



วารสารวิชาการ วิศวกรรมศาสตร์ ม.อบ. UBU Engineering Journal

บทความวิจัย

การดูดซับและการย่อยสลายสารไตรโคลคาร์บานทางชีวภาพด้วยไบโอชาร์และไบโอชาร์ ตรึงเซลล์ที่ผลิตจากไม้ไผ่และยูคาลิปตัส

Triclocarban adsorption and biodegradation using biochar and cell-immobilized biochar produced from bamboo and eucalyptus

สุพิชญา เจนใจวิทย์¹ นนทิภา สุพรรณไชยมาตย์² Andrew J. Hunt² ยูวรัตน์ เงินเย็น³ พงศธร ทวีธนาภิรักษ์⁴ สุมนา
สิริพัฒน์กุล-ราษฎร์ภักดิ์^{1*}

¹ สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ และศูนย์วิจัยด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและสารอันตราย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

² สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

³ สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ และศูนย์วิจัยด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและสารอันตราย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

⁴ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏศรีสะเกษ ศรีสะเกษ 33000

Supitchaya Jenjaiwit¹, Nontipa Supanchaiyamat², Andrew J. Hunt², Yuvarat Ngernyen³, Pongsatorn
Taweetanawanit⁴, Sumana Siripattanakul-Ratpukdi^{1,5*}

¹ Department of Environmental Engineering, Faculty of Engineering, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

² Materials Chemistry Research Center, Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

³ Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

⁴ Science program in Environmental Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Sisaket Rajabhat University, Sisaket 33000

* Corresponding author.

E-mail: sumana.r@kku.ac.th; Telephone: 0 4320 2571

วันที่รับบทความ 10 มีนาคม 2563; วันที่แก้ไขบทความ ครั้งที่ 1 17 เมษายน 2563 ; วันที่แก้ไขบทความ ครั้งที่ 2 5 พฤษภาคม 2563

วันที่ตอบรับบทความ 22 พฤษภาคม 2563

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีเป้าหมายเพื่อกำจัดสารไตรโคลคาร์บาน (Triclocarban; TCC) ซึ่งเป็นสารฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ตกค้างในน้ำด้วยวัสดุเหลือทิ้งจากการผลิตน้ำส้มควันไม้ วัสดุดังกล่าว ได้แก่ ไบโอชาร์ที่ผลิตจากไม้ไผ่และไม้ยูคาลิปตัส การศึกษาครั้งนี้มุ่งเน้นการใช้งานไบโอชาร์เพื่อเป็นวัสดุดูดซับและตรึงจุลินทรีย์สำหรับการกำจัด TCC ตกค้างในน้ำ โดยจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ *Pseudomonas fluorescens* MC46 การทดลองประกอบด้วยการศึกษา 1) คุณสมบัติของไบโอชาร์ 2) ประสิทธิภาพและจลนศาสตร์การกำจัด TCC 3) การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บนไบโอชาร์ และ 4) ลักษณะพื้นฐานของไบโอชาร์และไบโอชาร์ตรึงเซลล์ ผลการศึกษาพบว่าไบโอชาร์ทั้งสองมีองค์ประกอบหลักเป็นธาตุคาร์บอน (ร้อยละ 45-52 โดยน้ำหนัก) มีพื้นที่ผิวจำเพาะ 25-27 ตารางเมตรต่อกรัม และลักษณะพื้นฐานวิทยาเป็นวัสดุพรุน ส่วนไบโอชาร์ตรึงเซลล์พบจุลินทรีย์เกาะกระจายทั่วพื้นผิววัสดุ ไบโอชาร์และไบโอชาร์ตรึงเซลล์สามารถกำจัด TCC ได้ใกล้เคียงกัน (ร้อยละ 72-78) ในขณะที่เซลล์อิสระย่อยสลาย TCC ได้ร้อยละ 42 อย่างไรก็ตามในระยะเวลาไบโอชาร์ตรึงเซลล์มีแนวโน้มที่มีประสิทธิภาพการบำบัดโดยภาพรวมดีกว่าเนื่องจากสามารถเกิดได้ทั้งกระบวนการย่อยสลายสารพิษด้วยเซลล์และการดูดซับด้วยวัสดุพรุน ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าไบโอชาร์จากวัสดุเหลือทิ้งเป็นวัสดุดูดซับที่ดีและยังสามารถตรึงจุลินทรีย์เพื่อให้เกิดกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพได้ รวมทั้งยังสามารถป้องกันจุลินทรีย์จากการลด

โอกาสสัมผัส TCC ได้ ผลการศึกษานี้สามารถเป็นแนวทางในการใช้ไบโอชาร์ตรึงเซลล์เพื่อการกำจัดสารปนเปื้อนด้วยกระบวนการดูดซับร่วมกับการย่อยสลายทางชีวภาพได้ต่อไป

คำสำคัญ

การตรึงเซลล์ การย่อยสลายทางชีวภาพ ไตรโคลคาร์บาน ไบโอชาร์

Abstract

This study aims to remove triclocarban (TCC), which is a bactericidal agent contaminating in water, using wasted material from wood vinegar production. The materials were biochars produced from bamboo and eucalyptus. This study emphasized on the use of the biochars as sorbents and cell immobilization materials. Microorganism applied in this study was *Pseudomonas fluorescens* MC46. The experiment included 1) biochar characterization, 2) TCC removal efficiency and kinetics, 3) microbial growth on biochars, and 4) biochar and cell-immobilized biochar morphology. The results showed that a major element of both biochars was carbon (45-52% by weight) with specific surface areas of 25-27 m²/g. Based on morphological characterization, both biochars were porous materials. For the cell-immobilized biochar, microorganisms spread over the material surface. The biochars and cell-immobilized biochars could remove TCC with similar efficiencies (72-78%) while the free cells degraded 42% of TCC. However, in the long term, cell-immobilized biochars likely provide better overall treatment efficiency because there is toxic contaminant degradation by cell and adsorption by porous materials. The results indicated that biochars from the wasted materials were good sorbents and microbes can be immobilized onto these materials for the biodegradation process. In addition, the biochars could prevent the microbial cells from diminishing TCC exposure. The results of this study can be further used as a guideline for cell-immobilized biochar utilization for the removal of contaminants using combined adsorption and biodegradation processes.

Keywords

cell immobilization; biodegradation; triclocarban; biochar

1. คำนำ

อุตสาหกรรมผลิตน้ำส้มควันไม้ (Wood vinegar) เป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมเกษตรที่แพร่หลายในประเทศไทย เนื่องจากน้ำส้มควันไม้มีประโยชน์มากมายในทางด้านการเกษตร อุตสาหกรรม ปศุสัตว์ และการใช้งานในครัวเรือน [1] น้ำส้มควันไม้ผลิตโดยกระบวนการเผาแบบไร้อากาศ (Pyrolysis) ทำให้ไอระเหยจากไม้ในเตาเกิดการควบแน่นกลายเป็นของเหลวสีน้ำตาลที่มีกลิ่นควันไม้หรือที่เรียกว่าน้ำส้มควันไม้ โดยทั่วไปอุตสาหกรรมผลิตน้ำส้มควันไม้สามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด อาทิ ไม้ยูคาลิปตัส ไม้ไผ่ ไม้ยางพารา ไม้โอ๊ค หรือเศษไม้ต่าง ๆ เหลือทิ้งจากการเกษตร [2] ทั้งนี้ในการผลิตน้ำส้มควันไม้ระดับอุตสาหกรรมนิยมใช้ไม้ไผ่และไม้ยูคาลิปตัสเป็นวัตถุดิบหลัก เนื่องจากใช้เวลาเพาะปลูกน้อยสามารถหาได้ง่าย อีกทั้งยังให้ผลผลิตน้ำส้มควันไม้ที่มีคุณภาพ [3] เมื่อสิ้นสุดการผลิต ไม้ที่ถูกเผากลายเป็นถ่านไม้ซึ่งใช้ประโยชน์เป็นวัสดุปรับปรุงดินเป็นส่วนใหญ่ [4] ทั้งนี้ถ่านไม้

จากกระบวนการดังกล่าวจัดเป็นถ่านชีวภาพหรือที่เรียกว่า ไบโอชาร์ (Biochar) ลักษณะหนึ่ง

ในอดีตไบโอชาร์ถูกนำมาใช้เป็นวัสดุปรับปรุงดินเนื่องจากสามารถกักเก็บออกซิเจนและเติมธาตุอาหารให้กับดินได้ เวลาต่อมาการศึกษาเพิ่มมากขึ้นและพบว่าไบโอชาร์เป็นวัสดุเฉพาะทาง (Functional material) ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลากหลายลักษณะ [5] สำหรับการประยุกต์ใช้งานทางสิ่งแวดล้อมได้มีการนำไบโอชาร์มาใช้ในการบำบัดมลสาร (Pollutant) ในดินและน้ำ [6] เช่น ยาปฏิชีวนะซัลฟาเมทอกซาโซล (Sulfamethoxazole) สารทำลายไตรคลอโรเอทิลีน (Trichloroethylene) ยากำจัดศัตรูพืชคาร์โบฟูแรน (Carbofuran) [7-9] โดยการใช้งานมีทั้งในรูปแบบระบบบำบัดน้ำเสีย (Wastewater treatment system) และการฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อน (Site remediation) งานวิจัยในอดีตชี้ให้เห็นความเป็นไปในการใช้ไบโอชาร์เพื่อเป็นวัสดุดูดซับสารอินทรีย์และอนินทรีย์ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังสามารถใช้ร่วมกับวิธีการบำบัดทางชีวภาพ (Biodegradation) โดยอาศัยเทคนิคการตรึงเซลล์จุลินทรีย์บนไบโอชาร์ (Cell

immobilization) เทคนิคนี้รวมดั่งกล่าวนั้นนอกจากมีประสิทธิภาพในการกำจัดสารปนเปื้อนสูงแล้วยังมีต้นทุนในการบำบัดน้อย สามารถทำได้ง่าย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม [10]

สารไตรโคลคาร์บาน (Triclocarban; TCC, $C_{13}H_9Cl_3N_2O$) เป็นหนึ่งในสารฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial agent) ที่ถูกใช้อย่างแพร่หลายเพื่อฆ่าเชื้อโรคโดยตรง และเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในผลิตภัณฑ์ส่วนบุคคล (Personal care product) ที่ใช้ในชีวิตประจำวัน เช่น สบู่ ยาสีฟัน น้ำยาล้างปาก และ ครีมบำรุง [11] ส่งผลให้ในปัจจุบันตรวจพบการตกค้างของ TCC ในสิ่งแวดล้อมมากขึ้นถึงในระดับมิลลิกรัมทั้งในแหล่งน้ำ ตะกอน ดิน รวมไปถึงสิ่งมีชีวิตในน้ำ [12-13] ประกอบกับ TCC เป็นสารประกอบกลุ่มโพลีคลอโรอินอะโรมาติก (Polychlorinated aromatic compounds) ซึ่งมีความคงทนในสิ่งแวดล้อมและการสลายทางชีวภาพ [14] TCC มีครึ่งชีวิตนานถึง 280 วัน จึงตกค้างและสะสมในสิ่งแวดล้อมเป็นเวลานาน [15] TCC มีความเป็นพิษต่อพืชและสัตว์สูง โดยมีการศึกษาว่า TCC มีความเป็นพิษในรูปของแอลซี-50 (Lethal concentration-50; LC-50) ต่อสาหร่าย 17.8 ไมโครกรัมต่อลิตร [16] นอกจากนี้การสะสมของ TCC ในสิ่งมีชีวิตรบกวนการทำงานของระบบต่อมไร้ท่อ ระบบสืบพันธุ์และมีผลกระทบต่อฮอร์โมนไทรอยด์ (Thyroid hormone) [17-19]

จากสถานการณ์การปนเปื้อน TCC ที่กล่าวไว้ข้างต้นและความเป็นไปได้ของการใช้ไบโอชาร์เหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อกำจัดมลสารในสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาประสิทธิภาพการกำจัด TCC ด้วยไบโอชาร์และไบโอชาร์ตรึงเซลล์ การศึกษานี้เป็นการเปรียบเทียบผลการใช้ไบโอชาร์จากไม้ไผ่และไม้ยูคาลิปตัส โดยมีการกำจัดสารด้วยไบโอชาร์ ไบโอชาร์ตรึงเซลล์ และ เซลล์จุลินทรีย์อิสระ สำหรับจุลินทรีย์ที่ใช้ ได้แก่ *Pseudomonas fluorescens* MC46 (MC46) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการกำจัด TCC [20] งานวิจัยนี้ครอบคลุมการศึกษาคุณสมบัติไบโอชาร์ประสิทธิภาพและจลนศาสตร์การกำจัดสารไตรโคลคาร์บานและการเจริญเติบโตของ MC46 บนไบโอชาร์ ผลการศึกษาค้นพบว่านี้เป็นแนวทางในการพัฒนาระบบปรับปรุงคุณภาพสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนของสารไตรโคลคาร์บานและยังเป็นแนวทางใน

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งอุตสาหกรรมเกษตรให้เป็นประโยชน์มากยิ่งขึ้น

2. ระเบียบวิธีวิจัย

2.1 การเตรียมไบโอชาร์

ไบโอชาร์ ได้แก่ ถ่านไม้ไผ่และถ่านไม้ยูคาลิปตัสซึ่งเป็นถ่านเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำส้มควันไม้ในประเทศไทย ถ่านทั้งสองชนิดถูกนำมาคัดแยกขนาดด้วยตะแกรงให้ได้ขนาด 2-4 มิลลิเมตร และนำไปล้างด้วยน้ำอาร์โอ (Reverse osmosis water; RO) ในอัตราส่วน 1:6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 5 ครั้ง จากนั้นไบโอชาร์ทั้งสองชนิดถูกนำไปอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จำนวน 3 ครั้ง ก่อนนำไปใช้งานเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตอยู่บนผิวและภายในถ่าน

2.2 การศึกษาคุณสมบัติของไบโอชาร์

พื้นที่ผิว ขนาด และ ปริมาตรรูพรุนของไบโอชาร์ศึกษาด้วยวิธี Brunauer–Emmett–Teller equation (BET) (Autosorb 1 MP, Quantachrome, USA) และลักษณะสัณฐานวิทยาไบโอชาร์ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) (1450VP, LEO, USA) สำหรับการศึกษารูปร่างประกอบของไบโอชาร์วิเคราะห์ด้วยเครื่อง CHN analyzer (CHN628, LECO, USA)

2.3 การเพาะเลี้ยงและการตรึงเซลล์บนไบโอชาร์

อาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อ MC46 มี 2 ชนิด ได้แก่ Lysogeny broth (LB) และ Minimal salt medium (MSM) โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ LB 1 ลิตร ประกอบด้วย Tryptone 10 กรัม NaCl 10 กรัม และสารสกัดยีสต์ (Yeast extract) 5 กรัม ส่วนอาหารวุ้น LB (LB agar) มีส่วนประกอบเหมือนกับ LB แต่เพิ่มผงวุ้น (Agar) ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM 1 ลิตร ประกอบด้วย $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 0.66 กรัม Na_2HPO_4 0.58 กรัม KH_2PO_4 3 กรัม NaCl 0.5 กรัม NH_4Cl 2 กรัม และ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.25 กรัม โดยการเตรียมอาหารทั้งสองกระทำโดยละลายส่วนผสมของอาหารแต่ละชนิดในน้ำ RO จากนั้นนำอาหาร

ไปหนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

สำหรับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ MC46 สามารถแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ 1) การเพิ่มจำนวนเซลล์ (Cell enrichment) และ 2) การกระตุ้นเซลล์ (Cell activation) ขั้นตอนแรกนำ MC46 จำนวน 3 หลอด (Loop) ใส่ลงในอาหาร LB จำนวน 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติม TCC 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำไปเพาะเลี้ยงด้วยการเขย่า ณ ความเร็ว 150 รอบต่อนาที และอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 ชั่วโมง ในขั้นตอนที่ 2 การกระตุ้นเซลล์เริ่มต้นจากการแยก MC46 จาก LB ด้วยการปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติม MC46 ลงใน MSM ที่มี TCC 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำไปปั่นที่อุณหภูมิห้องด้วยการเขย่า ณ ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นก็จะนำเชื้อไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที สุดท้ายได้ MC46 เข้มข้น (Concentrated MC46) เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

สำหรับการศึกษาการตรึง MC46 บนไบโอชาร์ นำไบโอชาร์ จำนวน 10 กรัม เติมน้ำใน MSM 100 มิลลิลิตร ที่มี TCC ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ MC46 เข้มข้น (อัตราส่วนน้ำหนักไบโอชาร์ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 1:10) จากนั้นนำส่วนผสมไปปั่นที่อุณหภูมิห้องด้วยการเขย่า ณ ความเร็ว 150 รอบต่อนาที และเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง เพื่อศึกษาจำนวนเชื้อที่ถูกตรึงลงบนวัสดุ

2.4 การกำจัด TCC ด้วยไบโอชาร์ ไบโอชาร์ตรึงเซลล์ และจุลินทรีย์อิสระ

การทดลองเพื่อกำจัด TCC ด้วยไบโอชาร์ ไบโอชาร์ตรึงเซลล์ และ จุลินทรีย์อิสระ ประกอบด้วยชุดการทดลองจำนวน 5 ชุด ได้แก่ 1) ชุดการทดลองควบคุม (CTRL) 2) ชุดเซลล์อิสระ (MC) 3) ชุดไบโอชาร์ไม้ไผ่ (BB) 4) ชุดไบโอชาร์ไม้ไผ่ตรึง MC46 (BBMC) 5) ชุดไบโอชาร์ยูคาลิปตัส (EU) 6) ชุดไบโอชาร์ยูคาลิปตัสตรึง MC46 (EUMC) โดยรายละเอียดชุดการทดลองแสดงดังตารางที่ 1 การทดลองใช้ถังปฏิกรณ์ที่มี MSM 100 มิลลิลิตรและความเข้มข้น TCC เริ่มต้นเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการทดลองควบคุมที่อุณหภูมิห้องและเขย่าถังปฏิกรณ์ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างน้ำที่เวลา 0 2 4 8 12 และ 24 ชั่วโมงเพื่อวิเคราะห์

ความเข้มข้นของ TCC คงเหลือ ณ เวลาต่าง ๆ โดยการทดลองทุกชุดมีการทำซ้ำ 3 ครั้ง เพื่อให้ผลมีความน่าเชื่อถือ

2.5 การเตรียมและการวิเคราะห์ TCC

ตัวอย่างน้ำถูกนำมาเจือจางด้วยสารอะซิโตนไนไตรท์ (Acetonitrile) ในอัตราส่วนตัวอย่างน้ำต่อสารอะซิโตนไนไตรท์ 1:2 โดยปริมาตร และนำไปเขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองตัวอย่างผ่านตัวกรองเข็มฉีดยา (Syringe filter) ขนาดรูพรุน 0.2 ไมครอน และเก็บรักษาไว้ในขวดสีชาเพื่อนำไปวิเคราะห์สาร TCC โดยใช้เครื่องโครมาโทกราฟีเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography; HPLC) (LC-20A, Shimadzu, Japan) ที่มีคอลัมน์ชนิด C18 โดยใช้เครื่องตรวจจับชนิดยูวี (UV detector) ณ คลื่นความยาว 265 นาโนเมตร และใช้เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เป็นสารอะซิโตนไนไตรท์และน้ำปราศจากไอออน (De-ionized water) ในอัตราส่วน 70:30 โดยปริมาตร ความเร็วการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที โดย TCC แสดงผลในเวลา 13.0 ± 1.0 นาที [21]

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษานี้ได้ใช้การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติด้วยโปรแกรม Microsoft excel 2016 โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) ซึ่งใช้การเปรียบเทียบเชิงสถิติด้วยความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

3. ผลการวิจัย

3.1 ผลการศึกษาคุณสมบัติของไบโอชาร์

ผลการศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาด้วย SEM พบว่าโครงสร้างของถ่านไม้ไผ่มีลักษณะเป็นรูพรุนขนาดใหญ่ (รูปที่ 1) เนื่องจากไม้ไผ่จัดเป็นไม้เนื้ออ่อนมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นเส้นใยโครงข่ายเซลลูโลส (Cellulose) [22] เมื่อไม้ไผ่ผ่านกระบวนการไพโรไลซิสในการผลิตน้ำส้มควันไม้ซึ่งเกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูง (สูงสุดถึง 800 องศาเซลเซียส) ส่งผลให้ลักษณะพื้นผิวของถ่านไม้ไผ่มีความไม่เป็นระเบียบและมีโครงสร้างแบบอะโรมาติก (Aromatic structure) เนื่องจากมีสารอินทรีย์ระเหยออกมาระหว่างกระบวนการผลิต ดังนั้นไบโอชาร์จากไม้ไผ่จึงมีโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นรูพรุน (Porous structure)

อย่างชัดเจน ลักษณะดังกล่าวส่งผลให้ไบโอชาร์มีประสิทธิภาพในการดูดซับสูง [23] ส่วนไม้ยูคาลิปตัสเป็นไม้เนื้อแข็งและความแข็งแรงมากกว่า [23-24] ดังนั้นเมื่อไม้ยูคาลิปตัสผ่านกระบวนการไพโรไลซิส เนื้อไม้จึงปลดปล่อยสารอินทรีย์ระเหยไม่มากนักส่งผลให้ลักษณะสัณฐานวิทยาของไบโอชาร์จากไม้ยูคาลิปตัสเป็นโครงตาข่ายละเอียดมาก [25] ทั้งนี้สัดส่วนองค์ประกอบของไบโอชาร์ที่ผลิตจากไม้ไผ่และไม้ยูคาลิปตัสไม่

ตารางที่ 1 รายละเอียดชุดการทดลองเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการกำจัด TCC ด้วยไบโอชาร์ ไบโอชาร์ตรึงเซลล์ และ จุลินทรีย์อิสระ

ชื่อชุดการทดลอง	รายละเอียดชุดการทดลอง	จำนวนวัสดุ (กรัม)	จำนวนเซลล์ในชุดการทดลอง ซี (เอฟยู)
CTRL	ชุดควบคุม	-	-
MC	MC46 อิสระ	-	10^9
BB	ไบโอชาร์ไม้ไผ่	1	-
BBMC	ไบโอชาร์ไม้ไผ่ตรึง MC46	1	10^9
EU	ไบโอชาร์ยูคาลิปตัส	1	-
EUMC	ไบโอชาร์ยูคาลิปตัสตรึง MC46	1	10^9

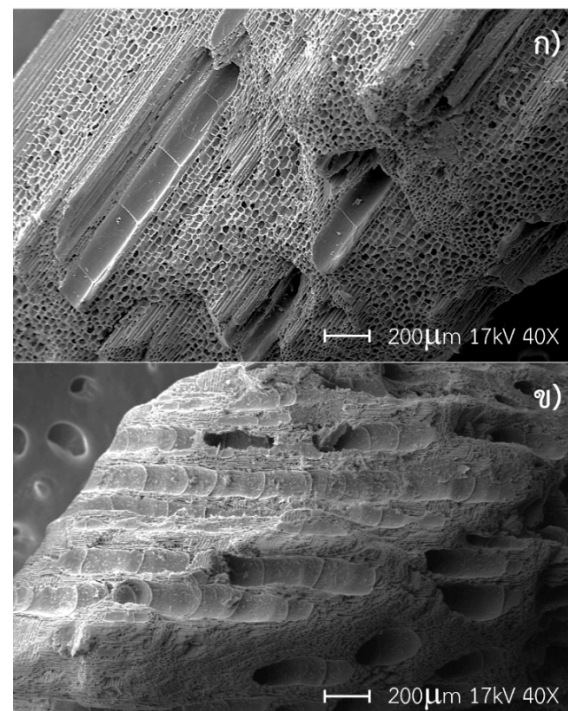
หมายเหตุ น้ำหนัก BBMC และ EUMC เป็นน้ำหนักแห้งของวัสดุก่อนการตรึงเซลล์

ต่างกันมากนัก (ตารางที่ 2) กล่าวคือ ไบโอชาร์ทั้งสองมีองค์ประกอบหลัก (ประมาณกึ่งหนึ่ง) เป็นคาร์บอน องค์ประกอบ พื้นที่ผิว และรูพรุนเป็นสมบัติที่สำคัญต่อการดูดซับสารปนเปื้อนและการตรึงเซลล์ ในการศึกษาพบว่าพื้นที่ผิว ปริมาตรรูพรุนของถ่านไม้ไผ่และถ่านไม้ยูคาลิปตัสค่อนข้างต่ำ (ตารางที่ 3) และถ่านทั้งสองชนิดมีรูพรุนขนาดใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 3) เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาอื่น ๆ โดยทั่วไปไบโอชาร์ที่เผา ณ อุณหภูมิสูงมีพื้นที่ผิวและรูพรุนสูง เนื่องจากเกิดการระเหยของสารอินทรีย์มากเมื่ออุณหภูมิในการเผาสูงขึ้น [23] ดังเช่น การศึกษาของ Wang et al. พบว่าถ่านไม้ไผ่ที่เผาภายใต้สภาวะไร้อากาศ ณ อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส มีพื้นที่ผิวสูงถึง 181.50 ตารางเมตรต่อกรัม [23] และถ่านไม้ยูคาลิปตัสซึ่งเตรียมจากกระบวนการเดียวกันภายใต้อุณหภูมิ 800 องศาเซลเซียส มีพื้นที่ผิวสูงถึง 589 ตารางเมตรต่อกรัม [25] ทั้งนี้เหตุผลที่ไบโอชาร์ที่ใช้ในการศึกษานี้มีพื้นที่ผิวน้อยเนื่องจากวัตถุดิบเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตรที่มี

ผลิตด้วยเตาเผาอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ส่งผลให้การควบคุมอุณหภูมิและอากาศไม่ทั่วถึง [26]

3.2 ผลการศึกษาการตรึงเซลล์บนไบโอชาร์

การเจริญเติบโตของ MC46 บนไบโอชาร์ไม้ไผ่และยูคาลิปตัสแสดงดังรูปที่ 2 จากรูปดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าในกระบวนการตรึงเซลล์บนไบโอชาร์ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อนั้น ไบโอชาร์ทั้งสองสามารถดูดซับ (ตรึง) เซลล์จุลินทรีย์ MC46 ได้อย่างรวดเร็วภายในหนึ่งชั่วโมงแรก จากนั้น MC46 สามารถเจริญเติบโตต่อเนื่องได้ในไบโอชาร์ทั้งสองชนิด เนื่องจากไบโอชาร์มีรูพรุนและพื้นที่ผิวให้จุลินทรีย์สามารถเกาะติดได้ [27] ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Sipahutar et al. ที่พบว่า MC46 สามารถเจริญเติบโตได้ภายใต้สภาวะที่มี TCC โดยมีการเจริญเติบโตคงที่ในช่วงเวลาที่ 48 การศึกษารั้งนี้เลือกระยะเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อใช้ในการตรึง MC46 เนื่องจากเป็นระยะที่มีปริมาณเซลล์คงที่ (10^9 ซีเอฟยูต่อกรัม-ถ่าน) ก่อนนำไปใช้ในการบำบัด TCC ต่อไป



รูปที่ 1 การศึกษาลักษณะโครงสร้างของ ก) ไบโอชาร์ที่ผลิตจากไม้ไผ่ และ ข) ไบโอชาร์ที่ผลิตจากไม้ยูคาลิปตัส

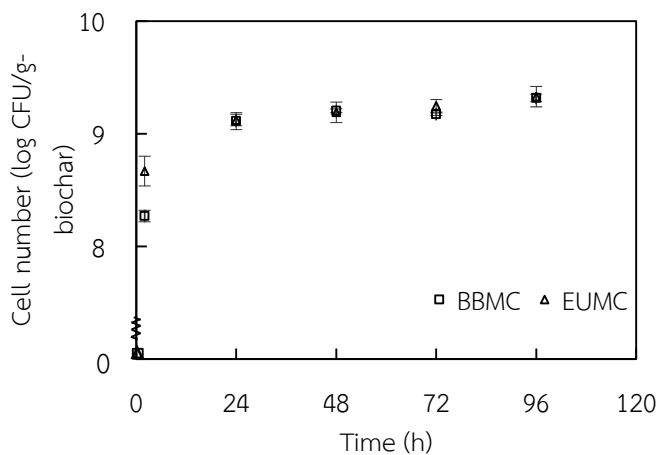
ตารางที่ 2 องค์ประกอบของไบโอชาร์ที่ผลิตจากไม้ไผ่และไม้ยูคาลิปตัส

ตัวอย่าง	องค์ประกอบ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)			
	C	H	N	อื่นๆ
ถ่านไม้ไผ่	45.370	3.732	0.539	50.359
ถ่านไม้ยูคาลิปตัส	52.247	3.456	0.286	44.011

หมายเหตุ องค์ประกอบอื่น ๆ ของถ่านไม้ไผ่และถ่านไม้ยูคาลิปตัสประกอบด้วย ออกซิเจน ซัลเฟอร์ และเถ้า

ตารางที่ 3 พื้นที่ผิวจำเพาะ ปริมาตรรูพรุน และขนาดรูพรุนเฉลี่ยของไบโอชาร์ที่ผลิตจากไม้ไผ่และไม้ยูคาลิปตัส

ตัวอย่าง	พื้นที่ผิวจำเพาะ (ตารางเมตรต่อกรัม)	ปริมาตรรูพรุน (ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกรัม)	ขนาดรูพรุนเฉลี่ย (นาโนเมตร)
ถ่านไม้ไผ่	25.36	0.033	2.674
ถ่านไม้ยูคาลิปตัส	26.95	0.036	2.601

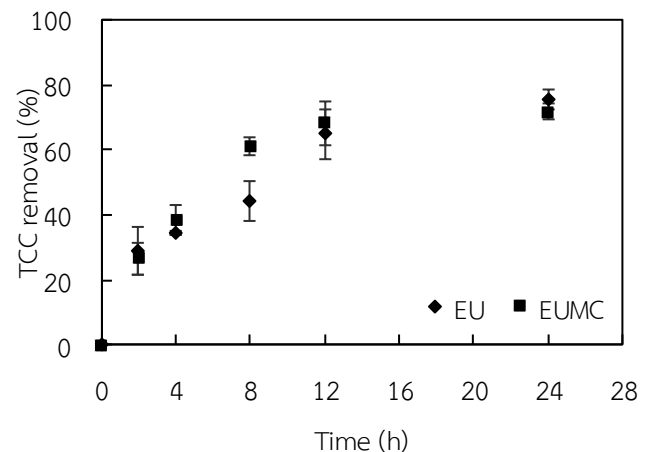
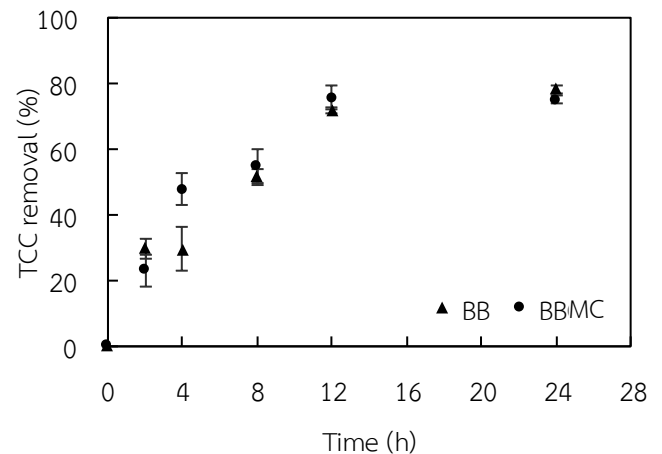
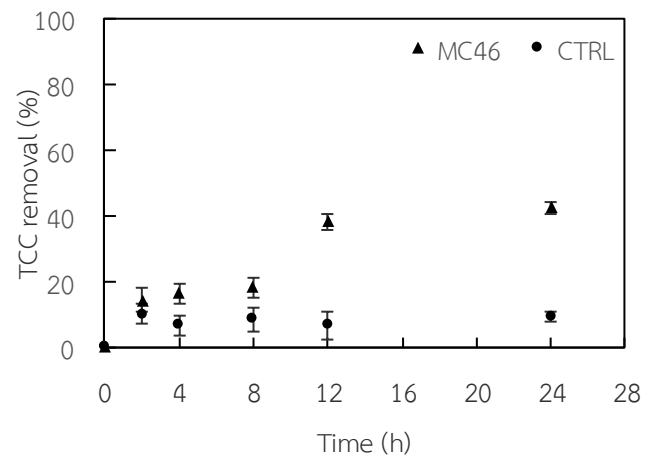


รูปที่ 2 การตรึง MC46 บนชุดการทดลอง BBMC และ EUMC

3.3 ผลการศึกษาการกำจัด TCC

ผลการศึกษาการกำจัด TCC ของ CTRL MC BB EU BBMC และ EUMC แสดงในรูปที่ 3 การทดลองดังกล่าวเป็นการกำจัด TCC ณ ความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากรูปที่ 3 พบว่าชุดการทดลอง CTRL ซึ่งเป็นชุดควบคุม (ไม่มีไบโอชาร์และจุลินทรีย์) มีค่า TCC ค่อนข้างคงที่ตลอดช่วงการทดลอง ส่วนชุดการทดลอง BB BBMC EU EUMC และ MC สามารถกำจัด TCC ได้อย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการทดลองและเริ่มคงที่ในชั่วโมงที่ 12

โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ณ เวลา ชั่วโมง ความเข้มข้น 24 TCC เฉลี่ยจากชุดการทดลอง MC BB EU BBMC และ EUMC เหลือเท่ากับ 5.41 2.12 2.36 2.33 และ 2.73 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นประสิทธิภาพการกำจัด TCC เท่ากับร้อยละ 4 ตารางที่) 24.78-63.42) และมีอัตราการกำจัด TCC ดังแสดงในตารางที่ 5 ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าไบโอชาร์และไบ



รูปที่ 3 การกำจัด TCC ด้วยชุดการทดลอง MC46 BB BBMC EU และ EUMC

โอซาร์ตริงเซลล์มีอัตราการกำจัดสูงกว่าการย่อยสลายทางชีวภาพด้วย MC อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาเฉพาะ BB EU BBMC และ EUMC ตามจลนศาสตร์เทียมพบว่าการกำจัดสารเป็นไปตามปฏิกิริยาเทียมอันดับที่ 2 ซึ่งสามารถบ่งบอกได้ว่าการดูดซับที่เกิดขึ้นเป็นการดูดซับทางเคมีที่อาจเกี่ยวข้องกับแรงโควาเลนต์ พันธะไฮโดรเจนและการแลกเปลี่ยนไอออนหรืออิเล็กตรอนระหว่างสารดูดซับและตัวดูดซับ [28-30] ทั้งนี้ MC สามารถกำจัด TCC ได้ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Taweetanawanit et al. เนื่องจากเซลล์แบคทีเรียเป็นสายพันธุ์เดียวกัน [31] สำหรับการกำจัด TCC ด้วย BB และ EU พบว่ามีประสิทธิภาพสูง เนื่องด้วย TCC มีคุณสมบัติค่าสัมประสิทธิ์ออกทานอลกับน้ำค่อนข้างสูง (Octanol-water partitioning coefficient; $\log K_{ow} = 4.9$) ค่าดังกล่าวซึ่งบ่งบอกว่า TCC มีความเป็นไปได้ในการถูกกำจัดด้วยการดูดซับสูง และมีสมบัติการละลายน้ำต่ำ (ความสามารถในการละลายน้ำ 0.65-1.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ณ 25 องศาเซลเซียส) [19] จึงส่งผลให้กลไกการดูดซับด้วยวัสดุพูนเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามเมื่อใช้หลักการทางสถิติในการประเมินผลการศึกษพบว่าประสิทธิภาพการกำจัด TCC ด้วย BB และ EU มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P = 0.195$) เนื่องจากวัสดุดูดซับทั้งสองชนิดมีพื้นที่ผิวและปริมาตรของรูพูนใกล้เคียงกันจึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการดูดซับมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้จากงานวิจัยของ Martins et al. และ Wang et al. ได้วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิว (surface functional group) พบว่าวัสดุทั้งสองมีหมู่ฟังก์ชันบนพื้นผิว คือ phenolic OH, C=C, C=O, aromatic ring, CH group เป็นสำคัญ เช่นเดียวกัน จึงส่งผลให้ความสามารถในการดูดซับสารอินทรีย์ในงานวิจัยนี้ด้วยไบโอซาร์ทั้งสองมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน [32,23]

สำหรับชุดการทดลอง BBMC และ EUMC เป็นการตรึงเซลล์ MC46 ลงบนวัสดุเพื่อให้การกำจัด TCC เกิดทั้งกลไกการดูดซับด้วยวัสดุพูนและการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ที่เกาะติดอยู่บนวัสดุ โดยประสิทธิภาพการกำจัด TCC ด้วย BBMC และ EUMC มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P = 0.105$) เช่นเดียวกันกับการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัด TCC ด้วย BB และ EU

จากการศึกษาในอดีตพบว่าการใช้วิธีการบำบัดร่วมระหว่างการดูดซับด้วยวัสดุพูนและการย่อยสลายทางชีวภาพช่วยส่งเสริมให้ประสิทธิภาพการกำจัดสารปนเปื้อนเพิ่มสูงขึ้นประกอบกับการอายุการใช้งานของวัสดุดูดซับยาวนานขึ้น ดังตัวอย่างงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการตรึงเซลล์บนไบโอซาร์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดไนลีนฟีนอล (Nonylphenol) [10] สำหรับการศึกษาครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองการกำจัด TCC ด้วยไบโอซาร์และไบโอซาร์ตรึงเซลล์พบว่าไบโอซาร์และไบโอซาร์ตรึงเซลล์มีประสิทธิภาพในการกำจัด TCC ใกล้เคียงกัน กล่าวคือ ชุดการทดลอง BBMC และ EUMC มีประสิทธิภาพในการกำจัด TCC น้อยกว่า BB และ EU แต่ไม่มีนัยสำคัญ ผลการทดลองอาจเกิดได้จาก กระบวนการดูดซับเกิดขึ้นก่อนกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ เนื่องจากไบโอซาร์เป็นวัสดุที่มีพื้นที่ผิวสัมผัสและรูพูนสูงจึงมีความสามารถในการดูดซับสารอินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งในการศึกษาของ Wang et al. พบว่าถ่านไม้ไผ่สามารถดูดซับยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Fluoroquinolone ได้ภายในเวลาเพียง 1 ชั่วโมง จึงเป็นไปได้ว่า TCC ถูกดูดซับด้วยไบโอซาร์อย่างรวดเร็วก่อนเกิดกระบวนการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ส่งผลให้การกำจัดด้วยไบโอซาร์และไบโอซาร์ตรึงเซลล์มีผลใกล้เคียงกัน [33] นอกจากนี้การตรึงเซลล์อาจเกิดการแย่ง หรือ บดบังพื้นที่ผิวสำหรับการดูดซับ TCC ดังนั้นจึงส่งผลให้ความสามารถในการดูดซับสารของไบโอซาร์ตรึงเซลล์อาจลดลงบ้าง [34] โดยการศึกษาของ Lou et al. พบว่าการบำบัด nonylphenol ด้วยถ่านเพียงอย่างเดียวมีการลดลงของสารอย่างรวดเร็วและเข้าสู่สมดุลภายใน 16 ชั่วโมงแรก เมื่อเปรียบเทียบกับถ่านที่มีการตรึงเซลล์พบว่ามีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงกว่าแต่ใช้เวลาในการบำบัดนานกว่า จึงเป็นไปได้ว่าในการศึกษานี้ BBMC และ EUMC จะใช้เวลาในการบำบัด TCC มากกว่า BB และ EU เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุด นอกจากนี้ยังเป็นไปได้ว่าเซลล์ MC46 และ TCC มีการใช้หมู่ฟังก์ชันเหมือนกันบนไบโอซาร์ส่งผลให้ EUMC และ BBMC มีความสามารถในการกำจัด TCC น้อยกว่า BB และ EU โดยการศึกษาของ Shen et al. พบว่าพื้นผิวของ microalgae ประกอบไปด้วยหมู่ฟังก์ชัน carboxyl, hydroxyl, carbonyl และ phosphodiester ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่ใช้ในการดูดซับกับโลหะหนักเช่นเดียวกับไบโอซาร์ [10,35]

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการกำจัด TCC ด้วยไบโอชาร์และไบโอชาร์ตรึงเซลล์ ณ เวลา 24 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	รายละเอียดชุดการทดลอง	ร้อยละประสิทธิภาพการกำจัด TCC (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
CTRL	ชุดควบคุม	9.48 $\pm$ 1.38
MC	MC46 อิสระ	42.63 $\pm$ 1.70
BB	ไบโอชาร์ไม้ไผ่	78.24 $\pm$ 1.93
BBMC	ไบโอชาร์ไม้ไผ่ตรึง MC46	75.78 $\pm$ 0.30
EU	ไบโอชาร์ยูคาลิปตัส	75.52 $\pm$ 3.06
EUMC	ไบโอชาร์ยูคาลิปตัสตรึง MC46	72.12 $\pm$ 3.02

ตารางที่ 5 การกำจัด TCC ด้วยเซลล์อิสระ ไบโอชาร์ และไบโอชาร์ตรึงเซลล์

ชุดการทดลอง	สมการจลนศาสตร์ ^a	R ²	อัตราการกำจัด ^b
CTRL	$\ln(C) = -0.002t + 2.171$	0.08	0.04
MC	$\ln(C) = -0.034t + 2.217$	0.87	0.17
BB	$\ln(C) = -0.105t + 2.303$	0.99	0.32
BBMC	$\ln(C) = -0.110t + 2.212$	0.96	0.30
EU	$\ln(C) = -0.077t + 2.189$	0.94	0.30
EUMC	$\ln(C) = -0.095t + 2.205$	0.97	0.30

หมายเหตุ : ^a สมการจลนศาสตร์ระหว่าง $\ln$ (ความเข้มข้น TCC) (ในหน่วย มิลลิกรัม/ลิตร) และ เวลา (ในหน่วย ชั่วโมง)

: ^b อัตราการกำจัดมีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/ลิตร-ชั่วโมง

ตารางที่ 6 จลนศาสตร์เทียมการกำจัด TCC ด้วยไบโอชาร์และไบโอชาร์ตรึงเซลล์

ชุดการทดลอง	สมการจลนศาสตร์เทียม ^a	R ²	ค่าคงที่จลนศาสตร์ ^b
BB	$y = 0.885x + 9.178$	0.96	0.09
BBMC	$y = 1.117x + 5.233$	0.98	0.24
EU	$y = 1.093x + 7.067$	0.96	0.17
EUMC	$y = 1.178x + 4.901$	0.99	0.28

หมายเหตุ : ^a สมการจลนศาสตร์ โดย x คือ เวลา (ชั่วโมง) y คือ t/Q_t (ชั่วโมง-กรัม/มิลลิกรัม)

: ^b ค่าคงที่จลนศาสตร์ของปฏิกิริยาเทียมอันดับที่ 2 (กรัม/มิลลิกรัม-ชั่วโมง)

อย่างไรก็ตามการบำบัดสารปนเปื้อนในระยะยาวการตรึงเซลล์บนไบโอชาร์มีผลดีหลายประการ เนื่องจากวัสดุดังกล่าวเกิดทั้งกลไกการดูดซับและการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ซึ่งทำให้วัสดุใช้ดูดซับได้ยาวนานกว่า และเมื่อการดูดซับเต็มความสามารถของวัสดุแล้วยังมีกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพกำจัดสาร TCC ต่อไป รวมทั้งการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ซึ่งเป็นการเปลี่ยนรูปสารทางชีวภาพ (Biotransformation) ให้เป็นสารมัธยันตร์ (Intermediate product) ที่มีความเป็นพิษน้อยลงซึ่งส่งผลให้ลดความเป็นพิษในสิ่งแวดล้อมลงได้

นอกจากนี้สำหรับการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์นั้นไบโอชาร์ส่งเสริมให้จุลินทรีย์มีความทนทานในสิ่งแวดล้อมมากกว่า เนื่องจากจุลินทรีย์ไม่ได้สัมผัสสารพิษโดยตรงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่สารปนเปื้อนมีความเป็นพิษและความเข้มข้นสูง รวมทั้งธาตุในไบโอชาร์ยังสามารถเป็นแหล่งสารอาหารแก่จุลินทรีย์อีกด้วย [10,36,37] ยิ่งไปกว่านั้นการใช้วัสดุตรึงจุลินทรีย์ (Supporting material) ช่วยส่งเสริมให้เซลล์ไม่สูญเสียความสามารถในการย่อยสลายสารและสามารถนำเซลล์กลับมาใช้ในการย่อยสลายสารได้อีกหลายครั้ง ดังนั้นแนวโน้มในการประยุกต์ใช้จริงไบโอชาร์และไบโอชาร์ตรึงเซลล์มีศักยภาพในการใช้งานในอนาคต โดยไบโอชาร์ตรึงเซลล์ยังสามารถลดพิษในสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย

3.4 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนของ MC46 ก่อนและหลังการบำบัด TCC

ผลจากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของ MC46 ก่อนและหลังการบำบัด TCC พบว่าเซลล์อิสระมีแนวโน้มลดลงในช่วง 24 ชั่วโมง (10^8 ซีเอฟยู/มิลลิลิตร-ชุดการทดลอง) ดังตารางที่ 7 เซลล์อิสระมีอัตราการอยู่รอดต่ำลงเนื่องจากความเข้มข้นของ TCC สูงอาจทำให้ผนังเซลล์อาจถูกทำลายและเกิดการตายของเซลล์ในที่สุด [21] นอกจากนี้อาจเกิดจากการที่ไม่มีแหล่งคาร์บอนเพิ่มเติมให้กับ MC46 ด้วย [38-39] แต่เมื่อพิจารณา BBMC และ EUMC พบว่า MC46 ที่ถูกตรึงบนถ่านทั้งสองชนิดมีความสามารถในการอยู่รอดได้มากกว่าเซลล์อิสระ ผลการทดลองในสอดคล้องกับงานวิจัยในอดีตที่ระบุว่า การตรึงจุลินทรีย์บนวัสดุพอร์ซุสส่งเสริมให้เซลล์มีอัตราการอยู่รอดสูงขึ้นและสามารถป้องกันเซลล์จากสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ [40] อีกทั้งการตรึงเซลล์บนไบโอชาร์ยังให้ผลดีต่อการประยุกต์ใช้งานจริง

หลายประการ กล่าวคือ ง่ายต่อการจัดการ สร้างเสริมความทนทานให้กับเซลล์ภายใต้อุณหภูมิและพีเอชไม่เหมาะสมสามารถนำเซลล์กลับมาใช้ซ้ำได้ คงกิจกรรมของเซลล์ไม่ให้ลดลง และส่งเสริมอัตราการย่อยสลายมลพิษได้ [41]

ตารางที่ 7 จำนวนของ MC46 ก่อนและหลังการบำบัด TCC ณ เวลา 24 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	รายละเอียด	จำนวนเซลล์ (ซีเอฟยู/มิลลิลิตร-ชุดการทดลอง)	
		ก่อนการบำบัด	หลังการบำบัด
MC	MC46 อิสระ	1.04×10^9	0.87×10^9
BBMC	ไบโอชาร์ไม้ไผ่ตรึง MC46	1.01×10^9	1.03×10^9
EUMC	ไบโอชาร์ยูคาลิปตัสตรึง MC46	1.01×10^9	1.10×10^9

3.5 ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานไบโอชาร์และไบโอชาร์ตรึงเซลล์ก่อนและหลังการใช้งาน

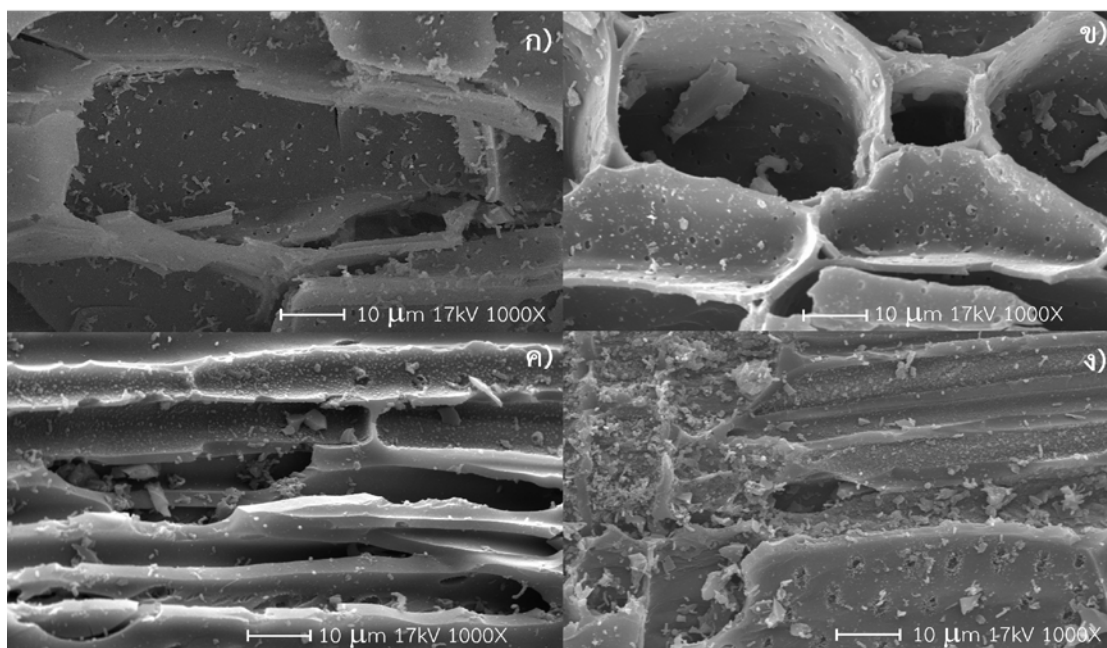
จากการศึกษาลักษณะสัณฐานของ BBMC และ EUMC ก่อนและหลังการใช้งานด้วย SEM พบว่า BBMC ก่อนการใช้งาน (รูปที่ 4) มีการกระจายตัวของ MC46 อยู่ทั่วพื้นผิวของวัสดุและมีลักษณะรูปร่างเป็นแท่งยาว (Long rod) จากการสังเกตตัวอย่าง BBMC ภายหลังจากการใช้งาน 24 ชั่วโมง พบว่า MC46 ที่บริเวณพื้นผิวนอกของวัสดุมีน้อยลง แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผลการนับจำนวน MC46 ที่กล่าวถึงในหัวข้อที่ผ่านมาซึ่งพบว่าภายหลังจากทดลองจำนวนเซลล์ MC46 ใน BBMC เพิ่มขึ้น ดังนั้นสาเหตุที่พบเซลล์ที่ผิววัสดุน้อยอาจเนื่องมาจาก MC46 หลีกหนีสภาวะที่มีสารพิษ TCC เข้าไปยังบริเวณรูพรุนของไบโอชาร์เพื่อลดโอกาสสัมผัสสารพิษตลอดจนต้องการใช้สารอาหารภายในวัสดุ เทคนิคการดูดติดเซลล์บนพื้นผิววัสดุ (Cell attachment on surface) อาศัยพันธะที่มีแรงอ่อน อาทิ แรงแวนเดอร์วาลส์ พันธะไฮโดรเจนและพันธะไฮโดรเจนระหว่างเซลล์และวัสดุเท่านั้น ดังนั้นปรากฏการณ์ดังกล่าวจึงเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นได้ในทั่วไป [36]

ในส่วนของ EUMC ก่อนและหลังในงาน (รูปที่ 4ค และ 4ง) แสดงให้เห็นว่า MC46 หลังการใช้งานเพิ่มจำนวนขึ้นบริเวณพื้นผิวของวัสดุ ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับจำนวน

จุลินทรีย์ที่นับได้ในหัวข้อที่ผ่านมา ทั้งนี้ผลการทดลอง EUMC ต่างจาก BBMC อาจเป็นเพราะ EUMC มีโครงสร้างหนาแน่นกว่าส่งผลให้จุลินทรีย์เคลื่อนที่เข้าภายในวัสดุได้ยาก แต่อย่างไรก็ตามผล SEM ดังกล่าวนี้นี้เป็นเพียงการสังเกตเบื้องต้นควรมีงานวิจัยต่อเนื่องในประเด็นความเครียดทางสิ่งแวดล้อม (Environmental stress) จากสารพิษต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์ (Cell motility) อย่างชัดเจนในอนาคต

4. สรุปผล

ไบโอชาร์จากไม้ไผ่และไม้ยูคาลิปตัสซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งที่ได้จากกระบวนการผลิตน้ำส้มควันไม้สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุดูดซับ TCC ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (สูงสุดร้อยละ 78) โดยความสามารถในการดูดซับของไบโอชาร์ทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ อีกทั้งไบโอชาร์ยังเป็นวัสดุที่ยืดเกาะให้กับจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการย่อยสลาย TCC ได้ ไบโอชาร์ทั้งสองชนิดส่งเสริมให้จุลินทรีย์มีอัตราการอยู่รอดสูงขึ้นและช่วยให้การกำจัดมีประสิทธิภาพมากกว่าการย่อยสลายด้วยเซลล์อิสระเพียงอย่างเดียว อัตราการกำจัด TCC ด้วย BB EU BBMC และ EUMC มีค่า 0.32 0.30 0.30 และ 0.30 มิลลิกรัมต่อลิตร-ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่เซลล์อิสระมีอัตราการกำจัด TCC เพียง 0.17 มิลลิกรัมต่อลิตร-ชั่วโมง ผลจากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าไบโอชาร์และไบโอชาร์ตรึงเซลล์มีประสิทธิภาพการกำจัด TCC สูงแต่การตรึงเซลล์ส่งผลต่อการบำบัดในระยะยาว เนื่องจากสามารถเกิดได้ทั้งกลไกการย่อยสลายของมลสารให้มีความเป็นพิษลดลงและกลไกการดูดซับของวัสดุพรมที่มีพื้นที่ผิวสูง ในอนาคตควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการประยุกต์ใช้ไบโอชาร์ในการบำบัด TCC ในตัวกลางทางธรรมชาติอื่น ๆ เช่น ดิน ตะกอน ตลอดจนการใช้งานไบโอชาร์ไบโอชาร์ตรึงเซลล์และการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ในระยะยาว รวมไปถึงการนำวัสดุกลับมาใช้ซ้ำ เพื่อชี้ให้เห็นถึงผลกระทบที่เกิดขึ้นต่อการใช้งานวัสดุและ MC46



รูปที่ 4 การศึกษาลักษณะสัณฐานของ ก) BBMC ก่อนใช้งาน ข) BBMC หลังใช้งาน ค) EUMC ก่อนใช้งาน และ ง) EUMC หลังใช้งานด้วย SEM

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนวิจัยตลอดจนความอนุเคราะห์เครื่องมือและสถานที่จาก คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ศูนย์วิจัยด้านการจัดการสิ่งแวดล้อมและสารอันตราย มหาวิทยาลัยขอนแก่น และศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตราย (ศสอ.)

เอกสารอ้างอิง

- [1] Wessapan T, Sutthisong S, Somsuk N, Hussaro K, Teekasap S. A Development of Pyrolysis Oven for Wood. *EAU Heritage Journal*. 2013.
- [2] Wu Q, Zhang S, Hou B, Zheng H, Deng W, Liu D. Study on the preparation of wood vinegar from biomass residues by carbonization process. *Bioresour Technology*. 2015; 179:98–103.
- [3] Theapparatt Y, Chandumpai A, Leelasuphakul W, Laemsak N, Ponglimanont C. Physicochemical characteristics of wood vinegars from

carbonization of leucaena leucocephala, azadirachta indica, eucalyptus camaldulensis, hevea brasiliensis and dendrocalamus asper. *Kasetsart Journal Natural Science*. 2014 ;48(6):916–28.

- [4] Joseph S, Taylor P. The production and application of biochar in soils. *Advances in Biorefineries: Biomass and Waste Supply Chain Exploitation*. 2014. 525–555.
- [5] Ahmad M, Rajapaksha AU, Lim JE, Zhang M, Bolan N, Mohan D, et al. Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water. *Chemosphere*. 2014 ;99:19–33.
- [6] Sizmur T, Quilliam R, Puga AP, Moreno-jiménez E, Beesley L, Gomez-eyles JL. Application of Biochar for Soil Remediation. *Agricultural and Environmental Applications of Biochar: Advances and Barriers*. 2015 ;98104:1–30.
- [7] Lian F, Sun B, Song Z, Zhu L, Qi X, Xing B. Physicochemical properties of herb- residue biochar and its sorption to ionizable antibiotic sulfamethoxazole. *Chemical Engineering*

- Journal*. 2014 ;248:128–34.
- [8] Ahmad M, Lee SS, Dou X, Mohan D, Sung JK, Yang JE, et al. Effects of pyrolysis temperature on soybean stover- and peanut shell-derived biochar properties and TCE adsorption in water. *Bioresour Technology*. 2012 ;118:536–44.
- [9] Vithanage M, Mayakaduwa SS, Herath I, Ok YS, Mohan D. Kinetics, thermodynamics and mechanistic studies of carbofuran removal using biochars from tea waste and rice husks. *Chemosphere*. 2016 ;150:781–9.
- [10] Lou L, Huang Q, Lou Y, Lu J, Hu B, Lin Q. Adsorption and degradation in the removal of nonylphenol from water by cells immobilized on biochar. *Chemosphere*. 2019 ;228:676–84.
- [11] Brausch JM, Rand GM. A review of personal care products in the aquatic environment: Environmental concentrations and toxicity. *Chemosphere*. 2011 ;82(11):1518–32.
- [12] Craddock HA, Panthi S, Rjoub Y, Lipchin C, Sapkota A, Sapkota AR. Antibiotic and herbicide concentrations in household greywater reuse systems and pond water used for food crop irrigation: West Bank, Palestinian Territories. *Science of the Total Environment*. 2020 ;699:134205.
- [13] Vimalkumar K, Arun E, Krishna-Kumar S, Poopal RK, Nikhil NP, Subramanian A, et al. Occurrence of triclocarban and benzotriazole ultraviolet stabilizers in water, sediment, and fish from Indian rivers. *Science of the Total Environment*. 2018 ;625:1351–60.
- [14] Ogunyoku TA, Young TM. Removal of Triclocarban and Triclosan during Municipal Biosolid Production. *Water Environment Research*. 2014 ;86(3):197–203.
- [15] Lozano N, Torrents A, Rice CP, Ramirez M. Fate of triclosan in agricultural soils after biosolid applications. *Chemosphere*. 2010 ;78(6):760–6.
- [16] Xu X, Lu Y, Zhang D, Wang Y, Zhou X, Xu H, et al. Toxic assessment of triclosan and triclocarban on *Artemia salina*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2015 ;95(6):728–33.
- [17] Venkatesan AK, Pycke BFG, Barber LB, Lee KE, Halden RU. Occurrence of triclosan , triclocarban , and its lesser chlorinated congeners in Minnesota freshwater sediments collected near wastewater treatment plants. *Journal of Hazardous Materials*. 2012 ;229–230:29–35.
- [18] Hinthner A, Bromba CM, Wul JE, Helbing CC. Effects of Triclocarban , Triclosan , and Methyl Triclosan on Thyroid Hormone Action and Stress in Frog and Mammalian Culture Systems. *Environmental Science and Technology*. 2011 ;5395–402.
- [19] Paull DH. Co-Occurrence of Triclocarban and Triclosan in U . S . *Water Resources*. 2005 ;39(6):1420–6.
- [20] Sipahutar MK, Piapukiew J, Vangnai AS. Efficiency of the formulated plant- growth promoting *Pseudomonas fluorescens* MC46 inoculant on triclocarban treatment in soil and its effect on *Vigna radiata* growth and soil enzyme activities. *Journal of Hazardous Materials*. 2018 ;344:883–92.
- [21] Taweetanawanit P, Ratpukdi T, Siripattanakul-Ratpukdi S. Performance and kinetics of triclocarban removal by entrapped *Pseudomonas fluorescens* strain MC46. *Bioresour Technology*. 2019 ;274(September 2018):113–9.
- [22] Dong Q, Xiong Y. Kinetics study on conventional and microwave pyrolysis of moso bamboo. *Bioresour Technology*. 2014;171:127–31.
- [23] Wang H, Wang X, Cui Y, Xue Z, Ba Y. Slow pyrolysis polygeneration of bamboo (*Phyllostachys pubescens*) : Product yield prediction and biochar formation mechanism.

- Bioresoure Technology*. 2018 ;263:444–9.
- [24] Supanchaiyamat N, Jetsrisuparb K, Knijnenburg JTN, Tsang DCW, Hunt AJ. Lignin materials for adsorption: Current trend, perspectives and opportunities. *Bioresoure Technology*. 2019 ;570–81.
- [25] Guerrero M, Ruiz MP, Millera Á, Alzueta MU, Bilbao R. Characterization of Biomass Chars Formed under Different Devolatilization Conditions□: Differences between Rice Husk and Eucalyptus. *Energy and fuels*. 2008 ;(17):1275–84.
- [26] Bridgwater A V., Bridge SA. A Review of Biomass Pyrolysis and Pyrolysis Technologies. *Biomass Pyrolysis Liquids Upgrading and Utilization*. 1991;11–92.
- [27] Li Z, Zhang X, Xiong X, Zhang B, Wang L. Determination of the best conditions for modified biochar immobilized petroleum hydrocarbon degradation microorganism by orthogonal test Determination of the best conditions for modified biochar immobilized petroleum hydrocarbon degradation microorganism. *Earth and Environmental Science*. 2017.
- [28] Jia M, Wang F, Bian Y, Jin X, Song Y, Kengara FO, et al. Effects of pH and metal ions on oxytetracycline sorption to maize-straw-derived biochar. *Bioresoure Technology*. 2013 ;136:87–93.
- [29] Ho YS. Review of second- order models for adsorption systems. *Journal of Hazardous Materials*. 2006 ;136(3):681–9.
- [30] Tong Y, Mcnamara PJ, Mayer BK. a review of relevant kinetics , mechanisms. *Environmental Science Water Research and Technology*. 2019.
- [31] Taweetawanit P, Siripattanakul- Ratpukdi S. Comparison of Triclocarban Antibiotic Removal by Entrapped *Pseudomonas fluorescens*. *UBU Engineering Journal*. 2017; 12(1).
- [32] Martins AF, Cardoso A de L, Stahl JA, Diniz J. Low temperature conversion of rice husks, eucalyptus sawdust and peach stones for the production of carbon- like adsorbent. *Bioresource Technology*. 2007;98(5):1095–100.
- [33] Wang Y, Lu J, Wu J, Liu Q, Zhang H, Jin S. Adsorptive Removal of Fluoroquinolone Antibiotics Using Bamboo Biochar. *Sustainability*. 2015;12947–57.
- [34] Pino NJ, Muñera LM, Peñuela GA. Bioaugmentation with Immobilized Microorganisms to Enhance Phytoremediation of PCB- Contaminated Soil. *Soil Sediment Contamination*. 2016 ;25(4):419–30.
- [35] Shen Y, Li H, Zhu W, Ho SH, Yuan W, Chen J, et al. Microalgal-biochar immobilized complex: A novel efficient biosorbent for cadmium removal from aqueous solution. *Bioresoure Technology*. 2017 ;244:1031–8.
- [36] Suzana C udia SM, Claudia M, a M, Larissa Guedes Fiucute za MC o, ra T dde S. Immobilization of microbial cells: A promising tool for treatment of toxic pollutants in industrial wastewater. *African Journal of Biotechnology*. 2013; 12(28):4412–8.
- [37] Wang C, Gu L, Ge S, Liu X, Zhang X, Chen X. Remediation potential of immobilized bacterial consortium with biochar as carrier in pyrene- Cr(VI) co- contaminated soil. *Environment Technology*. 2018 ;1–9.
- [38] Aksu Z. Application of biosorption for the removal of organic pollutants, *Process Biochemistry*. 2005 ;40:997–1026.
- [39] Ying GG, Yu XY, Kookana RS. Biological degradation of triclocarban and triclosan in a soil under aerobic and anaerobic conditions and comparison with environmental fate modelling. *Environmental Pollution*. 2007 ;150(3):300–5.
- [40] Laocharoen S, Plangklang P, Reungsang A. Selection of support materials for

immobilization of Burkholderia cepacia PCL3 in treatment of carbofuran- contaminated water. *Environment Technology*. 2013 ;34(18):2587–97.

- [41] Partovinia A, Rasekh B. Technology Review of the immobilized microbial cell systems for bioremediation of petroleum hydrocarbons polluted environments. *Environmental science and technology*. 2018;3389.