปริมาณของกรดอีวมิคลดลงต่อเนื่อง โดยสามารถที่จะลดกรดอีวมิคได้ประมาณ 33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการทดลองเป็นเวลา 27 วัน และเมื่อนำผลที่ได้

เปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Khumsiri (2009) ที่ศึกษาการบำบัดกรดอีวมิคในดินด้วย *P. fluorescens* ซึ่งบำบัดได้ร้อยละ 15 เมื่อทดลองเป็นเวลา 20 วัน จะพบว่าในงานวิจัยนี้สามารถที่จะกำจัดกรดอีวมิคได้ดีกว่า

3.6 ความเหมาะสมในการย่อยสลายกรดอีวมิค ระหว่างการใช้สารละลายเฟนต์ันและจุลินทรีย์

การย่อยสลายสารละลายกรดอีวมิค ด้วยสารละลายเฟนต์ัน มีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้จุลินทรีย์ เมื่อเปรียบเทียบในกรณีประสิทธิภาพและเวลาที่ใช้ในการบำบัด โดยสามารถย่อยสลายกรดอีวมิคได้ร้อยละ 66 เมื่อทำปฏิกิริยา 180 นาที ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3 และอัตราส่วนของกรดอีวมิค ต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ต่อเฟอร์รัสไอออน ($\text{HA:H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) คือ 1:560:140 และผลของการย่อยสลายกรดอีวมิคในสารละลาย ด้วยแบคทีเรีย *P. fluorescens* สายพันธุ์เดียว ภายใต้สภาวะการทดลองที่ 30 °C และเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที เมื่อใช้เวลาการบำบัด 27 วัน สามารถย่อยสลายได้ดีที่สุดคือ 33 เปอร์เซ็นต์

แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สารเคมีก็เป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย เนื่องจากสารเคมีเป็นวัสดุที่ใช้แล้วหมดไป การใช้จุลินทรีย์ในการบำบัดแม้ใช้ระยะเวลานาน แต่ก็ป็นวิธีที่คุ้มค่าในด้านราคาค่าใช้จ่ายในการบำบัด ลดการใช้พลังงาน และเป็นเทคโนโลยีที่ปลอดภัยและเป็นพิษ

4. สรุปผลการทดลอง

การย่อยสลายสารละลายกรดอีวมิค ด้วยสารละลายเฟนต์ัน มีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้จุลินทรีย์ โดยสภาวะที่เหมาะสมของสารละลายเฟนต์ัน คือที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3 และอัตราส่วนของกรดอีวมิคต่อไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อเฟอร์รัสไอออน ($\text{HA:H}_2\text{O}_2:\text{Fe}^{2+}$) คือ 1:560:140 โดยสามารถย่อยสลายกรดอีวมิคได้ร้อยละ 66 เมื่อทำปฏิกิริยา 180 นาที และผลของการย่อยสลายกรดอีวมิคในสารละลายด้วยแบคทีเรีย *P. fluorescens* สายพันธุ์เดียว สามารถย่อยสลายได้ดีที่สุดคือ 33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้เวลาการบำบัด 27 วัน ภายใต้สภาวะการทดลองที่ 30 °C และเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที

เอกสารอ้างอิง

- Benz, M., Schink, B. and Brune, A. (1998). Humic Acid Reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and Other Fermenting Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 64, 4507-4512.
- Haderlein, A., Legros, R., and Ramsay, B. (2001). Enhancing pyrene mineralization in contaminated soil by the addition of humic acids or composted contaminated soil. *Applied Microbiological Biotechnology*, Vol. 56, 555-559.
- Khan E, Wirojanagud W, Sermsai N. (2009). Effects of iron type in Fenton reaction on mineralization and biodegradability enhancement of hazardous organic compounds. *Journal of Hazardous Materials*, Vol.161, 1024-34.
- Khumsiri N. (2009). Removal of humic acid and Fulvic acid from soil by using Fenton and microbiological Techniques .M.S. Thesis in Environmental Engineering Faculty of Graduate studies Mahidol University.
- Neyens E., J. Baeyens. (2003). A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. B98, 33-50
- Traina, S.J., Novak, J., Smeck, N.E. (1989). An ultraviolet absorbance method of estimating the percent aromatic carbon content of humic acids. *Journal of Environmental Quality*, Vol.19, 151-153.
- Young, C.C., Su, C.H., Li, G.C., Wang, M.C., and Arun, A.B. (2004). Prospects for nitrogen incorporation into humic acid as evidenced by alkaline extraction method. *Current Science*, Vol. 87, 1704-1708.