

## บทที่ 2

### การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ชนิดของสีย้อม และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สารเคมีหลักที่ใช้ในการย้อม คือ สีย้อม (Dyes) และสารช่วยย้อม (Auxiliaries) เส้นใยสิ่งทอแต่ละชนิดมีสมบัติการย้อมติดสีแตกต่างกัน และในการย้อมสีแต่ละประเภทจำเป็นต้องใช้สารช่วยที่แตกต่างกันด้วย สีย้อมในอุตสาหกรรมสิ่งทอมีด้วยกันหลายประเภท หลักๆ ได้แก่ สีไดเร็กต์ สิริแอคทีฟ สีแว็ต สีซัลเฟอร์ สีเอโซอิก สีดีสเพิร์ส สีเบสิก และสีแอซิด สีย้อมที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นเอโซเป็นกลุ่มที่ใช้มากที่สุดในอุตสาหกรรม การย้อมสีสิ่งทอแต่พบว่าเป็นกลุ่มสีที่มีแนวโน้มที่จะก่อการระคายเคืองต่อ เนื้อเยื่อมนุษย์ สีย้อมประเภทเอโซบางชนิดที่แตกตัวให้อะโรมาติกเอมีนต้องห้าม สหภาพยุโรปกำหนดห้ามใช้สีย้อมที่ให้สารต้องห้าม (ที่แสดงใน Directive 76/769/EWG) ในปริมาณที่มากกว่า 30 ppm สำหรับผลิตภัณฑ์สิ่งทอที่สัมผัสกับร่างกายโดยตรง สีย้อมประเภทที่ประกอบด้วยสารฮาโลเจนในโครงสร้าง ก่อให้เกิดการปลดปล่อยสาร AOX ส่วนสีที่มีโลหะหนักเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง โลหะหนักเหล่านี้อาจเจือปนออกมากับน้ำทิ้งได้จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับระดับ การผนึกของสีบนเส้นใย

นอกจากสีย้อมแล้ว ในกระบวนการย้อมยังประกอบด้วยสารช่วยย้อม ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสีย้อมที่ใช้แล้วแต่กลไกการย้อมที่แตกต่างกัน สีย้อมหลายประเภทจำเป็นต้องใช้เกลือช่วยในการย้อม เพื่อให้สีดูดซับเข้าไปใน เส้นใยได้ดีขึ้น เช่น สีไดเร็กต์ สิริแอคทีฟสำหรับย้อมเส้นใยเซลลูโลส เป็นต้น เกลือที่ใช้ทั่วไปในการย้อมคือเกลือโซเดียมคลอไรด์ และโซเดียมซัลเฟต แม้เกลือจะมีระดับความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตต่ำแต่หากใช้ในปริมาณมาก ความเข้มข้นของเกลืออาจสูงจนก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมได้ นอกจากการเติมเกลือแล้ว การย้อมสิริแอคทีฟยังจำเป็นต้องใช้ต่างเป็นสารช่วยในการผนึกสีด้วย ต่างที่ใช้ ได้แก่ โซเดียมคาร์บอเนต และโซเดียมไฮดรอกไซด์ สำหรับสีย้อมเซลลูโลสกลุ่มที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ สีแว็ต และสีซัลเฟอร์ เมื่อจะทำการย้อมบนเส้นใยจำเป็นต้องเปลี่ยนโมเลกุลสีให้อยู่ในสภาพที่ละลาย น้ำได้โดยรีดิวซ์โมเลกุลสีด้วยสารรีดิวซิงเพื่อให้สีสามารถแทรกซึมเข้าไป ย้อมติดเส้นใยได้ การย้อมเซลลูโลสด้วยสีซัลเฟอร์ใช้โซเดียมซัลไฟด์เป็นสารรีดิวซิง หลังการย้อมซัลไฟด์จะเจือปนในน้ำทิ้งซึ่งเป็นพิษต่อสัตว์น้ำและทำให้ค่า COD ของน้ำสูงขึ้น สารรีดิวซิงอีกตัวหนึ่งที่ใช้ใน

กระบวนการย้อม คือ โซเดียมไฮโดรซัลไฟด์ แต่ไม่รุนแรงเท่าซัลไฟด์ สีแอสิดเป็นสีที่ใช้ย้อมเส้นใยโปรตีน เช่น ไหม สีชนิดนี้จะแตกตัวเป็นประจุลบและเกาะกับประจุบวกบนเส้นใยด้วยพันธะไอออนิก ส่วนสีเบสิกเป็นสีที่ใช้ย้อมเส้นใยอะคริลิก สีเบสิกมีประจุบวกและยึดเกาะกับประจุลบบนเส้นใยด้วยพันธะไอออนิกเช่นกัน มีการใช้สารช่วยย้อมประเภทกรด เช่น กรดอะซิติก เพื่อช่วยปรับ pH ของน้ำย้อม และสาร leveling ลงไปช่วยให้การย้อมสม่ำเสมอ สีดีสเพิร์สเป็นสีย้อมสำหรับเส้นใยสังเคราะห์เป็นสีย้อมที่ละลายน้ำได้ต่ำ ดังนั้นจึงต้องเตรียมให้อยู่ในภาพสารที่กระจายอยู่ในน้ำ (Dispersion) เพื่อให้ย้อมติดเส้นใยได้อย่างสม่ำเสมอโดยใช้สารช่วยกระจายหรือ dispersing agent สำหรับการย้อมเส้นใยพอลิเอสเตอร์ด้วยสีดีสเพิร์สที่อุณหภูมิน้ำเดือด มีการใช้สาร Carrier ช่วยให้อัตราการซึมเข้าสู่เส้นใยได้ดีขึ้น (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2555)

## 2.2 ผลกระทบของสีย้อมผ้าต่อชุมชน

### 2.2.1 ด้านสุขภาพ

สีย้อมสามารถเข้าสู่ร่างกายของผู้ใช้ได้ 3 ทางคือทางจมูกโดยการสูดดมทางผิวหนังโดยการสัมผัส และทางระบบทางเดินอาหาร โดยปนเข้าไปกับอาหารการกิน แต่ก็เป็นที่ทราบกันดีว่าสารวัตถุพิษที่ใช้ในการสังเคราะห์ สีย้อม มีจำนวนมากไม่น้อยที่มีความเป็นพิษสูงมาก และมีหลายตัวเป็นสารก่อมะเร็ง เช่น 2-naphthylamine และ benzidine ผลกระทบของสีย้อมต่อสิ่งแวดล้อม หรือสมบัติด้านมลพิษของสีย้อมนั้น พบว่าสีย้อมเป็นสารที่ยากต่อการสลายตัวทางชีวภาพ แต่ความเป็นพิษต่อปลาค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตาม ปัญหาสำคัญของสีย้อมในน้ำทิ้ง ปัจจุบันมีได้อยู่ที่ความเป็นพิษของสีย้อม แต่อยู่ที่สีของน้ำทิ้ง เนื่องจาก สีย้อมเป็นสารที่มีสีเข้ม ดังนั้น แม้มีสีอยู่ในน้ำเพียงปริมาณเล็กน้อย ก็สามารถทำให้น้ำมีสีเป็นที่ รังเกียจของผู้พบเห็นได้จึงต้องมีการกำจัดสีของน้ำทิ้งก่อนปล่อยลงสู่สิ่งแวดล้อม ปัญหาที่เกิดจากสีย้อมในน้ำทิ้งจากโรงงาน สามารถสรุปได้ดังนี้ คือ ก่อให้เกิดความไม่สวยงามทางด้านทัศนียภาพขัดขวางการเดินทางของแสง ซึ่งจำเป็นต่อการสังเคราะห์แสงของพืช ส่งผลให้การผลิออกซิเจนลดลง ทำให้สัตว์น้ำขาดออกซิเจน สำหรับสีย้อมที่เป็นสารอินทรีย์ย่อยสลายได้ ทำให้ออกซิเจนละลายน้ำลดลง และพบว่าสีย้อมหลายชนิดจัดเป็นสารก่อมะเร็ง (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม และสถาบันพัฒนาอุตสาหกรรมสิ่งทอ, 2552)

### 2.2.2 ด้านมลพิษทางน้ำ

อุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นอุตสาหกรรมประเภทหนึ่ง ที่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้ จะเห็นได้จากภาพรวมของอุตสาหกรรมทั้งระบบ สามารถก่อให้เกิดมลพิษได้หลายทาง เช่น ทางน้ำ อุตสาหกรรมสิ่งทอเป็นแหล่งที่ก่อให้เกิดน้ำเสียมากที่สุด อุตสาหกรรมหนึ่ง โดยเฉพาะในขั้นตอนของกระบวนการฟอกย้อม พิมพ์ และตกแต่งสำเร็จ ทั้งนี้ เนื่องจากกระบวนการฟอกย้อมเป็นกระบวนการที่ต้องใช้น้ำในปริมาณมาก โดยเฉลี่ยแล้วในการผลิตผลิตภัณฑ์สิ่งทอน้ำหนัก 1 กิโลกรัม จำเป็นต้องใช้น้ำประมาณ 160 กิโลกรัม (0.16 ลูกบาศก์เมตร) ยิ่งไปกว่านั้น อุตสาหกรรมสิ่งทอยังจำเป็นต้องใช้สารเคมีจำนวนมาก ส่งผลให้เกิดน้ำเสียจากกระบวนการต่างๆ มีสารเคมีเจือปนอยู่ค่อนข้างสูง ซึ่งหากไม่มีการบำบัดก่อนปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อชุมชนและสิ่งแวดล้อมขึ้นได้ ในทางปฏิบัติ ปริมาณน้ำที่ใช้น้ำและน้ำเสียที่เกิดจากโรงงานแต่ละแห่งนั้นมีปริมาณไม่เท่ากัน สิ่งหนึ่งที่สำคัญสำหรับการป้องกันมลพิษทางน้ำ แต่กลับทำได้ยากก็คือการประเมินการใช้น้ำ ซึ่งการประเมินดังกล่าวจะทำให้ทราบถึงความจำเป็นไปได้ หรือ

ศักยภาพของการลดการใช้ น้ำ รวมทั้งปริมาณน้ำเสียลง ในทางปฏิบัติ ปริมาณน้ำที่ใช้และน้ำเสียที่เกิดจากโรงงานแต่ละแห่งนั้น มีปริมาณไม่เท่ากัน สิ่งหนึ่งที่จำเป็นสำหรับการป้องกันมลพิษทางน้ำ แต่กลับทำได้ยากก็คือ การประเมินการใช้ น้ำ ซึ่งการประเมินดังกล่าวจะทำให้ทราบถึงความเป็นไปได้ หรือศักยภาพของการลดการใช้ น้ำ รวมทั้งปริมาณน้ำเสียลง ขั้นตอนแรกสำหรับการป้องกันมลพิษทางน้ำ คือ การตรวจประเมินถึงแหล่งที่มาและวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตสิ่งทอ จากนั้นเปรียบเทียบข้อมูลที่ได้กับค่าเฉลี่ยต่ำสุด เพื่อให้ทราบถึงเป้าหมายที่เป็นไปได้ของการลดปริมาณน้ำที่ใช้และน้ำเสียที่ (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2557)

## 2.3 เทคโนโลยีการกำจัดสี (Color Removal Technology) และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.3.1 เทคโนโลยีทางกายภาพ (Physical technology)

เป็นวิธีการกำจัดสีโดยใช้คุณสมบัติการดูดซับระหว่างสีกับสารดูดซับ ด้วยพันธะชนิดต่างๆ เช่น พันธะไอออนิก แรงแวลเดอร์วาลส์ หรือ แรงแดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ขั้ว เป็นต้น ทำให้สามารถแยกสีออกจากน้ำทิ้ง จนทำให้น้ำทิ้งดังกล่าวอยู่ในมาตรฐานที่ระบายลงสู่แหล่งน้ำได้ การแลกเปลี่ยนประจุ (Ion Exchange) การค้นพบสารสังเคราะห์ประเภทเรซิน (Synthetic Resin) ซึ่งมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุได้ดี นับได้ว่ามีประโยชน์ต่อการทำน้ำสะอาดและการบำบัดน้ำเสีย โดยเฉพาะการกำจัด เอาพวกโลหะหนัก เช่น เหล็กและโครเมียม หรือพวกสารอาหาร เช่น ไนโตรเจน แอมโมเนีย และฟอสเฟต ออกจากน้ำทิ้ง และป้องกันไม่ให้เกิดขึ้นมากเกินต้องการ นอกจากนี้สารอาหารที่ถูกเรซินจับไว้สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้อีก ส่วนตัวเรซินสังเคราะห์เมื่อใช้งานหมดประสิทธิภาพแล้ว นำกลับมาปรับคืนสภาพ (Regenerate) ด้วยกรดเกลือ (HCl) หรือเกลือแกง (NaCl) แล้วนำมาใช้ใหม่ได้ การปรับคืนสภาพสามารถทำได้หลายครั้งมาก ทำให้อายุการใช้งานของเรซินนานถึง 3-4 ปี การบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีแลกเปลี่ยนประจุได้ผลรวดเร็ว ใช้พื้นที่น้อย ประสิทธิภาพสูง อาจได้ผล พลอยได้นำกลับมาใช้ประโยชน์ได้ใหม่ เช่น การบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการเคลือบผิวด้วยโครเมียม น้ำเสียจะเป็นพวกกรดโครมิกที่ไม่บริสุทธิ์ ผ่านเข้ามายังเรซินเปลี่ยนประจุบวก แล้วจะได้กรดโครมิกที่บริสุทธิ์ออกมา เป็นต้น (Voudrias et al., 2002)

### 2.3.2 เทคโนโลยีการกำจัดสีทางเคมี (Chemical Technology)

เป็นสารใช้สารเคมีในการตกตะกอนสี ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก ราคาถูก แต่จะทำให้เกิดตะกอนสีเป็นปริมาณมาก สารเคมีที่ใช้จะมีประจุบวก เมื่อเติมลงไปจะทำให้เกิดความเป็นกลาง ละลายน้ำได้น้อยลง แต่เกิดแรงดึงดูดชนิดที่ไม่มีขั้วระหว่างโมเลกุลของสี ทำให้สีจับตัวกันจนได้ตะกอนใหญ่ขึ้นและตกลงมาด้วยกันถึงได้ สารเคมีที่ประจุบวกเป็นจำนวนมาก ได้แก่ สารส้ม และเกลือเหล็ก ( $FeCl_3$ ) วิธีเคมีหากปรับสภาพให้เกิดปฏิกิริยาได้อย่างเหมาะสม และมีราคาถูกกว่าระบบชีวภาพมากเพราะใช้พลังงานน้อยกว่า ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้รวดเร็วกว่า และปริมาณพื้นที่ที่ต้องการใช้ยังน้อยกว่าในกระบวนการกำจัดสีจากโรงฟอกย้อม แต่น้ำทิ้งที่ออกมายังไม่ได้มาตรฐานเนื่องจากยังมีสารอินทรีย์อยู่ควรส่งไปบำบัดต่อด้วยระบบชีวภาพเช่น ระบบเลี้ยงตะกอนต่อไป จนได้น้ำทิ้งสุดท้ายตรงกับมาตรฐานที่รัฐกำหนดไว้ การสร้างรวมตะกอน (Coagulation-flocculation) การกำจัดสีโดยการสร้างและรวมตะกอนเป็นการทำให้ตะกอน หรือสารแขวนลอยขนาดเล็ก (Colloid) รวมตัวกันเป็นตะกอนขนาดใหญ่ขึ้น และสามารถตกตะกอนเช่น สารส้ม และปูนขาว ซึ่งการ ตกตะกอนด้วย

สารเคมี ทำให้มีกากตะกอน (Sludge) จำนวนมากต้องกำจัด ต่อไป (Badawy and Ali, 2006) การออกซิเดชันทางเคมี (Chemical Oxidation) กระบวนการออกซิเดชันทางเคมีใช้สารเคมี เป็นปัจจัยสำคัญในการออกซิไดส์ สารประกอบต่างๆ ในน้ำเสียโดยสารเคมีที่นิยมใช้เป็นตัวออกซิเดชันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ สารเคมีเฟนต์ัน (Fenton's reagent) และโอโซน (O<sub>3</sub>)

### 2.3.3 เทคโนโลยีทางชีวภาพ (Biological technology)

การย่อยสลายสีย้อมผ้าในน้ำทิ้งซึ่งส่วนใหญ่เป็นสีย้อมชนิดเอโซ (azo dyes) โดยชีววิธีทั้งการใช้แบคทีเรีย รา และเชื้อผสม (mixed culture of microorganisms) ใช้สภาวะการบำบัดทั้งที่เป็นแบบใช้ออกซิเจน (aerobic condition) และไร้ออกซิเจน (anaerobic condition) โดยมีการออกแบบบำบัดต่างๆ กันหลายแบบ ซึ่งนอกจากจะลดปริมาณสีย้อมแล้วยังสามารถลดค่า BOD (Biological oxygen demand) และ COD (Chemical oxygen demand) ของน้ำเสียอีกด้วย จุลินทรีย์ที่สามารถใช้สีย้อมผ้าในการเจริญเติบโตได้จะต้องมีเอนไซม์ที่สามารถย่อยสีย้อมให้มีโมเลกุลเล็กลงและนำเข้าสู่เซลล์ได้ (Khehra et al., 2005) ซึ่งจุลินทรีย์ไม่ทุกชนิดที่จะมีคุณสมบัติดังกล่าว รวมทั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีความสามารถในการย่อยสลายสีย้อมได้ต่างๆ กัน (Idris et al., 2007)

การดูดซับด้วยสาหร่าย (Algae absorption) ภายใต้สภาวะที่มีแสงโดยเปลี่ยนโมเลกุลที่มีสีเป็นโมเลกุลที่ไม่มีสี (Dilek et al, 1999) โดยพบว่าสาหร่ายช่อพริกไทย (*Caulerpa lentillifera*) สามารถดูดซับสีเบสิคจากอุตสาหกรรมฟอกย้อมได้ การย่อยสลายโดยเชื้อรา (Fungi decomposition) กระบวนการกำจัดสี ในน้ำทิ้งโดยเชื้อราเป็นการสร้างเอนไซม์นอกเซลล์กลุ่มลิกนินโอไลติก (Ligninolytic enzyme) (Leontievsky A. et al, 2001) การใช้ราในการกำจัดสีย้อมผ้าไม่ค่อยเป็นที่นิยมเนื่องจากมีข้อด้อยในด้านความสะดวกในการใช้งาน การเก็บรักษา รวมถึงการขนส่ง การย่อยสลายด้วยแบคทีเรีย (Bacteria decomposition) สามารถลดสี หลายประเภทโดย Walker and Weatherley (2000) ศึกษาการดูดซับสีกลุ่มแอนทราควิโนนโดยเชื้อ *Bacillus gordonae* ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7 พบว่าประสิทธิภาพการกำจัดสีเท่ากับร้อยละ 13 โดยปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลาย คือ ค่าความเป็นกรดต่าง ความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อม สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญรวมถึงความต้องการอากาศในการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและ การย่อยสลายสี

Khan (2011) รายงานการย่อยสลายสีย้อมผ้าสีแดง (red 2G) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม Azo dyes โดย *Bacillus megaterium* แบคทีเรียสามารถย่อยสลายสีย้อมผ้าได้ 65% เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีเกลือ (10%), สีย้อมผ้า (0.1%) น้ำตาลกลูโคส (0.2%) และ โซเดียมไนเตรท (0.042%) ระหว่างการย่อยสลายสีย้อมแบคทีเรียสร้าง Azoreductase โดยคาดว่าเอนไซม์ที่ถูกสร้างขึ้นน่าจะมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสีย้อมผ้า เนื่องจากในอาหารเลี้ยงเชื้อมีกลูโคสเพียง 0.2% ดังนั้นแบคทีเรียจำเป็นต้องมีการสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยสลายสีย้อมเป็นแหล่งพลังงานและเพื่อลดความเป็นพิษของสีย้อมผ้าต่อเซลล์ นอกจาก *Bacillus megaterium* พบว่า *Alcaligenes* sp. AA09 สามารถย่อยสลายสีแดง reactive red BL ได้มากถึง 90% ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ pH 7.0 และ 25 องศาเซลเซียส เมื่อในอาหารเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นของสีแดง 50-200 mg/l ระหว่างการย่อยสลายสีย้อมแบคทีเรียสร้างเอนไซม์ azoreductase (Pandey and Dubey, 2012)

Agarwal and Singhet (2012) ค้นพบแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสีย้อมในกลุ่ม Azo dyes (Acid Orange 7 and Congo red) และสามารถย่อยสลายสีย้อมผ้าในสภาวะที่มีเกลือและโลหะหนัก (zinc, copper, nickel และ arsenic) แบคทีเรียที่ค้นพบจัดอยู่ในสกุล *Klebsiella* ในปีเดียวกัน *Brevibacterium* sp. strain VN-15 ถูกคัดแยกจาก ระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานย้อมผ้า โดยโรงงานใช้ azo dyes Reactive Yellow 107 (RY107), Reactive Black 5 (RB5), Reactive Red 198 (RR198) และ Direct Blue 71 (DB71) โดยระหว่างกระบวนการย่อยสลายสีย้อมแบคทีเรียได้ผลิต Tyrosinase แต่ไม่พบการผลิต laccase และ peroxidase หลังสิ้นสุดกระบวนการย่อยสลายสีย้อมพบว่าน้ำที่ผ่านระบบบำบัดไม่มีความเป็นพิษต่อไร้น้ำ (*Daphnia magna*) ซึ่งเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพที่บ่งบอกถึงความปลอดภัยของน้ำ ถ้าแหล่งน้ำมีสารพิษปนเปื้อนน้ำก็จะตาย (Franciscon et al., 2012)

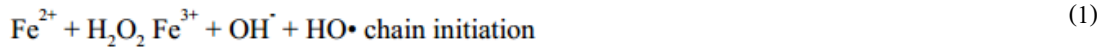
ดังนั้นการหาชนิดของจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้ดีเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมสิ่งทอของประเทศไทย โดยสามารถเจริญได้ดีในสภาพแวดล้อมของประเทศไทยจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจอย่างยิ่ง เพราะจะเป็นการช่วยให้สิ่งแวดล้อมดีขึ้นโดยไม่ต้องสั่งซื้อเชื้อจากต่างประเทศซึ่งอาจจะเจริญได้ไม่ดีนัก หรือไม่สามารถเจริญได้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย

## 2.4 ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ใช้ซ้ำได้

ตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) คือ สารที่ช่วยเพิ่มอัตราการเกิดปฏิกิริยาโดยไม่สูญหายไปในช่วงการเกิดปฏิกิริยา และจะได้กลับมาเมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุดลง ประเภทของตัวเร่งปฏิกิริยามี 2 ประเภท ตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมีและตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ

### 2.4.1 ตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี

ตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดไอออน สามารถสังเคราะห์ด้วยวิธีการโซลเจลเคลือบที่พื้นผิวของตัวกลางเซรามิก คุณสมบัติของ  $Fe^{3+}$  ที่เคลือบบนผิวเซรามิกจะทำปฏิกิริยากับหมู่โครโมฟอร์ของโครงสร้างสีย้อม โดยเข้าไปทำลายพันธะโครโมฟอร์ ทำให้สีถูกกำจัด ซึ่งโครงสร้างของสีย้อมจะมี Azo Chromophore (N=N) ทำให้เกิดสีเหล็ก  $Fe^0$  ซึ่งเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีในสารละลายกรด นอกจากปฏิกิริยาข้างต้นดังที่กล่าวมาการกำจัดสีย้อมสามารถทำได้ด้วยปฏิกิริยาเฟนตัน โดยการผสมกันระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) และเหล็ก ( $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ) โดยเหล็กทำหน้าที่เป็นคะตะลิสต์เกิดปฏิกิริยาทำให้เกิดไฮดรอกซิลแรดดิคัล (Hydroxyl radical;  $OH\bullet$ ) ซึ่งมีค่าศักย์ออกซิเดชัน (Oxidation Potential) สูง โดยสูงกว่าโอโซน 25% และสูงกว่าคลอรีนถึง 200% โดยมีค่ารองจากอนุมูลฟลูรีน (Flurine radical) เท่านั้น โดยปฏิกิริยาของสารละลายเฟนตันกับสารอินทรีย์นั้นสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งด้วยกลไกแบบลูกโซ่ (Chain) หรือไม่ใช่ลูกโซ่ (Non-Chain) ซึ่งกลไกเหล่านี้ได้รับการยอมรับกันอย่างกว้างขวาง (Flaherty and Huang, 1992) แสดงดังสมการต่อไปนี้



กระบวนการโซล-เจล (Sol-gel process) เป็นวิธีการที่ใช้เตรียมสารละลายในการเคลือบวัสดุจำพวกเซรามิกและแก้ว กระบวนการโซล-เจลเกิดจากกระบวนการไฮโดรไลซิสกันระหว่างสารประกอบตั้งต้น (Precursor) กับตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งส่วนใหญ่มักเป็นแอลกอฮอล์ เกิดเป็นสารแขวนลอยที่มีอนุภาคขนาดเล็กๆ ในของเหลวที่เรียกว่า “โซล” เมื่อโซลเกาะตัวเป็นร่างแหอย่างไม่เป็นระเบียบจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของของเหลวเป็นสารที่เรียกว่า “เจล” ที่มีขนาดอนุภาคประมาณ 0.1 – 1 ไมครอน



ปฏิกิริยาที่สำคัญในการโซล-เจลมี 3 ปฏิกิริยา คือ Hydrolysis, Water Condensation และ Alcohol Condensation ดังสมการที่ (7) ถึงสมการที่ (9) เมื่อ M แทนโลหะ ได้แก่ Si, Zr, Ti, Al, Sn, Ce และ OR แทน Alkoxy Group โดยปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา คือ พีเอช ตัวเร่งปฏิกิริยา อัตราส่วนโมลของตัวทำละลายต่อโลหะ และอุณหภูมิ ดังนั้นการควบคุมปัจจัยเหล่านี้ในสภาวะที่ต่างกันจะทำให้โซลและเจลที่ได้มีโครงสร้างและคุณสมบัติแตกต่างกัน โดยทั่วไปนั้นมีการนำเทคโนโลยีโซลเจลมาใช้ประโยชน์ สามารถทำได้หลายรูปแบบเช่น ผงละเอียด ฟิล์มบาง เส้นใย และวัสดุก้อน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆต่อไป เช่น แก้วซิลิกา สารเคลือบป้องกันการสึกกร่อน การสะท้อนแสง และการเกาะติดผิวของน้ำ เป็นต้น เทคโนโลยีโซลเจลจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการผลิตสารหรือวัสดุที่มีสมบัติเฉพาะตัว หรือต้องการความบริสุทธิ์สูง หรือแม้แต่การผลิตสารหรือวัสดุที่ทดแทนการใช้แร่หรือทรัพยากรธรรมชาติหายากและมีอยู่จำกัด เป็นวัตถุดิบ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการโซลเจลจะมีความบริสุทธิ์สูง เนื่องจากการเตรียมสารหรือวัสดุในระดับโมเลกุล ทำให้สามารถกำหนดคุณสมบัติต่างๆที่ต้องการได้ง่าย นับเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมสารเคมี เทคโนโลยีพลังงาน อุตสาหกรรมเซรามิก เป็นต้น ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า การเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยวิธีการโซลเจล เป็นวิธีการที่ง่ายสามารถเตรียมได้ที่อุณหภูมิห้องได้สารที่มีความบริสุทธิ์และเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneous) มากกว่าวิธี Conventional process ซึ่งใช้อุณหภูมิสูงกว่า สามารถเคลือบตัวเร่งปฏิกิริยาบนชิ้นเซรามิก เช่น เซรามิกชนิดรังผึ้ง (Honey comb) มีผิวที่สัมผัสสูงที่สำคัญเซรามิกเป็นวัสดุที่ทนความร้อน มีค่าการขยายตัวเนื่องจากความร้อนและความต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิฉับพลัน (Thermal

shock resistance) ต่ำ และมีค่าความแข็งแรงของพันธะในโครงสร้างสูงมาก ส่งผลให้เซรามิกมีจุดหลอมเหลวสูงกว่าโลหะและพอลิเมอร์ นอกจากนี้เซรามิกยังสามารถทนต่อการกัดกร่อนจากสารเคมีได้ดีมาก โดยการจุ่มขึ้นลงไปนสารละลาย และสามารถกำหนดความหนาของตัวเร่งปฏิกิริยาที่เคลือบบนชิ้นเซรามิกได้จากจำนวนครั้งการจุ่ม ที่สำคัญวิธีการโซลเจลเป็นวิธีประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยา

Rakmak *et al.*, 2010 เตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง เริ่มจากสารละลาย A โดยการละลาย 0.1 M ของ  $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$  ในเอทานอล 80 มิลลิลิตร สารละลาย B ละลาย 0.1 M ของ  $(COOH)_2 \cdot 9H_2O$  ในเอทานอล 80 มิลลิลิตร กวนเป็นเวลา 10 นาที โดยใส่สารละลาย B ผสมในสารละลาย A กวนเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นผสมสารละลาย C ลงไป และกวนอีก 10 นาที ได้สารละลายที่เป็นโซลเจล นำชิ้นเซรามิกจุ่มลงในสารละลาย อบแห้งที่อุณหภูมิ  $100^\circ C$  เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เผาที่อุณหภูมิ  $600^\circ C$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ได้ชิ้นเซรามิกที่มีการเคลือบตัวเร่งปฏิกิริยาชนิด Fe (III) นอกจากนี้ Kumar and Kumar, 2008 ศึกษาเกี่ยวกับการสังเคราะห์แมกนีเซียมออกไซด์อนุภาคขนาดนาโน โดยแมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) สามารถสังเคราะห์ได้โดยใช้แมกนีเซียมไฮดรอกไซด์  $Mg(OH)_2$  และกรดออกซาลิก  $(COOH)_2 \cdot 2H_2O$  เป็นสารตั้งต้น โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ใช้สารที่เป็นโซลเจลนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ  $100^\circ C$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้อยู่ในโพรมของแมกนีเซียมออกไซด์ไฮดรอกไซด์ ( $\alpha-MgC_2O_4 \cdot 2H_2O$ ) และทำการเผาที่อุณหภูมิ 500, 600, 800 และ  $1000^\circ C$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ผง MgO ที่มีอนุภาคขนาดนาโน (ค่าเฉลี่ยของผลึกขนาด 6.5 – 73.5 nm) ผง MgO ที่ได้มีโครงสร้างแบบ f.c.c. การดูดซึมรังสีอินฟราเรดของ MgO จะสูงเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำ นอกจากนี้ระดับพลังงานภายใน MgO อยู่ที่ (7.8 eV) น่าสนใจสำหรับการประยุกต์ใช้ในการแสดงพลาสมาสำหรับการปล่อยอิเล็กตรอนที่เพิ่มขึ้น

พงษ์เทพ ขาวอินทร์ (2555) ศึกษาการกำจัดสีย้อมผ้าด้วยเหล็ก โดยนำเหล็กไปตรึงที่เซรามิกควงแหวนด้วยวิธีโซลเจล (แมกนีเซียมไฮดรอกไซด์ออกซาลิก:เพอริคลอไรด์ ด้วยอัตราส่วน 1.25:1.25:3.75) นำไปเผาที่  $600^\circ C$  ทำให้ได้เหล็กที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมผ้าจากน้ำทิ้งของชุมชนผลิตผ้าบาติก โดยสามารถกำจัดสีย้อมผ้าสีม่วง สีเขียว และสีฟ้าได้ 50%, 60% และ 95% ตามลำดับ และเสียค่าใช้จ่ายสำหรับการกำจัดสีย้อมผ้า 11.87 บาท ต่อ ลูกบาศก์เมตร ดังนั้นการกำจัดสีย้อมผ้าโดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมียังคงประสบปัญหาที่ไม่สามารถกำจัดสีย้อมผ้าได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากสามารถกำจัดสีย้อมผ้าสีม่วงและสีเขียวได้เพียง 50-60% ดังนั้นการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพทางเคมีและตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพน่าจะเป็นอีกทางเลือกในการกำจัดสีย้อมผ้าที่ใช้ในชุมชนได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อลดปัญหาสารสีย้อมผ้าตกค้างในสิ่งแวดล้อม

Roman Prihod'ko และคณะ (2554) : ได้มีการศึกษาผลกระทบของพื้นผิวที่มีความเป็นกรด กลาง และการกระจายตัวของเหล็ก ซึ่งถูกควบคุมโดยเทคนิคการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยา และอัตราส่วน Si/Al ของซีโอไลต์ เพื่อใช้ในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันสารละลายสีย้อม Rhodamine G ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยา Fe-ZSM-5 การเตรียม Fe-ZSM-5 มี 2 วิธี คือ การเพิ่มประสิทธิภาพการแลกเปลี่ยนไอออนในสารละลาย (Improved aqueous ion exchange, IE) และ วิธีดั้งเดิมในการแลกเปลี่ยนไอออน (Conventional aqueous ion exchange, CE) ในเทคนิคแบบดั้งเดิมมีสาเหตุบางอย่างเกิดการเรียงตัวของอะตอมที่อยู่รอบ  $Al^{3+}$  ทั้ง 4 ด้าน ซึ่งเป็นการทำให้เกิดรวมตัวกันเกิดเป็นทรงแปดด้านของอลูมิเนียม ที่อยู่นอกโครงสร้างหลัก ในกรณีของ Fe-ZSM-5(IE) มีการกระจายตัวของไอออน  $Fe^{2+}$  ได้ดี ในขณะที่ Fe-ZSM-5(CE) เกิดการรวมตัวของ  $Fe^{3+}$  เป็นคริสตัลขนาดเล็ก

(FeO)<sub>n</sub> เหล็กที่เกิดในทั้งสองกรณีนี้จะเข้าไปอยู่ภายในรูพรุนของซีโอไลต์ขั้นตอนการเตรียมซีโอไลต์ เป็นปัจจัยหลักที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสี Rhodamine G ด้วยตัวเร่ง Fe-ZSM-5 การเร่งปฏิกิริยาเปอร์ออกไซด์ออกซิเดชันในสารละลาย (CWPO) ด้วยวัสดุที่เตรียมด้วยกระบวนการ IE และ CE จะทำให้ได้ อนุพันธ์ของเหล็กที่แตกต่างกัน อนุพันธ์ที่อยู่นอกโครงสร้าง Al<sup>3+</sup> ในซีโอไลต์ กรณีที่เกิดการแลกเปลี่ยนเหล็กบนซีโอไลต์ ZSM-5 อาจทำให้เกิดตำแหน่งกัมมันต์ (Active sites) สำหรับ CWPO ของสีย้อม Rhodamine G ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาเหล่านั้น ที่อุณหภูมิประมาณ 323 เคลวิน (K) พีเอช (pH) 4.9 ปฏิกิริยาเกิดแบบรวดเร็วประมาณ 150 นาที ความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกิริยาเท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร (g L<sup>-1</sup>) และอัตราการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 41.2–82.3 มิลลิโมลต่อชั่วโมง (mmol h<sup>-1</sup>) จากผลการทดลองพบว่า Fe-ZSM-5 ที่เตรียมด้วยวิธี IE สามารถย่อยสลายสี พร้อมสามารถกำจัด TOC (ปริมาณคาร์บอนที่อยู่ในน้ำ) 80% และไอออนเหล็กไม่หลุดจากตัวเร่งปฏิกิริยา [1]

นายทศพร สุวรรณเรืองและคณะ (2555) : งานวิจัยนี้ได้ ศึกษาการบำบัดน้ำ เสียสีย้อมประเภทรีแอคทีฟ (สีแดง เบอร์ 3) ด้วยกระบวนการออกซิเดชันแบบเปียกบนตัวเร่งปฏิกิริยา Fe-RH-MCM-41 ซึ่งเตรียมโดยการบ่มด้วยความร้อน (direct hydrothermal technique) ที่อัตราส่วนโมล Si/Fe เท่ากับ 10โดยซิลิกาถูกสังเคราะห์ได้จากแคลซิวและวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของตัวเร่งปฏิกิริยาด้วยเครื่อง TGA-DTA, XRD, FT-IR, UV-DRs และ N<sub>2</sub> adsorption-desorption ประสิทธิภาพของตัวเร่งปฏิกิริยาศึกษาภายใต้ เงื่อนไขของอุณหภูมิ pH เริ่มต้น และความเข้มข้นเริ่มต้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Design (BBD) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ Response Surface Methodology (RSM) เพื่อศึกษาเงื่อนไขสถานะที่มีความเหมาะสมที่ให้ประสิทธิภาพสูงสุดและศึกษาผลของความสัมพัทธ์ระหว่างปัจจัย พบว่าผลของอุณหภูมิ และ pH เริ่มต้นมีผลต่อการย่อยสลายสีย้อมประเภทรีแอคทีฟ (สีแดง เบอร์ 3) ในน้ำเสียอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในช่วงที่ศึกษาไม่มีผลต่อการย่อยสลายสีย้อมซึ่งภาวะที่สามารถย่อยสลายสีได้สูงสุดคือ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 3 และความเข้มข้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 48.375 mM [2]

นางสาวชวัลลักษณ์ คำจุมพล และคณะ (2555) : Fe-RH-MCM-41 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการสลายสีย้อม reactive red 3 ด้วยกระบวนการออกซิเดชันแบบเปียกแบบใช้แสงร่วม (Photocatalytic Wet Peroxidation, PCWPO) ตัวเร่งปฏิกิริยาถูกสังเคราะห์จากซิลิกา (RH-MCM-41) ที่สกัดจากแคลซิวด้วยเทคนิค Direct hydrothermal ได้ถูกสนใจในงานวิจัยนี้ การวิเคราะห์ คุณสมบัติทางกายภาพของตัวเร่งปฏิกิริยา Fe-RH-MCM-41 ด้วยเทคนิค Nitrogen adsorption-desorption และ TGA-DTA และเปรียบเทียบหาประสิทธิภาพของตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมโดยออกแบบการทดลองแบบ Box Bahken design (BBD) ในปัจจัยตั้งนี้ ความเป็นกรด เป็นด่างเริ่มต้นของสารละลาย ความเข้มข้นเริ่มต้นของ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> และอุณหภูมิในการดำเนินการ ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติแสดงให้เห็นว่าตัวเร่งปฏิกิริยามีพื้นที่ผิวเท่ากับ 801 m<sup>2</sup> /g พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการสลายสีย้อมอย่างมีนัยสำคัญคือ ความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของสารละลาย และอุณหภูมิในการดำเนินการ ยกเว้นความเข้มข้นเริ่มต้นของ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ในขณะที่ การทดลองเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมของการสลายสีย้อมคือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) เท่ากับ 48.375 mM อุณหภูมิ 50 C และความเป็นกรดเป็นด่างเริ่มต้นของสารละลายเท่ากับ 3 [3]



Jeerawan Phijarn และคณะ (2557) : สารละลายสีย้อมเดี่ยว (เมทิลีนบลู (MB) หรือ เมทิลออเรนจ์ (MO)) และสีย้อมผสม (สารละลายผสมระหว่าง เมทิลีนบลูกับเมทิลออเรนจ์) ถูกนำมาใช้เป็นตัวแทนน้ำเสียที่ใช้ในการบำบัด ด้วยกระบวนการเฟนตันและโฟโตเฟนตันที่ใช้แสงอาทิตย์ และอัตราส่วนของสารละลาย  $Fe^{2+} : H_2O_2$  ใช้เครื่อง ยูวี -วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ศึกษาอัตราการฟอกสี ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าน้ำเสียสังเคราะห์ที่ประกอบด้วยสารละลายสีย้อมเดี่ยวหรือสารละลายสีย้อมผสม เมื่อใช้กระบวนการโฟโตเฟนตันทั้งแสงอาทิตย์และแสงยูวี สามารถฟอกสีได้มากกว่ากระบวนการเฟนตัน นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายสีย้อมเริ่มต้นเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพการฟอกสี ในขณะที่เมื่ออัตราส่วนของสารละลายเฟนตันเพิ่มขึ้นประสิทธิภาพในการฟอกสีจะเพิ่มขึ้น [4]

จากงานวิจัยข้างต้นจะเห็นว่านาซีโอไลต์ที่สังเคราะห์มาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการย่อยสลายสีย้อมในงานวิจัยนี้จึงนำซีโอไลต์พีชนิดเม็ดมาใช้เป็นตัวเร่งในการย่อยสลายสีย้อม cationic blue 41 เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ได้ง่าย

#### 2.4.2 ตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ

เอนไซม์ที่ถูกตรึง (immobilized enzymes) หมายถึง เอนไซม์ที่ถูกกำหนด หรือทำให้มาอยู่ในขอบเขตที่จัดไว้ อาจมีโมเลกุลใหญ่ขึ้นด้วยการเชื่อมพันธะเคมี หรือไม่มีพันธะเคมี ละลายน้ำได้ ยากขึ้นหรือไม่ได้เลย มีผลให้เอนไซม์ เปลี่ยนจากตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของเหลว กลายเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของแข็งขณะทำปฏิกิริยา (solid catalysts) (ปราณี, 2535) ประโยชน์ของเอนไซม์ตรึงภาพ คือ มีโอกาสเพิ่มแอกติวิตี และเสถียรภาพของเอนไซม์ได้ ถ้าวิธีเหมาะสม ใช้ระบบ multi-enzymes ในลักษณะ in vitro ใช้ซ้ำ ใช้ต่อเนื่อง ใช้ภาวะการทำปฏิกิริยาที่ต่างไปจากเอนไซม์อิสระ หรือเอนไซม์เดิมได้ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดตัวพุงและวิธีการตรึงภาพ เหมาะสมกับเครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ได้ ทั้งนี้ขึ้นกับภาพร่างตัวพุงและลักษณะสับเสตรต เอนไซม์ที่นำมาตรึงภาพ ไม่ต้องทำให้บริสุทธิ์ก็สามารถทำงานได้ดี เหมือนเอนไซม์บริสุทธิ์ ทั้งนี้ขึ้นกับวิธีการตรึงภาพ

##### 2.4.2.2 วิธีการดูดซับทางกายภาพ (physical-adsorption method)

การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้พันธะที่ใช้จะเป็นพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonding) แรงวานเดอวาลส์ (van der waals force) และ ไฮโดรโฟบิกอินเทอร์แอคชัน (hydrophobic interaction) ซึ่งยึดระหว่างโมเลกุลของเอนไซม์กับผิวของตัวพุงที่เป็นของแข็ง การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้ทำได้โดยผสมสารละลายเอนไซม์กับตัวพุงที่ใช้ตรึง ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ทิ้งไว้เพื่อให้มีการจับกัน จากนั้นแยกเอนไซม์ที่ถูกตรึงออกตัวด้วยการเหวี่ยงหรือการกรอง ความสามารถในการดูดซับเอนไซม์บนตัวพุง ขึ้นอยู่กับ พีเอช ธรรมชาติของตัวทำละลาย ความเข้มข้นของอออนในสารละลาย ความเข้มข้นของเอนไซม์กับพาหะ และอุณหภูมิที่ใช้ ปัจจัยหลักที่มีผลต่อปริมาณเอนไซม์ที่ถูกดูดซับบนตัวพุง คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่สัมผัสกับหนึ่งหน่วยพื้นผิวของตัวพุงกิจกรรมของเอนไซม์ที่ถูกตรึงมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จนถึงจุดอิ่มตัวถึงแม้จะเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์อีกก็ไม่ทำให้เอนไซม์ถูกตรึงเพิ่มขึ้น

#### 2.4.2.2 การตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent-binding method)

เป็นการตรึงเอนไซม์โดยมีการเชื่อมพันธะระหว่างเอนไซม์กับตัวพุงด้วยพันธะโควาเลนต์ การเลือกสถานะที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์ทำได้ยากกว่าวิธีอื่น ๆ เนื่องจากปฏิกิริยาคอนข้างซับซ้อนและรุนแรง การจับกันนี้อาศัยโครงสร้างและคุณสมบัติของโปรตีนที่มีต่อตัวพุง สิ่งสำคัญในการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้ คือ กรดอะมิโนที่มีผลต่อบริเวณเร่งของเอนไซม์ต้องไม่เกี่ยวข้องกับ การจับกันด้วยพันธะโควาเลนต์กับตัวพุง ซึ่งควบคุมได้ยากและโดยทั่วไปเอนไซม์ที่ถูกตรึงด้วยวิธีนี้ จะสูญเสียกิจกรรมในระหว่างกระบวนการตรึง แต่ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้โดยการใช้ตัวบับยั้งแบบ แข่งขันหรือสับสเตรตเข้าไปจับกับเอนไซม์ตรงบริเวณเร่ง ทำให้ป้องกันบริเวณนี้จากการเกิดพันธะกับ ตัวพุง ตัวพุงชนิดนี้จะมีกลุ่มฟังก์ชันจำนวนมาก ทำให้สามารถตรึงเอนไซม์ด้วยปฏิกิริยาหลายชนิด ปัจจัยที่มีผลต่อการตรึงเอนไซม์โดยวิธีโควาเลนต์ คือ 1. กลุ่มฟังก์ชันของโปรตีนที่เหมาะสมต่อการ สร้างพันธะโควาเลนต์ภายใต้สถานะที่ไม่รุนแรง 2. ชนิดของปฏิกิริยาที่เกิดจากการจับกันระหว่าง เอนไซม์กับตัวพุง และ 3. ตัวพุงที่มีกลุ่มฟังก์ชันที่เหมาะสมต่อการจับกับเอนไซม์

#### 2.5.3 การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีห่อหุ้ม (entrapment method)

วิธีนี้เป็นการตรึงเอนไซม์อิสระไว้ภายในช่องว่างของตาข่ายโพลีเมอร์หรือห่อหุ้ม เอนไซม์ไว้ด้วยเยื่อบางที่ยอมให้สารบางตัวผ่านเข้าออกได้ (semipermeable membrane) โดย จะยอมให้มีการแพร่เข้าออกของโมเลกุลสับสเตรตและผลิตภัณฑ์การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้แตกต่าง จากการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีทางเคมีโดยที่การตรึงจะไม่มีพันธะเคมีใด ๆ ระหว่างเอนไซม์ และโพลีเมอร์ หรือแผ่นเมมเบรนที่ล้อมรอบ ดังนั้น จึงสามารถใช้ตรึงเอนไซม์ได้ทุกชนิดรวมทั้งเซลล์ และองค์ประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ ทั้งที่มีขนาดและคุณสมบัติแตกต่างกันก็ตาม การตรึงเอนไซม์ด้วย วิธีนี้ทำให้ความสามารถในการกระตุ้นปฏิกิริยาของเอนไซม์ลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น เมื่อเทียบกับการ ตรึงเอนไซม์ที่ใช้พันธะทางเคมีการตรึงเอนไซม์ด้วยการห่อหุ้ม

Sindhu et al. (2014) ศึกษาการย่อยสลายสีย้อมในกลุ่ม azo dyes ด้วยยีสต์ (*Sacharomyces* sp.) ที่ถูกตรึงภาพด้วยวิธีห่อหุ้มด้วยแอลจินต และเซลล์ยีสต์อิสระ พบว่าเซลล์ ยีสต์อิสระสามารถย่อยสลายสีย้อมผ้าได้หมดภายในระยะเวลา 12-18 ชั่วโมง และเซลล์ยีสต์อิสระ สามารถย่อยสลายสีย้อมผ้าได้ 100% ในการย่อยสลายรอบแรก และเมื่อนำมาใช้ซ้ำพบว่า ประสิทธิภาพการย่อยสลายลดลง โดยในรอบการใช้ซ้ำในรอบที่ 4 เซลล์ยีสต์ตรึงภาพมีประสิทธิภาพ ในการย่อยสลายสีย้อมผ้าได้เพียง 50%

Saratale et al. (2011) ศึกษาการย่อยสลายสีย้อมผ้าโดย *Proteus vulgaris* NCIM 2007 โดยเชื้อดังกล่าวสามารถย่อยสลายสีย้อมผ้าได้สมบูรณ์ [C.I. Reactive Blue 172 (50 mg/L)] ภายในเวลา 8 ชั่วโมง ทำให้สามารถลดค่า TOC และ COD ได้ 80% โดยพบว่าเมื่อนำเซลล์ไปตรึง ภาพที่ให้ออกมาใช้ซ้ำและมีประสิทธิภาพการย่อยสลายสีย้อมด้วยเซลล์อิสระ โดยใช้ถังหมักแบบ Fixed bed นอกจากนี้เซลล์ตรึงภาพสามารถย่อยสลายสีย้อมผ้าผสมกันระหว่างสีในกลุ่ม reactive dyes จำนวน 7 ชนิด ด้วยวิธีแบบต่อเนื่องและแบบครั้งคราว ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Wu et al. (2005) รายงานการย่อยสลายสีย้อมผ้าสีแดงในกลุ่ม azo dye (RED RBN) โดยใช้ถังปฏิกรณ์ แบบ fluidized bed reactor (FBR) จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสีย้อมถูกตรึงด้วย polyvinyl alcohol (PVA)-immobilized ปัจจัยที่มีผลต่อการสลายสีย้อมคือ ปริมาณเซลล์ภายใน เม็ดปิด ขนาดของเม็ดปิด ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้น และระยะเวลาที่สีสัมผัสกับเม็ด

นอกจากเซลล์ตรึงภาพ พบว่าเอนไซม์ตรึงภาพหลายชนิดมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสีย้อม เช่น เอนไซม์แลคแคสตรึงภาพ โดยตรึงบน gamma-aluminum โดยเอนไซม์ตรึงภาพสามารถย่อยสลาย anthraquinonic dyes (Lanaset Blue 2R, Terasil Pink 2GLA), azo dyes, Indigo Carmine, และ the triphenylmethane dye Crystal Violet โดยพบว่าแลคแคสมีจำเพาะต่อสีย้อมชนิด azo dyes ที่มี hydroxy groups ที่ตำแหน่ง ortho และ para และ Indigo carmine (Kandelbauer et al., 2004) ในปี 2010, Champagne and Ramsay ศึกษาการใช้ แลคแคสจากราตรึงภาพ โดยตรึงบนเม็ดปิดแก้วที่มีรูพรุน ซึ่งเอนไซม์ตรึงภาพสามารถย่อยสลาย anthraquinone (Reactive blue 19 and Dispersed blue 3) และ indigoid (Acid blue 74) ได้ดีกว่า azo dyes (Acid red 27 and Reactive black 5) แต่ไม่สามารถย่อยสลาย Reactive black 5 โดยพบว่าไม่เกิดการดูดซับสีย้อมที่เม็ดปิด เอนไซม์ตรึงภาพสามารถย่อยสลายสี anthraquinone ได้ดีที่สุด และน้ำที่ผ่านบำบัดไม่มีความเป็นพิษ ดังนั้นการใช้เอนไซม์ตรึงภาพจากรามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสีย้อมผ้าที่ผสมกันหลายชนิดภายในขั้นตอนเดียว

Yanto et al. (2014) รายงานการย่อยสลายสีย้อม [Lefavix Blue 16 (LB16), Reactive Remazol Violet 9 (RRV9), and Reactive Remazol Navy 4 (RRN4)] ด้วยเอนไซม์ตรึงภาพจาก *Trametes versicolor* U97 หรือ *Pestalotiopsis* sp. NG007 ในถังปฏิกรณ์แบบ vertical bioreactor system การตรึงเอนไซม์แบบ 2 ชั้นของ โดยแต่ละชั้นจะประกอบด้วย alginate bead (1.5% w/w) และเอนไซม์ที่ยังไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการสลายสีย้อมดีกว่า เม็ดปิด 1 ชั้น ในด้านการย่อยสลายสีย้อมผ้าเอนไซม์ตรึงภาพสามารถสลายสี LB16 ได้ดีที่สุด ในขั้นตอนการตรึงเอนไซม์มีความสำคัญมากในการศึกษาการย่อยสลายสีย้อมด้วยเอนไซม์ตรึงภาพ โดยพบว่าเมื่อเติมบางชนิดลงไปในขณะที่เตรียมเม็ดจะทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายสีย้อม เช่น TEMPO และ Tween 80 โดยใช้ TEMPO สำหรับการตรึงเอนไซม์จาก U97 และ Tween 80 สำหรับ NG007 ข้อจำกัดของการใช้เอนไซม์ตรึงภาพคืออายุการใช้งานสั้น คณะผู้วิจัยได้ศึกษาการยืดอายุของเป็นปีตโดยนำไปแช่ใน glutaraldehyde (0.6%) นาน 4 ชั่วโมง พบว่าสามารถยืดอายุการใช้งานได้นานมาก