

# การกำจัดสปอร์ของ *Bacillus subtilis* ในน้ำด้วยวิธี โฟโตคะตะไลซิสโดยใช้ตัวกลางและความเร็วในการกวนต่างกัน

## Photocatalysis disinfection of *Bacillus subtilis* spores in water using different media and agitation speeds

ชุตติมา สุขอนันต์ (Chutima Sukanan)<sup>1</sup> สิทธิสุนทร สุโพธิณะ (Sitthisunton Supothina)<sup>2</sup>  
ภารดี ช่วยบำรุง (Paradee Chuaybamroong)<sup>3\*</sup>

### บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการทดสอบความสามารถของปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสที่มาจากการใช้ตัวกลาง 3 ชนิด คือ ซีโอไลต์ เม็ดแก้ว และกระจกสไลด์ จุ่มเคลือบด้วยไทเทเนียมไดออกไซด์ แล้วฉายแสงอัลตราไวโอเล็ตชนิดเอกความเข้มแสง 3.5 mW/cm<sup>2</sup> ในการกำจัดสปอร์ของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในน้ำ โดยปริมาณไทเทเนียมไดออกไซด์ควบคุมไว้ที่ 0.08 กรัม/น้ำตัวอย่าง 1 ลิตรในทุกตัวกลาง ในสภาวะที่มีการกวนน้ำด้วยความเร็วรอบ 344 รอบ/นาที และ 787 รอบ/นาที เปรียบเทียบกับสภาวะที่ไม่มีการกวน

ผลการศึกษาพบว่า เมื่อครบเวลา 180 นาที ปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสจากตัวกลางกระจกสไลด์สามารถกำจัดสปอร์ได้สูงที่สุด 92-97% ทั้ง 3 สภาวะ รองลงมาได้แก่ ซีโอไลต์ (80-91%) และเม็ดแก้ว (62-87%) สภาวะที่มีการกวนหรือไม่มีการกวน รวมถึงความเร็วที่ใช้ในการกวนไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของกระจกสไลด์เคลือบไทเทเนียมไดออกไซด์ แต่มีผลต่อซีโอไลต์และเม็ดแก้วเคลือบไทเทเนียมไดออกไซด์

### Abstract

The photocatalysis disinfections of *Bacillus subtilis* spores in water using three different media (zeolite, glass bead, and glass slide) were performed in this study. The media were dip-coated with titanium dioxide and irradiated with ultraviolet-A radiation at an intensity of 3.5 mW/cm<sup>2</sup>. The titanium dioxide on each medium was controlled at 0.08 g/L of water. The experiments were conducted under the conditions of no agitation, agitation at a speed of 344 rpm, and agitation at a speed of 787 rpm.

The results reveal that glass slide was the best medium for photocatalysis disinfection with the efficiency of 92-97% in all conditions. Disinfection efficiencies of zeolite were 80-91%, while those of glass beads were 62-87%. Agitation or speed of agitation did not affect disinfection efficacy of coated glass slide, but did affect coated zeolite and coated glass bead.

**คำสำคัญ:** สปอร์ของบาซิลลัส ซับทีลิส โฟโตคะตะไลซิส การกำจัดจุลินทรีย์ในน้ำ

**Keywords:** *Bacillus subtilis* spores, photocatalysis, water disinfection

<sup>1</sup> นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

<sup>2</sup> นักวิจัย ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ สวทช

<sup>3</sup> ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

\* Corresponding author. e-mail: paradee@tu.ac.th

## บทนำ

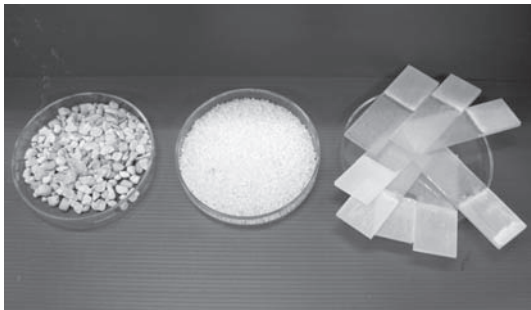
ปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสเกิดจากการที่สารกึ่งตัวนำ เช่น ไทเทเนียมไดออกไซด์ ( $\text{TiO}_2$ ) ดูดซับพลังงานของแสง เช่น แสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) เอาไว้ จนทำให้อิเล็กตรอนที่อยู่ชั้นวงนอกสุด (valence band) ของมันสามารถกระโดดข้ามไปยังชั้น conduction band ที่มีระดับพลังงานสูงกว่าได้ ทิ้งให้เกิดเป็นรูว่าง หรือ  $\text{hole}^+$  ซึ่ง  $\text{hole}^+$  นี้สามารถออกซิไดซ์ไฮดรอกไซด์ในน้ำรอบๆตัวมันเกิดเป็นอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ( $^{\circ}\text{OH}$ ) ส่วนอิเล็กตรอนที่ขึ้นไปอยู่บนชั้น conduction band สามารถรีดิวซ์ออกซิเจน เกิดเป็นอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ ( $\text{O}_2^{\circ-}$ ) เช่นกัน ซึ่งทั้งไฮดรอกซิลและซูเปอร์ออกไซด์ล้วนแต่เป็นตัวออกซิไดซ์และตัวรีดิวซ์ที่รุนแรง สามารถทำลายผนังเซลล์และองค์ประกอบต่างๆภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ จนทำให้จุลินทรีย์ตายได้ในที่สุด (Rincón and Pulgarin, 2004) ในปัจจุบันมีการทดลองใช้ปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสกำจัดจุลินทรีย์ในน้ำมากมาย เช่น Ibáñez et al. (2003) ใช้ผง  $\text{TiO}_2$  0.1 g/L ฉายแสง UV-A ความเข้มแสง  $5.5 \text{ mW/cm}^2$  นาน 40 นาที กำจัดเชื้อ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Salmonella typhimurium* ได้ 99.9% หรือ Rincón et al. (2001) ใช้ผง  $\text{TiO}_2$  1 g/L ร่วมกับ  $\text{H}_2\text{O}_2$  40 mM ฉายแสงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร ขนาด  $80 \text{ mW/cm}^2$  กำจัด *E. coli* จำนวน  $10^7 \text{ cfu/mL}$  ได้ภายในเวลา 20 นาที เป็นต้น

อย่างไรก็ตาม หลังการกำจัดเสร็จสิ้น กลับพบว่าการแยกผง  $\text{TiO}_2$  ออกจากน้ำนั้นกระทำได้อย่างลำบากและเป็นปัญหาอย่างมาก นักวิจัยหลายกลุ่มจึงนิยมเคลือบ  $\text{TiO}_2$  ลงบนตัวกลางแทน เช่น เคลือบบน Pyrex glass (Rincón and Pulgarin, 2004) บนเมมเบรน (Choi et al., 2007) บนเส้นใยแก้วผสมซิลิกา (Hofstadler et al., 1994) หรือบนกระจกสไลด์ (Salih, 2002) เป็นต้น ซึ่งการศึกษาของคณะผู้วิจัยแต่ละชุดล้วนแต่ใช้เทคนิคการเคลือบและสถานะของการทดลอง ตลอดจนรูปแบบของการศึกษาที่แตกต่างกันไป จนยากที่จะนำผลของการศึกษามาเปรียบเทียบหรือหาข้อสรุปว่าตัวกลางชนิดใดให้

ประสิทธิภาพดีที่สุดหรือเหมาะสมที่สุดได้ ซึ่งการเปรียบเทียบจำเป็นต้องมีการควบคุมตัวแปรให้อยู่ในเงื่อนไขหรือสภาวะแวดล้อมเดียวกัน ในชุดการศึกษาเดียวกัน ดังนั้นเพื่อสร้างความกระจ่างถึงประสิทธิภาพของปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสในการกำจัดจุลินทรีย์ในน้ำโดยใช้ตัวกลางต่างชนิดกัน แต่อยู่ในสภาพแวดล้อมเดียวกัน การศึกษานี้จึงใช้ตัวกลางเป็นซีโอไลต์ เม็ดแก้ว และกระจกสไลด์ ซึ่งทั้งหมดเป็นวัสดุที่หาได้ง่าย ราคาไม่แพง โดยซีโอไลต์นั้นมีลักษณะเป็นโพรง มีรูพรุนน่าจะช่วยเพิ่มพื้นที่สัมผัสกับจุลินทรีย์ที่หลุดเข้าไปในโพรงได้ง่าย ขณะที่เม็ดแก้วมีลักษณะเป็นทรงกลม น่าจะมีผิวสัมผัสและเกิดอนุมูลอิสระได้รอบด้าน ขณะที่กระจกสไลด์เป็นแผ่นบาง-ยาว น่าจะรับพลังงานจากแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ใช้ในการกระตุ้นปฏิกิริยาได้อย่างเต็มที่ จึงเป็นที่น่าสนใจว่าตัวกลางชนิดใดจะให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์ของ *Bacillus subtilis* ซึ่งมีความทนทานในสิ่งแวดล้อมได้สูงที่สุด ทั้งในสภาวะที่มีการกวนน้ำตัวอย่างด้วยความเร็วต่ำ ความเร็วสูง และไม่กวน ซึ่งในการศึกษานี้ เลือกใช้สปอร์ของ *B. subtilis* เนื่องจากเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สร้างสปอร์ที่มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆได้เป็นอย่างดี โดยสปอร์ของ *B. subtilis* สามารถทนสภาพร้อน-ขึ้นได้ถึง  $100^{\circ}\text{C}$  และต้องใช้เวลา 20-30 นาทีจึงจะทำให้ความสามารถในการมีชีวิตของมัน (viability) ลดจำนวนลง 1-log ได้ แต่ถ้าเป็นสภาวะที่ร้อน-แห้ง ความสามารถในการมีชีวิตของมันจะเพิ่มขึ้นอีกถึง 100 เท่า (Nicholson et al., 2000) สปอร์ของ *Bacillus subtilis* จึงนิยมใช้เป็นตัวแทนจุลินทรีย์กลุ่มที่มีความทนทานสูงในสิ่งแวดล้อม โดยคลอรีนไม่สามารถกำจัดมันได้แม้จะใช้ความเข้มข้นสูงถึง 100 ppm เป็นเวลา 3 ชั่วโมงแล้วก็ตาม (สุจิตรา, 2553)

## วิธีการศึกษา

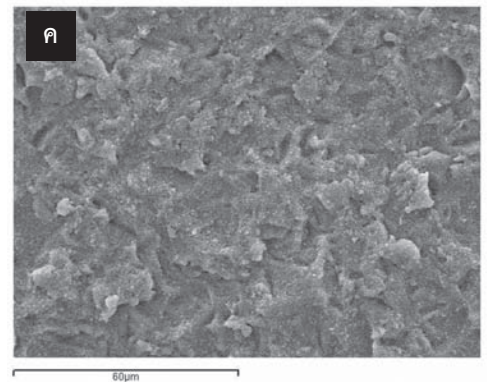
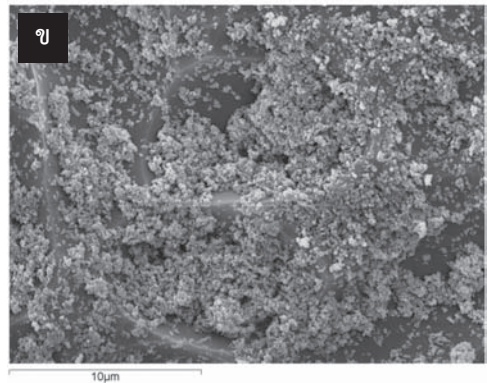
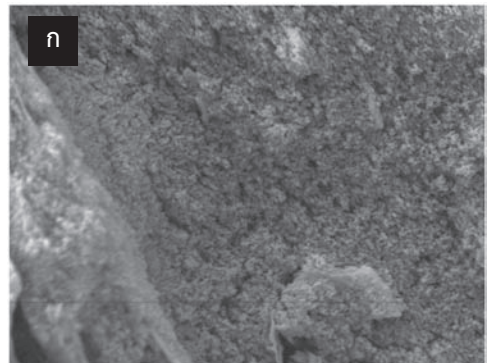
การศึกษานี้ใช้ตัวกลาง 3 ชนิดคือ ซีโอไลต์ขนาด 3-5 มิลลิเมตร เม็ดแก้วทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร และกระจกสไลด์ขนาดกว้าง 1 นิ้ว ยาว 3 นิ้ว (รูปที่ 1) โดยเม็ดแก้วนั้นนำมาแช่ในกรด HF ให้ผิวขรุขระ (เพื่อช่วยให้เคลือบติดได้ง่ายขึ้น) ตัวกลางทั้งหมดนำมาล้างทำความสะอาดด้วย acetone และ isopropanol ในเครื่อง sonicator ผึ่งให้แห้ง ก่อนนำไปแช่ในสารละลาย  $\text{TiO}_2$  Degussa P-25 ความเข้มข้น 1%-5% w/v เป็นเวลา 30 นาที จำนวน 1-3 ครั้ง แล้วจึงนำไปเผาที่อุณหภูมิ  $400^\circ\text{C}$  นาน 1 ชม. จากนั้นจึงเลือกระดับความเข้มข้นของ  $\text{TiO}_2$  และจำนวนครั้งของการเคลือบที่เหมาะสมสำหรับแต่ละตัวกลางในแง่ของการกระจายตัวและความสม่ำเสมอ ด้วยการสังเกตจากภาพถ่ายกล้อง Scanning electron microscope (SEM) ซึ่งซีโอไลต์และเม็ดแก้วนั้นเลือกใช้ความเข้มข้น 3% เคลือบ 1 ครั้ง แต่กระจกสไลด์เลือกใช้ความเข้มข้น 5% เคลือบ 3 ครั้ง (รูปที่ 2) โดยปริมาณ  $\text{TiO}_2$  loading ในการทดลองนี้กำหนดไว้ที่ 0.08 g/L เท่ากันทุกครั้งในทุกตัวกลาง



รูปที่ 1. ตัวกลางที่ใช้ในปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส (ซีโอไลต์, เม็ดแก้ว, กระจกสไลด์)

การศึกษาประสิทธิภาพของปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสเริ่มจากการนำสปอร์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* มาผสมกับน้ำตัวอย่าง (น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ) ปริมาตร 600 มิลลิเมตร จำนวน 3 ใบ (ความสูงของน้ำ 4 นิ้ว) การเตรียมสปอร์ของ *B. subtilis* กระทำตามวิธีของยูพรัตน์ และคณะ (2552) เริ่มต้นมีการวิเคราะห์หาจำนวนโคโลนีตั้งต้นของ *B. subtilis* ในน้ำก่อน ( $N_0$ ) โดยดูคูน้าตัวอย่าง

มาเจือจางกับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อในอัตราส่วน 1:9 แล้วนำมาหยด (ใช้ปริมาตร 0.1 มิลลิเมตร) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (Tryptic Soy Agar) เกลี่ยให้ทั่ว นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ  $37^\circ\text{C}$  นาน 12-24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏ จากนั้นจึงใส่ตัวกลางแต่ละชนิดลงไป



รูปที่ 2. ภาพถ่ายจากกล้อง SEM ของอนุภาค  $\text{TiO}_2$  บนตัวกลางต่างๆ ก) ซีโอไลต์ ข) เม็ดแก้ว ค) กระจกสไลด์

น้ำตัวอย่างแต่ละใบ นำไปวางใต้แสงไฟอัลตราไวโอเล็ต ชนิดเอทีที่มีความยาวคลื่นหลัก 365 นาโนเมตร วัดความเข้มแสงที่ระดับผิวน้ำได้  $3.5 \text{ mW/cm}^2$  ด้วยเครื่องมือ radiometer (Cole Palmer, model LW09811-50) ซึ่งในแต่ละชุดตัวกลาง มีการกวนน้ำตัวอย่างด้วยเครื่องกวนชนิด 2 ใบพัดด้วยความเร็ว 344 รอบ/นาที และ 787 รอบ/นาที วัดความเร็วรอบด้วยเครื่องมือ Tachometer (Monarch Instrument, model Pocket Tach 99) เปรียบเทียบกับที่ไม่ได้กวน เมื่อครบเวลา 10, 20, 30, 60, 90, 135 และ 180 นาที จึงทำการดูน้ำตัวอย่างจากปิเกตเจอร์แต่ละใบมาเจือจางและบ่มเพาะเชื้อลงบนอาหาร TSA ในลักษณะเดียวกับการวิเคราะห์จำนวนโคโลนีเริ่มต้น จำนวนโคโลนีที่ขึ้นกำหนดให้เป็นจำนวนโคโลนีที่เวลาใดๆ ( $N_t$ ) ประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์ของ *B. subtilis* (ในหน่วยของร้อยละ) คำนวณจาก  $[(N_0 - N_t) \times 100] / N_0$  ซึ่งในแต่ละตัวกลางและแต่ละความเร็วรอบ มีการศึกษาซ้ำ 2 ซ้ำเนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องของระยะเวลาในการศึกษา

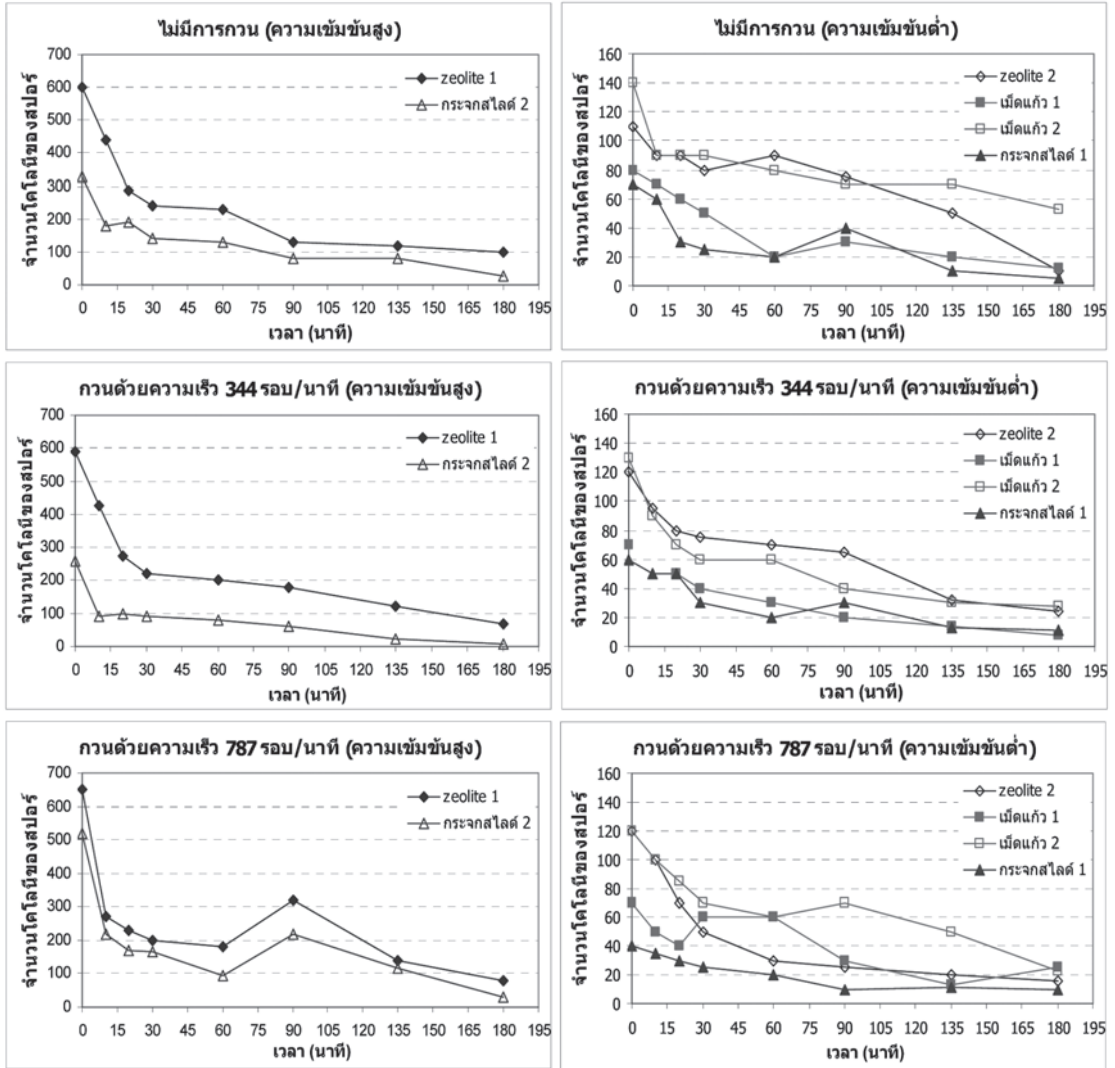
## ผลการศึกษาและอภิปรายผล

ในการศึกษาแต่ละครั้งนั้นยากที่จะควบคุมจำนวนสปอร์เริ่มต้นให้เท่ากันทุกครั้งได้ โดยจำนวนสปอร์ตั้งต้นพบได้ตั้งแต่ 40 โคโลนี ไปจนถึง 650 โคโลนี การนำเสนอผลของปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสจากการใช้ตัวกลางต่างชนิดกันทั้งที่มีการกวนน้ำตัวอย่างและไม่มีการกวน (แสดงในรูปที่ 3) จึงแยกเป็นสองแถว (แถวบนและแถวล่าง) ตามความเข้มข้นของสปอร์ (ในแกนตั้ง) เพื่อให้เห็นผลการศึกษาได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

จากรูปที่ 3 ทั้งแถวบนและแถวล่าง ไม่ว่าจะใช้ตัวกลางชนิดใด รูปแบบของการลดลงของสปอร์นั้นเป็นไปในทางเดียวกัน โดยจำนวนสปอร์ตั้งต้นนั้นมีผลมากกว่าชนิดของตัวกลางที่ใช้และความเร็วของการกวนที่ใช้ ซึ่งในกรณีที่จำนวนตั้งต้นมี 260-650 โคโลนี (แถวบน) จำนวนสปอร์ลดลงอย่างรวดเร็วมากภายในระยะเวลา 20 นาทีแรก จากนั้นการลดลงค่อยๆ ช้าลงตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นของสปอร์ต่ำๆ (แถวล่าง) การลดลงอย่างรวดเร็วเกิดขึ้นภายในเวลา 30 นาทีแรก หรืออาจจะนานไปถึง

60 นาทีแรก ก่อนที่การลดลงอย่างช้าๆ จะเกิดขึ้นต่อไป สอดคล้องกับการศึกษาของ Rincón and Pulgarin (2005) ซึ่งอภิปรายเอาไว้ว่า การที่ปฏิกิริยาเกิดช้าลงอาจมาจากการที่อนุมูลอิสระ ( $^{\circ}\text{OH}$ ) เข้าทำปฏิกิริยากับเซลล์แบคทีเรียที่ตายแล้ว ทำให้เหลืออนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยากับเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่น้อยลง รวมไปถึงเมื่อเวลาผ่านไป จำนวนแบคทีเรียเหลืออยู่น้อยลง ก่อให้เกิดการสัมผัสหรือชนกับอนุมูลอิสระในความถี่ที่น้อยลงกว่าเดิม เมื่อเทียบกับช่วงเวลาเริ่มต้นที่มีแบคทีเรียจำนวนมาก อัตราการตายจึงน้อยลงเมื่อเทียบกับช่วงแรกด้วย และประการสุดท้าย เมื่อเวลาผ่านไป แบคทีเรียที่ไม่ได้สัมผัสกับอนุมูลอิสระอาจมีการสะสมตัวและเกิดการเจริญเติบโตขึ้นใหม่อีกก็เป็นได้

เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์ของ *B. subtilis* ในน้ำตัวอย่างตามระยะเวลาที่ผ่านไปโดยใช้จำนวนสปอร์ที่หลงเหลืออยู่ในเวลาต่างๆ เทียบกับจำนวนสปอร์ที่เวลาตั้งต้นในรูปของร้อยละ (รูปที่ 4) ในสถานะที่ไม่มีการกวนน้ำตัวอย่าง (รูป ก) พบว่า เมื่อครบเวลา 180 นาที ปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสจากการใช้กระจกสไลด์เป็นตัวกลางให้ประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ 92-93% รองลงมาคือการใช้ซีโอไลต์ ให้ประสิทธิภาพ 83-91% และเม็ดแก้ว ให้ประสิทธิภาพต่ำที่สุด คือกำจัดสปอร์ได้เพียง 62-85% ในแง่ของสถิติแล้ว การใช้เม็ดแก้วหรือซีโอไลต์ล้วนแต่ให้ความแตกต่างที่ไม่มีนัยสำคัญทั้งสิ้น ( $p = 0.763$ ) แต่การใช้กระจกสไลด์พบว่าแตกต่างจากการใช้ตัวกลางชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.007$ ) ทั้งนี้ ในช่วงของเวลา 60-90 นาที การใช้ซีโอไลต์ในสถานะที่ไม่มีการกวนในครั้งที่ 2 (รูปที่ 4 ก) ให้ประสิทธิภาพต่ำกว่าตัวกลางชนิดอื่นมาก โดยพบว่าซีโอไลต์ให้ประสิทธิภาพที่ค่อนข้างแปรปรวน กล่าวคือ เมื่อทดสอบทางสถิติโดยใช้ paired t-test ระหว่างการศึกษาซ้ำ 2 ซ้ำ ประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์เมื่อใช้ตัวกลางเป็นซีโอไลต์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.015$ ) ขณะที่ตัวกลางชนิดอื่นให้ความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญใน 2 ซ้ำ ( $p = 0.3-0.7$ ) ซึ่งเป็นไปได้ว่าลักษณะของซีโอไลต์นั้นมีความพรุนหรือ



หมายเหตุ : ตัวเลข 1 และ 2 ในรูป หมายถึงการศึกษาครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามลำดับ

รูปที่ 3. การลดลงของจำนวนสปอร์ *B. subtilis* จากปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส เมื่อใช้ตัวกลางและการกวนต่างๆกัน

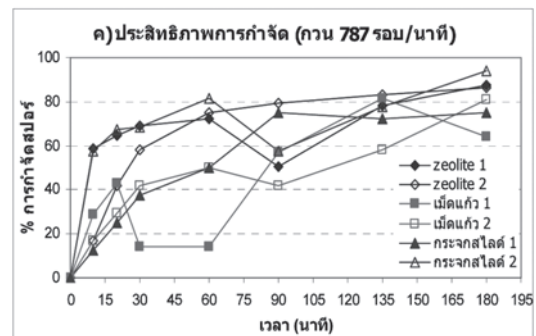
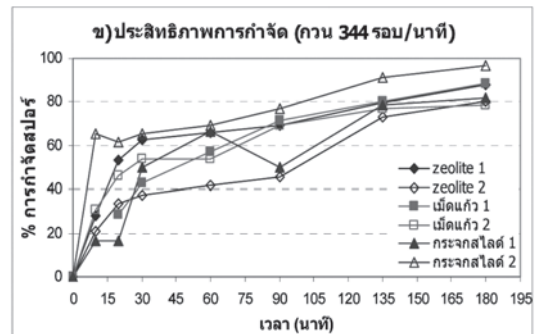
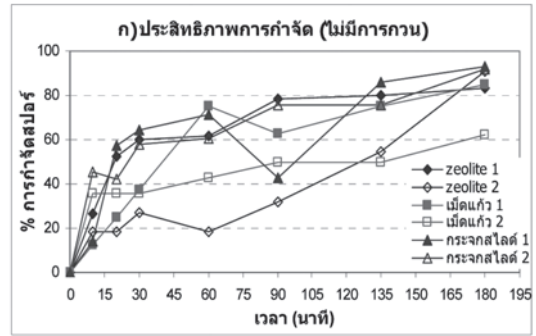
เป็นโพรง จึงมี  $TiO_2$  บางส่วนฝังตัวอยู่ในโพรง ทำให้การกระจายตัวของมันไม่สม่ำเสมอและแตกต่างกันไปในแต่ละชุดการทดลอง เมื่อเกิดปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิส อนุภาคนิวเคลียสจึงกระจายตัวไม่สม่ำเสมอเท่ากับตัวกลางชนิดอื่น และการไม่กวนอาจทำให้สปอร์สัมผัสกับอนุภาคนิวเคลียสที่ไม่เท่ากันในแต่ละชุดการทดลองได้

เมื่อมีการกวนน้ำตัวอย่างด้วยความเร็วรอบ 344 รอบ/นาที (รูปที่ 4 ข) พบว่าการกำจัดสปอร์ของ *B. subtilis* ดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัดในทูกตัวกลาง กล่าวคือ

เมื่อครบ 180 นาที สปอร์ถูกกำจัดได้สูงสุด 97% เมื่อใช้กระจกสไลด์เช่นเดิม (ในครั้งที่ 1 ให้ประสิทธิภาพ 82%) ส่วนซีโอไลต์กับเม็ดแก้วให้ประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกันคือ 80-88% สำหรับซีโอไลต์ และ 78-87% สำหรับเม็ดแก้ว (ในแง่ของสถิติ ความแตกต่างระหว่างเม็ดแก้วกับซีโอไลต์นั้นไม่มีนัยสำคัญ โดย  $p = 0.954$ ) แต่ในช่วงเวลาของ 60-90 นาที การใช้ซีโอไลต์ในครั้งที่ 2 ยังคงพบว่าให้ประสิทธิภาพต่ำกว่าชนิดอื่นอยู่เช่นเดิม และซีโอไลต์ยังคงให้ผลที่ไม่คงที่ระหว่างการศึกษ 2 ซ้ำอยู่

( $p = 0.005$ ) โดยพบว่ากระจกสไลด์ก็ให้ผลแตกต่างกันระหว่าง 2 ซ้ำอย่างมีนัยสำคัญด้วย ( $p = 0.014$ ) ส่วนเม็ดแก้วนั้นให้ผลที่สอดคล้องกันมากใน 2 ซ้ำที่ศึกษา ( $p = 0.71$ ) ซึ่งในกรณีของซีโอไลต์ เป็นไปได้ว่าความเร็วในการกวน 344 รอบ/นาที ยังไม่เพียงพอที่จะทำให้อนุภาคอิสระสัมผัสกับสปอร์ของ *B. subtilis* อย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ จนทำให้ผลของการศึกษาสอดคล้องกันในทุกชุดการทดลองได้ ขณะที่ความแปรปรวนที่เกิดขึ้นเมื่อใช้ตัวกลางเป็นกระจกสไลด์ อาจมาจากการหมุนวนของน้ำที่ปะทะกับกระจกสไลด์ที่วางพิงในแนวตั้งกับผนังปิกเกอร์ทดลอง ไม่มีความสม่ำเสมอในแต่ละชุดการทดลอง จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์ของจุลินทรีย์แตกต่างกันหลากหลายกันไปดังที่ปรากฏได้

เมื่อเพิ่มความเร็วของการกวนเป็น 787 รอบ/นาที (รูปที่ 4 ค) พบว่าประสิทธิภาพของการใช้ซีโอไลต์ในช่วงเวลา 60-90 นาทีนั้นดีขึ้นมาก โดยเมื่อครบ 180 นาทีสามารถกำจัดสปอร์ได้ 87-88% และไม่พบความแปรปรวนหรือความแตกต่างระหว่าง 2 ซ้ำอีกต่อไป ( $p = 0.511$ ) ซึ่งสันนิษฐานว่าการกวนอย่างรวดเร็วทำให้เพิ่มการสัมผัสระหว่างสปอร์ของจุลินทรีย์กับอนุภาคอิสระที่อาจอยู่ภายในโพรงของซีโอไลต์ได้สม่ำเสมอมากขึ้น การทดลองซ้ำจึงสอดคล้องกันอย่างดีเยี่ยมเมื่อเทียบกับการไม่กวนและการกวนที่ความเร็ว 344 รอบ/นาที ทั้งนี้แม้ว่ากระจกสไลด์ยังคงให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์สูงที่สุด (94%) อยู่เช่นเดิม แต่ก็พบความแตกต่างระหว่างการศึกษาระหว่าง 2 ซ้ำอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.04$ ) (ในครั้งที่ 1 กระจกสไลด์ให้ประสิทธิภาพ 75%) ซึ่งก็น่าจะเป็นเหตุผลเดิมจากการที่การปะทะของสปอร์ในน้ำตัวอย่างกับกระจกสไลด์นั้นมีความแปรปรวนสูง ความแตกต่างระหว่างซ้ำจึงเกิดขึ้นได้ ส่วนเม็ดแก้วที่แม้จะให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสปอร์ต่ำที่สุดคือ 64-81% แต่ก็พบว่ามีความสอดคล้องกันทั้ง 2 ซ้ำ ( $p = 0.81$ ) ซึ่งในกรณีของเม็ดแก้วนี้ ไม่ว่าจะกวนหรือไม่กวน หรือกวนที่ระดับความเร็วเท่าใด ความแตกต่างของ 2 ซ้ำล้วนแต่ไม่มีนัยสำคัญทั้งสิ้น ทั้งนี้เป็นไปได้ว่ารูปทรงของเม็ดแก้วนั้นเป็นทรงกลม ทำให้อนุภาคอิสระที่เกิดขึ้นสามารถกระจายได้อย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ แต่การกวนทำให้น้ำตัวอย่างมีสีขุ่นขาวอันเนื่องมาจากการ



หมายเหตุ : ตัวเลข 1 และ 2 ในรูป หมายถึงการศึกษาครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามลำดับ

รูปที่ 4. ประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์ของ *B. subtilis* เมื่อใช้ตัวกลางและการกวนความเร็วต่างๆ

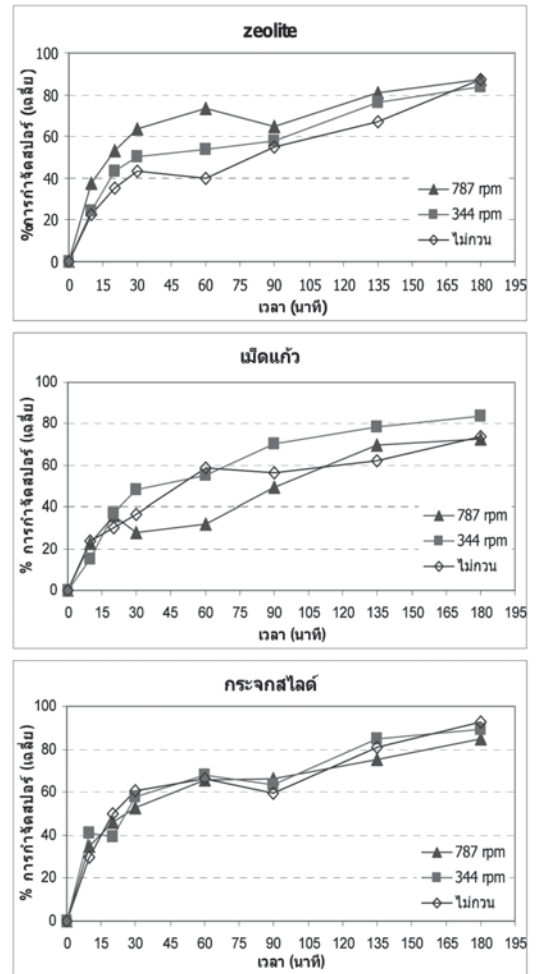
หลุดของ  $TiO_2$  ที่เคลือบบนผิวของเม็ดแก้ว ซึ่งน่าจะบดบังแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ส่องลงมา ทำให้ปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสเกิดได้น้อยลง ประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์ของแบคทีเรียจึงน้อยลงตามไปด้วย ซึ่งในประเด็นนี้ Rincón and Pulgarin (2003) ได้ทดสอบประสิทธิภาพการกำจัด *E. coli* ระหว่างการใช้ผง  $TiO_2$  ในรูปของสารแขวนลอยกับการเคลือบ  $TiO_2$  บนเมมเบรน พบว่า การเคลือบให้ผลในการกำจัดแบคทีเรียดีกว่าการใช้สารแขวนลอยถึง

40 เท่าในระยะเวลาเท่าๆกัน ด้วยเหตุผลในเรื่องของการบดบังแสงดังที่กล่าวไปในข้างต้น และเพื่อให้การเปรียบเทียบกระทำได้ง่ายขึ้น รูปที่ 5 จึงแสดงถึงประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์ของแบคทีเรียเมื่อใช้ความเร็วในการกวนต่างๆกันและไม่ได้กวนสำหรับตัวกลางทั้ง 3 ชนิด โดยแต่ละเส้นเป็นค่าเฉลี่ยจากการศึกษา 2 ซ้ำ

จากรูปที่ 5 จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้ซีโอไลต์ ประสิทธิภาพจะสูงที่สุดเมื่อใช้ความเร็วในการกวนสูง (787 รอบ/นาที) รองลงมาคือความเร็ว 344 รอบ/นาที และไม่กวนตามลำดับ โดยแต่ละเส้นที่แสดงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งสิ้น ( $p = 0.006-0.04$  จากการทดสอบทีละคู่) แต่เมื่อใช้เม็ดแก้วเป็นตัวกลาง ความเร็วสูงที่สุดทำให้  $TiO_2$  หลุดออกมามากที่สุด ส่งผลให้น้ำนั้นมีความขุ่นสูง ประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์จึงลดลงไปต่ำที่สุดด้วย ซึ่งความแตกต่างนั้นมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ทั้งนี้ หากมีการเคลือบตัวกลางที่ดีกว่านี้จน  $TiO_2$  ไม่มีการหลุดออกมาได้ ผลการศึกษาอาจเปลี่ยนแปลงไปจากนี้ก็เป็นได้ สำหรับตัวกลางที่เป็นกระจกสไลด์ พบว่าปัจจัยเรื่องการกวนและความเร็วในการกวนไม่มีผลใดๆต่อประสิทธิภาพในการทำงานทั้งสิ้น ( $p = 0.292-0.828$  จากการทดสอบทีละคู่)

### สรุปผลการศึกษา

ในการศึกษานี้ พอลจะเห็นแนวโน้มได้ว่าปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสจากการใช้ตัวกลางต่างชนิดกันและใช้ความเร็วในการกวนต่างกัน ก่อให้เกิดประสิทธิผลในการกำจัดสปอร์ของแบคทีเรียที่แตกต่างกัน โดยกระจกสไลด์ให้ผลที่ดีที่สุดและแทบไม่มีความแตกต่างกันระหว่างการไม่กวนและการกวนด้วยความเร็วต่างๆ ส่วนซีโอไลต์ให้ผลดีและคงที่ก็ต่อเมื่อใช้ความเร็วในการกวนสูงๆ ขณะที่เม็ดแก้วนั้นไม่มีความแปรปรวนระหว่างซ้ำเลย แต่ประสิทธิภาพจะลดลงทันทีหากมีการหลุดออกของ  $TiO_2$  จากผิวของเม็ดแก้วซึ่งเกิดจากการกวนน้ำตัวอย่าง การปรับปรุงเทคนิคการเคลือบควรยังต้องมีการพัฒนาต่อไป แต่ในภาพรวมแล้ว ปฏิกิริยาโฟโตคะตะไลซิสสามารถกำจัดสปอร์ของ



รูปที่ 5. ประสิทธิภาพการกำจัดสปอร์ของ *B. subtilis* เมื่อใช้ตัวกลางและความเร็วในการกวนต่างกัน

*B. subtilis* ได้ตั้งแต่ 62% ไปจนถึง 97% ขึ้นกับตัวกลางและสภาวะการกวนที่ใช้

### กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนบางส่วนจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ประจำปี 2553 ได้รับความอนุเคราะห์ในการเคลือบและการใช้กล้อง Scanning electron microscope จากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) เครื่อง centrifuge สำหรับการเตรียมสปอร์ *B. subtilis* ได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.โดม สิริทิเวทย์

## เอกสารอ้างอิง

- สุจิตรา นาวารัตน์. 2553. การกำจัดจุลินทรีย์ในน้ำเสียโรงพยาบาลด้วยปฏิกิริยาไทเทเนียมไดออกไซด์โฟโตคะตะไลซิส การใช้รังสีอัลตราไวโอเล็ตซี และการเติมคลอรีน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
- ยุพรัตน์ ทลิมมงคล, พิพัฒน์ ศรีเบญจลักษณ์, ภารดี ช่วยบำรุง. 2552. ความสามารถของเครื่องฟอกอากาศชนิดอิเล็กทรอนิกส์ในการกำจัดจุลินทรีย์ในอากาศ. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 21(3): 246-256.
- Choi H., Stathatos E., and Dionysiou D.D. 2007. Photocatalytic TiO<sub>2</sub> films and membranes for the development of efficient wastewater treatment and reuse systems. *Desalination* 202: 199-206.
- Hofstadler K., Bauer R., Novalic S., and Heisler. 1994. New reactor design for photocatalytic wastewater treatment with TiO<sub>2</sub> immobilized on fused-silica glass fibers: photomineralization of 4-chlorophenol. *Environmental Science and Technology* 28: 670-674.
- Ibàñez J.A., Litter M.I., Pizarro R.A. 2003. Photocatalytic bactericidal effect of TiO<sub>2</sub> on *Enterobacter cloacae* comparative study with other gram (-) bacteria. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 157: 81-85.
- Nicholson W.L., Munakata N., Horneck G., Melosh H.J., and Setlow P. 2000. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64(3): 548-572.
- Rincón A.G., Pulgarin C., Adler N., and Peringer P. 2001. Interaction between *E. coli* inactivation and DBP-precursors-dihydroxybenzene isomers - in the photocatalytic process of drinking-water disinfection with TiO<sub>2</sub>. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 139: 233-241.
- Rincón A-G and Pulgarin C. 2003. Photocatalytical inactivation of *E. coli*: effect of (continuous-intermittent) light intensity and of (suspended-fixed) TiO<sub>2</sub> concentration. *Applied Catalysis* 44: 263-284.
- Rincón A-G and Pulgarin C. 2004. Bactericidal action of illuminated TiO<sub>2</sub> on pure *Escherichia coli* and natural bacterial consortia: post-irradiation events in the dark and assessment of the effective disinfection time. *Applied Catalysis* 49: 99-112.
- Rincón A-G and Pulgarin C. 2005. Use of coaxial photocatalytic reactor (CAPHORE) in the TiO<sub>2</sub> photo-assisted treatment of mixed *E. coli* and *Bacillus* sp. and bacterial community present in wastewater. *Catalysis Today* 101: 331-344.
- Salih F.M. 2002. Enhancement of solar inactivation of *Escherichia coli* by titanium dioxide photocatalytic oxidation. *Journal of Applied Microbiology* 92: 920-926.