



การกำจัดสารเอสโตรเจนในน้ำเสียโดยสาหร่ายขนาดเล็ก

Scenedesmus obliquus

Removal of Estrogen in Wastewater by Microalgae

Scenedesmus obliquus

Songkeart Phattarapattamawong*,** and Chantima Ruksrithong*

ทรงเกียรติ ภทรปัทมวงษ์*,** และ จันทิมา รักษ์ศรีทอง*

*ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10140

**โปรแกรมวิจัยการจัดการสารอันตรายในอุตสาหกรรมเกษตร ศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสาร

และของเสียอันตราย (ศสอ.) กรุงเทพฯ 10330

*E-mail : songkeart.pha@kmutt.ac.th

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ ทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดสารละลายเอสโตรเจน (Estrone, E1) และสารละลายเบต้า-เอสตราไดโอล (β -estradiol, E2) ของสาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus* โดยทำการทดสอบในขนาดห้องปฏิบัติการ (Lab-scale) พบว่า ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ในน้ำเสียสังเคราะห์มีประสิทธิภาพการกำจัดสาร E1 และ E2 ที่สภาวะสมดุลเท่ากับ 91% และ 99% ตามลำดับ โดยมีอัตราการกำจัดของ E1 และ E2 เท่ากับ 4.5 และ 4.9 $\mu\text{g/L.d}$ นอกจากนี้ยังพบว่าสาร E2 สามารถเปลี่ยนรูป (transformation) เป็นสาร E1 ได้อีกด้วย ในขณะที่พบการเปลี่ยนรูปของสาร E1 น้อยมาก ค่าความสามารถในการดูดซับ (adsorption capacity) สาร E1 และ E2 ต่อมวลสาหร่ายที่สภาวะสมดุลเท่ากับ 0.030 และ 0.035 $\mu\text{g/mgDW}$ ตามลำดับ โดยรูปแบบและกลไกการดูดซับมีความสอดคล้องกับความสัมพันธ์ของ Freundlich isotherm และ Pseudo second order นอกจากนี้ ยังพบว่าสาหร่ายอาจส่งผลต่อกระบวนการเปลี่ยนรูปของสาร E2

คำสำคัญ : *Scenedesmus obliquus*; เอสโตรเจน; สารละลายเบต้า-เอสตราไดโอล; กระบวนการเปลี่ยนรูป; สารเอสโตรเจน

Abstract

The objective of the research is to study the removal efficiency of estrone (E1) and β -estradiol (E2) by microalgae *Scenedesmus obliquus*. The study was conducted in a lab-scale experiment. During the steady state, E1 and E2 decreased by 91% and 99%, respectively. Removal rates for E1 and E2 by microalgae were 4.5 $\mu\text{g/L.d}$ and 4.9 $\mu\text{g/L.d}$, respectively. Interestingly, E2 were able to transform to be E1, while the slight transformation of E1 was observed. The adsorption capacities for E1 and E2 at the equilibrium state were 0.02 $\mu\text{g/mgDW}$ and 0.03 $\mu\text{g/mgDW}$, respectively. The isotherm and kinetic sorption of E1 and E2 followed the Freundlich isotherm and pseudo second orders, respectively. In addition, we found that microalgae possibly affected the transformation of E2.

Keywords : *Scenedesmus obliquus*; Estrone; β -estradiol; transformation; estrogens

บทนำ

เอสโตรเจน (Estrogen) เป็นฮอร์โมนที่จัดอยู่ในกลุ่มสเตียรอยด์ ซึ่งร่างกายสามารถผลิตขึ้นได้เองหรือเกิดจากการสังเคราะห์ขึ้นมาเพื่อใช้ในการควบคุมขนาดประชากรของสัตว์ อย่างไรก็ตาม เนื่องจากร่างกายของสัตว์มีความสามารถรับได้ในปริมาณที่จำกัด ปริมาณสารที่หลงเหลือจะถูกขับถ่ายออกมาปนเปื้อนกับน้ำเสีย [1] จากการสำรวจพบว่า การปนเปื้อนของเอสโตรเจนในน้ำเสียจากฟาร์มปศุสัตว์ที่พบมากในประเทศไทยมีอยู่ 2 ชนิด คือ เอสโตรนและเบต้า-เอสตราไดโอล ซึ่งมีความเข้มข้นสูงถึง 5,000-7,000 ng/L [2] โดยสารดังกล่าวนี้สามารถไปรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อ (Endocrine disruptor) ทำให้ระบบสืบพันธุ์ของสัตว์น้ำเกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น ปริมาณสุจิในสัตว์เพศผู้มีค่าลดลงหรือสามารถทำให้เพศผู้เปลี่ยนเป็นเพศเมียได้ [3] ซึ่งทำให้สมดุลระบบนิเวศในแหล่งน้ำเปลี่ยนไปและยังสามารถส่งผลกระทบต่อมนุษย์ได้ [4] ดังนั้น จึงควรลดการปนเปื้อนของสารเอสโตรเจนลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ

ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำเสียเป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากสาหร่ายสามารถใช้นิโตรเจน ฟอสฟอรัส และอินทรีย์คาร์บอนในน้ำเสีย

เป็นแหล่งสารอาหารในการเจริญเติบโต [5] การเลี้ยงสาหร่ายจึงนิยมนำมาประยุกต์ใช้ในการบำบัดสารอาหาร (ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส) ที่กระบวนการสุดท้ายซึ่งมีสถานะคล้ายบ่อปรับเสถียร (Stabilization Pond) นอกจากนั้น ยังเป็นระบบบำบัดที่อาศัยธรรมชาติในการบำบัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียอีกด้วย โดยการศึกษาครั้งนี้สนใจสาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus obliquus* เนื่องจากเป็นสาหร่ายสายพันธุ์ที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและมีความคงทนต่อสิ่งแวดล้อมได้สูง อีกทั้งมวลของสาหร่ายที่ผลิตได้สามารถนำไปแปรรูปเพื่อผลิตอาหารและผลิตไบโอดีเซลได้ [6] ซึ่งกลไกหลักที่สาหร่ายใช้ในการบำบัดน้ำเสียประกอบด้วยกระบวนการดูดซับและกระบวนการย่อยสลาย [7] อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเกี่ยวกับการกำจัดสารเอสโตรเจนโดยสาหร่ายยังถูกค้นพบค่อนข้างน้อยและไม่ชัดเจนสูง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัดสารเอสโตรเจนโดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus* โดยเลือกใช้สารละลายเอสโตรน (Estrone, E1) และสารละลายเบต้า-เอสตราไดโอล (β -estradiol, E2) เป็นตัวแทนกลุ่มสารเอสโตรเจน นอกจากนั้น ยังทำการศึกษาถึงกลไกต่างๆ ของสาหร่ายที่ใช้ในการกำจัดสารเอสโตรเจนอีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

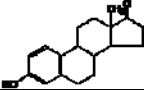
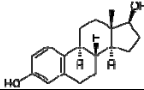
สารเคมี

สารละลายเอสโตรน (Estrone (E1), 99%) และสารละลายเบต้า-เอสตราไดอล (β -estradiol (E2), 98%) ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีดังตารางที่ 1 สั่งซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich สารละลายอะซิโตน (Acetone, 99.5%) ที่ใช้สำหรับการสกัด (extraction) สารตัวอย่างสั่งซื้อจากบริษัท RCI Labscan สารละลายอะซิโตรไนไทรล์ (Acetonitrile, 99.8%) สั่งซื้อจากบริษัท Merck สำหรับสายพันธุ์พืช *Scenedesmus obliquus* ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

การดำเนินงานทดลอง

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ในสูตรอาหาร N-8 ให้ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์อย่างต่อเนื่องและทำการกวนผสมโดยการเติมอากาศเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ของสาหร่าย หลังจากนั้นจึงนำเซลล์สาหร่ายมาใช้ในการทดสอบความสามารถในการกำจัดสารเอสโตรเจนในน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งมีสูตรทางเคมีดังแสดงในตารางที่ 2 เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นระหว่างการทดลอง น้ำที่ใช้ในการทดลองจะถูกต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที ก่อนทำการทดลอง

ตารางที่ 1 สมบัติทางกายภาพและเคมีของเอสโตรน (E1) และเบต้า – เอสตราไดอล (E2) [8]

คุณสมบัติ	เอสโตรน (Estrone : E1)	เอสตราไดอล (Estradiol : E2)
สูตรโครงสร้าง (Chemical structure)		
สูตรโมเลกุล (Molecular formula)	$C_{18}H_{22}O_2$	$C_{18}H_{24}O_2$
น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight)	270.4	272.4
จุดหลอมเหลว ($^{\circ}C$) (Melting point)	251-254	176
จุดเดือด ($^{\circ}C$) (Boiling point)	154	ไม่ระบุ
ค่าการละลายน้ำ (mg/l) (Water solubility)	30 (ที่ 25 องศาเซลเซียส)	3.6 (ที่ 27 องศาเซลเซียส)
ความดันไอ (kPa) (Vapor pressure)	1.4×10^{-7}	1.3×10^{-8}
ค่าคงที่การกระจายตัวระหว่างชั้นออกทานอลกับน้ำ ($\log K_{ow}$)	3.13	4.01
ค่าคงที่สมดุลการแตกตัวของกรด (pK_a)	10.40	10.23

ตารางที่ 2 สูตรน้ำเลี้ยงสังเคราะห์ [9]

สารเคมี	ปริมาณ (mg/l)	สารเคมี	ปริมาณ (g/l)
CH ₃ COONH ₄	375	<u>Micronutrient solution</u>	
NH ₄ Cl	87.70	EDTA	10.00
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	26.70	FeCl ₃ ·6H ₂ O	1.50
MgSO ₄ ·7H ₂ O	9.00	H ₃ BO ₃	0.15
CaCl ₂ ·2H ₂ O	4.72	CuSO ₄ ·2H ₂ O	0.03
KCl	36.00	KI	0.18
Micronutrient solution	0.60 (ml/l)	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.12
		NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0.06
		ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.12
		CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.15

1. ศึกษาการดูดซับเอสโตรเจนโดยสาหร่ายขนาดเล็ก

ทำการเตรียมสาหร่ายสด *Scenedesmus obliquus* ที่ความเข้มข้นเทียบเท่ากับ 100 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร (mgDW/L) ซึ่งเป็นปริมาณความเข้มข้นของสาหร่ายโดยทั่วไปในระบบบ่อปรับเสถียร [10] ทำการผสมเซลล์สาหร่ายในน้ำเลี้ยงสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้น E1 ตั้งแต่ 1 ถึง 5 ไมโครกรัมต่อลิตร (μg/L) โดยทำการกวนผสมด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก (Magnetic Stirrer) ในสภาวะไร้แสง ทำการวิเคราะห์หาค่า COD ทุกช่วงเวลาในการเก็บน้ำตัวอย่าง และสำหรับการทดลองของสาร E2 ก็ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับสาร E1 ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1 ถึง 5 μg/L โดยแต่ละชุดการทดลองมีการทำซ้ำ 2 ครั้ง โดยลักษณะการดูดซับสารเอสโตรเจนของสาหร่ายถูกนำไปเทียบกับความสัมพันธ์ของ Langmuir และ Freundlich [11] แสดงดังสมการที่ (1) และ (2) ดังนี้

สมการของ Langmuir:

$$1/q_e = (1/(K_a Q_{\max}))(1/C_e) + (1/Q_{\max}) \quad (1)$$

เมื่อ q_e คือ ปริมาณเอสโตรเจนที่ถูกดูดซับที่จุดสมดุล (mg/L) C_e คือ ความเข้มข้นของเอสโตรเจนที่ถูกดูดซับเมื่ออยู่ในสภาวะสมดุล (mg/L), $Q_{\max}$ คือ ปริมาณสูงสุดของเอสโตรเจนที่สามารถถูกดูดซับแบบ monolayer ต่อน้ำหนักของสาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus* (mg/g ของตัวดูดซับ) และ K_a คือ ค่าคงที่ในการกระจายตัวในการดูดซับ (Adsorption Distribution Constant)

สมการของ Freundlich:

$$q = K_f C_e^{1/n} \quad (2)$$

เมื่อ K_f และ $1/n$ เป็นค่าคงที่ของการดูดซับ ซึ่งค่า K_f และ $1/n$ เป็นดัชนีของประสิทธิภาพในการดูดซับ (adsorption capacity index) และความหนาแน่นในการดูดซับ (adsorption intensity) ตามลำดับ

สำหรับจลนศาสตร์ของการดูดซับศึกษาจากแบบจำลองสมการ Pseudo-first order และ Pseudo-second order [12] ดังสมการที่ (3) และ (4) ตามลำดับ

สมการเส้นตรง Pseudo-first order:

$$\text{Log}(q_c - q_t) = \text{Log } q_{c,m} - (k_1 t / 2.303) \quad (3)$$

สมการเส้นตรง Pseudo-second order:

$$t/q_t = 1/k_2 q_c^2 + t/(q_c) \quad (4)$$

เมื่อ q_t คือ ความสามารถในการดูดซับเอสโตรเจนของสาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus* ที่เวลาใดๆ (mg/g), q_c คือ ความสามารถในการดูดซับเอสโตรเจนของสาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus* ที่สภาวะสมดุล (mg/g), k_1 และ k_2 คือ ค่าคงที่อัตราเร็วของปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง (ต่อนาที) และอันดับที่สอง (g/mg-min) ตามลำดับ, t คือ เวลาที่ใช้ในการดูดซับ (hour)

2. ศึกษากระบวนการทางชีวภาพของสาหร่ายขนาด

เล็กต่อการกำจัดเอสโตรเจน

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus* ในถังปฏิกรณ์ปริมาณ 5 ลิตร จำนวน 2 ถัง โดยที่ถังที่ 1 ทำการทดลองการกำจัดสาร E1 ในน้ำเสียสังเคราะห์ และถังที่ 2 ทำการทดลองการกำจัดสาร E2 ในน้ำเสียสังเคราะห์การดำเนินงานเป็นแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi – continuous) โดยกำหนดให้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสาหร่ายเท่ากับ 100 mg/L หรือจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 0.5×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นเริ่มต้นของสาร E1 ในถังที่ 1 และสาร E2 ในถังที่ 2 เท่ากับ 5 µg/L ทำการควบคุมพีเอชในช่วง 6.8-7.0 ด้วยสารละลายกรด (HCl) และด่าง (NaOH) มีการใช้หัวเติมอากาศเพื่อให้สาหร่ายมีการกวนผสมที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์อย่างต่อเนื่อง ทำการเปลี่ยนน้ำทุกวันๆ ละ 1 ลิตร (น้ำเข้าคือน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีการเติมสาร E1 และ E2 สำหรับถังที่ 1 และ 2 ตามลำดับ) เพื่อทำการควบคุมระยะเวลาที่เก็บน้ำ (HRT) ที่ 5 วัน น้ำตัวอย่างที่เก็บได้จะถูกนำไปเพื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารเอสโตรเจนและปริมาณของสารอาหารที่เหลืออยู่ (เช่น COD, TKN, total phosphorus) เนื่องจากพบข้อจำกัดในการป้องกันการ

ปนเปื้อนจึงมีการทดสอบตัวอย่างควบคุม (Control) ซึ่งไม่มีการเติมเซลล์สาหร่ายระหว่างการทำการทดสอบสำหรับประสิทธิภาพการกำจัด (% removal) และความสามารถในการเปลี่ยนรูป (% transformation) สามารถคิดได้จากสมการที่ (5) และ (6) ตามลำดับ

ประสิทธิภาพการกำจัด:

$$\% \text{ removal} = (C_0 - C) / C_0 \times 100 \quad (5)$$

เมื่อ C_0 คือความเข้มข้นเริ่มต้น, C คือ ความเข้มข้นที่เวลาใดๆ หรือที่สภาวะสมดุล

ความสามารถในการเปลี่ยนรูป:

$$\% \text{ transformation} = (C') / C_0 \times 100 \quad (6)$$

เมื่อ C_0 คือความเข้มข้นสารเริ่มต้น, C' คือ ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์

วิธีการวิเคราะห์

ค่า COD (Chemical Oxygen Demand, COD) ถูกวิเคราะห์ตามวิธีฟลักซ์แบบปิด (Close reflux) ฟอสฟอรัส (Ortho-Phosphorus, Ortho-P) ถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีสแตนนัสคลอไรด์ (Stannous chloride) สำหรับไนโตรเจนวิเคราะห์โดยใช้วิธีการย่อยและไตเตรท (digestion and titration) และวิธีฟีนท (Phenate) เป็นตัวทำปฏิกิริยาเพื่อหาค่าทีเคเอ็น (Total Kjeldahl Nitrogen, TKN) และแอมโมเนียมไนโตรเจน (Ammonium nitrogen, NH_4^+) ตามวิธีของ APHA (1998) [13] สำหรับการเจริญเติบโตของสาหร่ายตรวจสอบโดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 680 นาโนเมตร (OD_{680}) ที่วัดด้วยเครื่องสโปกโทโฟโตมิเตอร์และนับจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ สารเอสโตรเจนถูกวิเคราะห์โดยฉีดน้ำตัวอย่าง 300 มิลลิลิตร ผ่าน SPE C-18 cartridges (บริษัท Supelco) และทำการล้างด้วยอะซิโตน (Acetone) 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้น

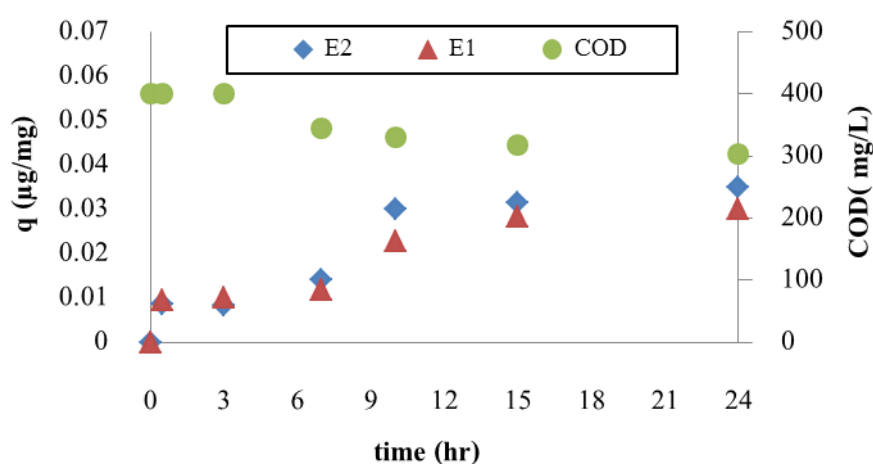
ทำการ purge ด้วยแก๊สไนโตรเจนบริสุทธิ์ 99.995% ทำการปรับปริมาตรตัวอย่างด้วย Acetonitrile 1 มิลลิลิตร ก่อนการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Waters e2695, รุ่น Alliance) ซึ่งตรวจวัดด้วยฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence detector) ที่ความยาวคลื่นการกระตุ้น (λ_{ex}) และความยาวคลื่นการคาย (λ_{em}) เท่ากับ 280 และ 310 นาโนเมตร ตามลำดับ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้สำหรับ E1 และ E2 คือ 67 และ 2 นาโนกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ร้อยละการกลับคืน (% recovery) ของ E1 และ E2 เท่ากับ 93.7 และ 103.8

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของการดูดซับเอสโตรเจนโดยสาหร่ายขนาดเล็ก

รูปที่ 1 แสดงการดูดซับสาร E1 และ E2 โดยสาหร่ายการดูดซับสารทั้ง 2 ชนิด มีแนวโน้มลักษณะเดียวกัน โดยที่สภาวะสมดุล (24 ชั่วโมง) สาหร่าย *Scenedesmus obliquus* สามารถลดสาร E1 และ E2 ได้เท่ากับ 64% และ 74% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามรูปแบบการดูดซับ (sorption) ของสารแต่ละชนิดนั้นแตกต่างกันโดยสามารถแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ คือ การดูดซับแบบเร็ว (adsorption) และการดูดซับแบบช้าหรือการดูดซึม (absorption) การดูดซับแบบเร็วเกิดขึ้นในช่วง

ของการทดลองเบื้องต้น โดยเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 0.5 ชั่วโมง และเมื่อเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมงความสามารถในการดูดซับสาร E1 และ E2 เท่ากับ 0.01 และ 0.008 $\mu\text{g}/\text{mgDW}$ หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้เท่ากับ 21% และ 18% ตามลำดับ ซึ่งการดูดซับรูปแบบนี้คาดว่ามีความเกี่ยวข้องกับความไม่ชอบน้ำ (Hydrophobicity) ของสาร เนื่องจากสาร E1 และ E2 มีความไม่ชอบน้ำสูง โดยมีค่า $\text{Log } K_{ow}$ เท่ากับ 3.13 และ 4.01 ตามลำดับ [8] สำหรับการดูดซับแบบช้าเกิดขึ้นตั้งแต่วเวลา 7 ชั่วโมง เป็นต้นไป โดยความสามารถของการดูดซับสาร E1 และ E2 เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งคงที่หลังจากเวลา 15 ชั่วโมง และที่เวลา 24 ชั่วโมง (สภาวะคงที่) ความสามารถในการดูดซับสาร E1 และ E2 เท่ากับ 0.030 และ 0.035 $\mu\text{g}/\text{mgDW}$ ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ค่า COD พบว่า ปริมาณสารอินทรีย์ลดลงตั้งแต่ 7 ชั่วโมงเช่นเดียวกัน จึงสันนิษฐานได้ว่าสาหร่ายเริ่มมีการดูดซึมสารอาหารรวมทั้งสารเอสโตรเจนเพื่อการดำรงชีวิตตั้งแต่วเวลาที่ 7 เป็นต้นไป จากการที่สาร E1 ถูกดูดซับได้สูงกว่าสาร E2 ในช่วงต้น แต่ปริมาณที่ดูดซับของสาร E1 เมื่อเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าน้อยกว่า แสดงให้เห็นว่า สาหร่ายสามารถดูดซึมสาร E2 ได้ดีกว่าสาร E1 เพื่อใช้ในการกระบวนการหายใจและเมตาบอลิซึม



รูปที่ 1 การดูดซับสาร E1 และ E2 โดยสาหร่าย

ลักษณะการดูดซับของสาร E1 และ E2 โดยสารห่วยสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus* มีความสัมพันธ์ในรูปแบบ Freundlich adsorption isotherm มากกว่าแบบ Langmuir adsorption isotherm โดยค่าความสัมพันธ์ (R^2) ของสาร E1 และ E2 ของสมการการดูดซับแบบ Freundlich adsorption isotherm มีค่าเท่ากับ 0.842 และ 0.751 ตามลำดับ ในขณะที่ค่า R^2 ของ Langmuir adsorption isotherm สำหรับ E1 และ E2 มีค่าเท่ากับ 0.751 และ 0.696 ตามลำดับ จึงแสดงให้เห็นว่าการดูดซับสารเอสโตรเจนโดยสาหร่ายนั้นเกิดขึ้นในลักษณะแบบหลายชั้น (multiple layers) และไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (heterogeneous adsorption) ซึ่งสอดคล้องกับข้อสมมติฐานเบื้องต้นที่ว่า เกิดการดูดซับสารอาหารเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการดำรงชีวิตของสาหร่าย ดังนั้น สมการ Freundlich adsorption จึงถูกใช้เพื่อหาค่า K_f และ $1/n$ ซึ่งถูกแสดงในตารางที่ 3 โดยค่า K_f ของสาร E1 และ E2 มีค่าเท่ากับ 0.0067 และ 0.0441 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับข้อสรุปที่ว่าสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* สามารถดูดซับ E2 ได้ดีกว่า E1 นอกจากนั้น สารทั้ง 2 ชนิด ยังมีความขึ้นชอบต่อการถูกดูดซับโดยเซลล์สาหร่าย ดังเห็นได้จากค่า $1/n$ ที่มีค่าเท่ากับ 1.394 และ 1.002 ตามลำดับ

แบบจำลองทางจลนศาสตร์ถูกใช้ในการอธิบายอัตราเร็วของการดูดซับสาร E1 และ E2 พบว่าการดูดซับของสาร E1 และ E2 โดยสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับปฏิกิริยาอันดับสอง (Pseudo second order) เนื่องจากเมื่อนำข้อมูลลงมาเปรียบเทียบกับสมการ Pseudo second order ($R^2 = 0.983$ และ 0.992 ของ E1 และ E2 ตามลำดับ) แล้วพบว่ามีความใกล้เคียงมากกว่าสมการ Pseudo first order ($R^2 = 0.955$ และ 0.985 ของ E1 และ E2 ตามลำดับ) รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง t/q_t และ t ของการดูดซับสาร E1 และ E2 ในแบบจำลองแบบ Pseudo second order ซึ่งชี้ให้เห็นว่าผลต่างของอัตราการดูดซับเอสโตรเจนที่เวลาใดๆ ขึ้นกับความเร็วยของปฏิกิริยา (k_2) และผลต่างระหว่าง

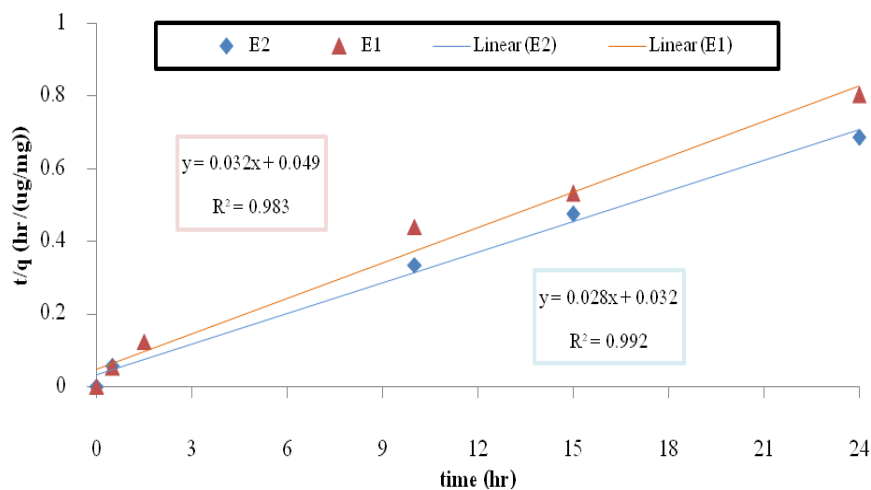
ความสามารถในการดูดซับที่สภาวะสมดุลและเวลาใดๆ ยกกำลังสอง

ผลการกำจัดเอสโตรเจนโดยกระบวนการทางชีวภาพของสาหร่าย

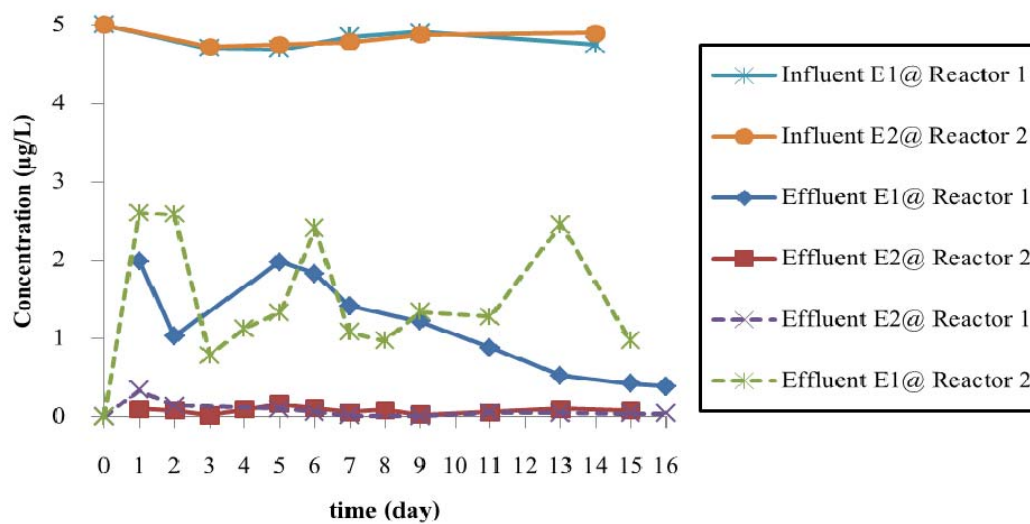
จากรูปที่ 3 การกำจัดเอสโตรเจนโดยกระบวนการทางชีวภาพของสาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus* สามารถลด E1 จาก $4.82 \mu\text{g/L}$ เป็น $2 \mu\text{g/L}$ ในวันแรกที่ดำเนินการทดลองและความเข้มข้นค่อยๆ ลดลงอย่างต่อเนื่องจนมีค่าใกล้เคียงค่าคงที่โดยที่สภาวะสมดุลมีความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ $0.45 \mu\text{g/L}$ ซึ่งคิดเป็นประสิทธิภาพการกำจัดเท่ากับ 91% สำหรับถึงทดลองที่ 2 ความเข้มข้นเริ่มต้นของ E2 เท่ากับ $4.84 \mu\text{g/L}$ สาหร่ายสามารถกำจัด E2 ได้สูงถึง 99% ภายในวันแรกของการดำเนินงานโดยที่มีความเข้มข้นเท่ากับ $0.04 \mu\text{g/L}$ เมื่อระบบเข้าสู่สภาวะสมดุลซึ่งชี้ให้เห็นว่า สาร E2 ถูกกำจัดด้วยกระบวนการทางชีวภาพของสาหร่ายมากกว่าสาร E1 เมื่อทำการเปรียบเทียบกับผลการดูดซับ พบว่า ผลการกำจัดสาร E1 และ E2 ที่ได้จากระบวนการทางชีวภาพ (91-99%) นั้นสูงกว่าผลที่ได้จากการดูดซับ (64-74%) ซึ่งชี้ให้เห็นว่า ปริมาณสารที่ทั้งหมดที่หายไป นอกจากเป็นผลของกระบวนการดูดซับแล้ว ยังเกิดกระบวนการอื่นๆ ร่วมด้วย เช่น กระบวนการทางชีวภาพ (กระบวนการหายใจและเมตาบอลิซึม) และการเปลี่ยนรูปของสารเอสโตรเจน ซึ่งจะทำการกล่าวถึงต่อไป ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยหลายฉบับ [14-16] ที่สรุปว่า กระบวนการทางชีวภาพโดยทั่วไปนั้นมีความสามารถในการกำจัดสาร E1 ที่ต่ำกว่าการกำจัดสาร E2 ซึ่งผลการศึกษานี้ชี้ว่า อัตราการกำจัดสาร E1 นั้นช้ากว่าของสาร E2 โดยอัตราการกำจัดของสาร E1 และ E2 เท่ากับ $4.5 \mu\text{g/L.d}$ และ $4.9 \mu\text{g/L.d}$ ตามลำดับ ซึ่งอัตราเร็วของการกำจัดที่แตกต่างกันสามารถอธิบายได้โดยข้อสรุปของการดูดซับข้างต้นที่พบว่า สาหร่ายสามารถดูดซับสาร E2 ได้ดีกว่าสาร E1 จึงส่งผลให้อัตราเร็วในการกำจัดสาร E2 นั้นสูงกว่าของสาร E1

ตารางที่ 3 ค่าคงที่ไอโซเทอมของการดูดซับปริมาณเอสโตรเจนด้วยสาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus obliquus*

	ค่าคงที่ของสมการฟรอนด์ลิช (Freundlich)		
	R^2	$1/n$	K_f
<i>Scenedesmus obliquus</i> (E1)	0.842	1.394	0.0067
<i>Scenedesmus obliquus</i> (E2)	0.751	1.002	0.0441



รูปที่ 2 แบบจำลองแบบ pseudo second order ของการดูดซับสาร E1 และ E2 โดยสาหร่าย



รูปที่ 3 ผลการกำจัดและการเปลี่ยนรูปของสาร E2 และ E1 โดยกระบวนการทางชีวภาพของสาหร่าย

นอกจากนั้น ยังพบการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของสาร E1 ในถังการทดลองที่ 2 ที่มีการใส่เฉพาะสาร E2 โดยค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสาร E1 ตลอดการทดลองมีค่าเท่ากับ $1.57 \mu\text{g/L}$ หรือคิดเป็นสัดส่วนเมื่อเทียบกับความเข้มข้นเริ่มต้นของสาร E2 ($4.84 \mu\text{g/L}$) เท่ากับ 32% แสดงให้เห็นว่า เกิดกระบวนการเปลี่ยนรูป (transformation) ของสาร E2 ซึ่งได้สาร E1 เป็นผลิตภัณฑ์จากการทดสอบตัวอย่างควบคุม (Control) ในห้องปฏิบัติการ พบว่า เกิดกระบวนการย่อยสลายด้วยแสง (photolysis) และกระบวนการเปลี่ยนรูปของสาร E1 เป็นสาร E2 เกิดขึ้นน้อยมาก (ค่าสูงสุดประมาณ 3% ของความเข้มข้นเริ่มต้น) ส่วนการเปลี่ยนรูปจากสาร E2 เป็นสาร E1 ในตัวอย่างควบคุมคิดเป็น 81% ของความเข้มข้นเริ่มต้น ผลลัพธ์ในตัวอย่างควบคุมที่ได้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shi และคณะ 2010 [9] ที่กล่าวว่า แนวโน้มในการเปลี่ยนรูปจาก E2 เป็น E1 สูงกว่าอัตราการเปลี่ยนรูปของสาร E1 เป็น E2 ดังนั้น ถึงแม้ว่าในถังทดลองที่ 2 จะสามารถกำจัดสาร E2 ได้ถึง 99% แต่กลไกหลักที่ใช้ในการกำจัดสาร E2 ก็คือ กระบวนการเปลี่ยนรูปของสาร E2 เป็น E1 นั่นเอง อย่างไรก็ตาม ผลดังกล่าวจะเป็นจริงก็ต่อเมื่ออัตราการเปลี่ยนรูปของสาร E2 เป็นสาร E1 นั้นเกิดขึ้นเร็วกว่าอัตราการดูดซับโดยสารห่วย อย่างไรก็ตาม สารห่วยช่วยส่งเสริมให้เกิดการกำจัดสาร E2 เพิ่มขึ้นประมาณ 17% และยังสามารถลดสารผลิตภัณฑ์ (E1) ที่เกิดจากกระบวนการเปลี่ยนรูปของสาร E2 ได้ถึง 49% ซึ่งหากทำการเพิ่มระยะเวลาเก็บน้ำหรือความเข้มข้นสารห่วยในระบบ อาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัด E1 ที่หลงเหลือได้ สำหรับการทดลองในถังที่ 1 นั้นพบการเปลี่ยนรูปของสาร E1 เป็นสาร E2 น้อยมาก (<1%) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าปริมาณสาร E1 ที่หายไปเกิดจากผลของการดูดซับและกระบวนการทางชีวภาพของสารห่วยเพียงเท่านั้น

เมื่อนำความสัมพันธ์ของการดูดซับแบบ Freundlich isotherm มาพิจารณา พบว่า กลไกการดูดซับซึ่งเป็นกลไกเริ่มต้นที่ใช้ในการกำจัดสารเอสโตรเจนของจุลินทรีย์ต่างๆ [17] มีความสำคัญต่อการกำจัดสาร E1 โดยสารห่วยเช่นเดียวกัน โดยที่มีประสิทธิภาพในกระบวนการดูดซับสาร E1 เท่ากับ 70% ดังนั้น กระบวนการทางชีวภาพของสารห่วยสามารถกำจัดสาร E1 ได้เท่ากับ 21% (ไม่พิจารณาถึงความสามารถในการเปลี่ยนรูปของสาร E1) สำหรับการกำจัดสาร E2 ปริมาณสารที่หายไปส่วนใหญ่อาจมาจากกระบวนการเปลี่ยนรูป (81%) ส่วนที่เหลือ (17%) อาจเป็นผลมาจากกระบวนการดูดซับ การเพิ่มความสามารถในการเปลี่ยนรูปของสารโดยสารห่วย และกระบวนการทางชีวภาพของสารห่วย อย่างไรก็ตาม เนื่องจากระหว่างการทดลองการกำจัดสาร E2 จะเกิดการแข่งขันระหว่างอัตราการเปลี่ยนรูปของสารและอัตราการดูดซับของสาร E2 และ E1 (สารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น) จึงทำให้ไม่สามารถระบุถึงอัตราส่วนของการกำจัดสาร E2 โดยกระบวนการดูดซับและกระบวนการทางชีวภาพของสารห่วยได้

เมื่อระบบเข้าสู่สภาวะสมดุล ถึงที่ 1 มีประสิทธิภาพการกำจัด COD, NH_4^+ , TKN และ Ortho-P เท่ากับ 87%, 27%, 19% และ 64% ตามลำดับ และสำหรับถังที่ 2 คือ 86%, 19%, 13% และ 38% ตามลำดับ โดยมีปริมาณเซลล์สารห่วยในถังที่ 1 และถังที่ 2 เป็น $1.78 \times 10^6 \text{ cell/ml}$ และ $1.11 \times 10^6 \text{ cell/ml}$ ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4) จากการที่ประสิทธิภาพในการกำจัด COD (86-87%) ต่ำกว่าความสามารถในการกำจัดสารเอสโตรเจน (E1 และ E2 เท่ากับ 91% และ 99% ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่า สารห่วยอาจสามารถใช้สารเอสโตรเจน (E1 และ E2) ได้ดีกว่าสารอินทรีย์จากแอมโมเนียมอะซิเตด ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) อย่างไรก็ตาม ควรที่จะมีการทดสอบการเลี้ยงสารห่วยในน้ำเสียฟาร์มปศุสัตว์ด้วย เพื่อประเมินถึงความเป็นไปได้ที่จะนำไปประยุกต์ใช้งาน

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการกำจัดสารอาหารของสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่สถานะสมดุล

ถังปฏิกรณ์	พารามิเตอร์				การเจริญเติบโตของสาหร่าย	
	COD (%removal)	NH ₄ ⁺ (%removal)	TKN (%removal)	Ortho-P (%removal)	จำนวนเซลล์ (10 ⁶ cell/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD ₆₈₀)
ถังที่ 1 : <i>Scenedesmus obliquus</i> (E1)	87	27	19	64	1.78	0.403
ถังที่ 2 : <i>Scenedesmus obliquus</i> (E2)	86	19	13	38	1.11	0.283

สรุปผลการทดลอง

ระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus obliquus* ในน้ำเสียสังเคราะห์มีความสามารถในการกำจัดสาร E1 และ E2 ที่สถานะสมดุลเท่ากับ 91% และ 99% ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังพบว่า เกิดการเปลี่ยนรูปของสาร E2 เป็น E1 ในระบบซึ่งตรวจวัดได้เท่ากับ 1.57 µg/L สำหรับอัตราการกำจัดสาร E1 และ E2 โดยสาหร่ายมีค่าเท่ากับ 4.5 µg/L.d และ 4.9 µg/L.d ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังพบว่าสาร E2 สามารถเปลี่ยนรูปเป็นสาร E1 ได้ดี ในขณะที่พบการเปลี่ยนรูปของสาร E1 ระหว่างการทดลองน้อยมาก (<1%) กระบวนการย่อยสลายด้วยแสง (photolysis) ไม่ส่งผลต่อการลดลงของสาร E1 และ E2 ในงานศึกษานี้ สำหรับการทดลองการดูดซับสาร E1 และ E2 พบว่า อัตราส่วนการดูดซับสารต่อมวลสาหร่ายที่สถานะสมดุลเท่ากับ 0.03 และ 0.035 µg/mgDW ตามลำดับ โดยรูปแบบและจลนศาสตร์ของการดูดซับสารเอสโตรเจนสามารถอธิบายได้โดยสมการ Freundlich isotherm และ Pseudo second order นอกจากนี้ สาหร่ายยังอาจส่งผลต่อกระบวนการเปลี่ยนรูปของสาร E2 อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

- [1] Hamid, H. and Eskicioglu, C. 2012. Fate of estrogenic in wastewater and sludge treatment: A review of properties and analytical detection techniques in sludge matrix. Water Res. 46, 5813-5833.
- [2] Srithiang, K. 2012. Determination of Estrogen from Drainage Water of Animal Farms in Chiang Mai Province and Effect on Sex Ratio of Aedes aegypti Mosquito. Master of Science (Environmental Science) Chiang Mai University. (in Thai)
- [3] Purdom, C.E., Hardiman, P.A., Bye, V.V.J., Eno, N.C., Tyler, C.R. and Sumpter, J.P. 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment Works. Chemistry and Ecology. 8, 275-285.
- [4] Ahmed, S.R. 2000. The immune system as a potential target for environmental estrogens (endocrine disruptors): a new emerging field. Toxicology 150, 191-206.

- [5] Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A.A., Ibraheem, I.B.M. 2012. Microalgae and wastewater treatment. Saudi Journal of Biological Sciences, 257-275.
- [6] Sialve, B., Bernet, N., Bernard, O. 2009. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. Biotechnol. Adv. 27, 409-416.
- [7] Reungsomburn, S. 2009. Heavy Metals Removal from Wastewater by Using Living Microalgae. King Mongkut's Agricultural Journal 25, 92-102. (in Thai)
- [8] Lai, K.M., Johnson, K.L., Scrimshaw M.D. and Lester J.N. 2000. Binding of waterborne steroid estrogens to solid phases in river and estuarine system. Environ. Sci. Technol. 34, 3890-3894.
- [9] Shi, W., Wang, L., P. L. Rousseau, D. 2010. Removal of *estrone*, *17 α -ethinylestradiol*, and *17 β -estradiol* in algae and duckweed-based wastewater treatment systems. Environ. Sci. Pollut. R. 17, 824-833.
- [10] Environmental Engineering Association of Thailand. 1996. The design assignments water treatment systems. 1th edition Pollution Control Department, Bangkok. (in Thai)
- [11] Volesky, B., Holan, ZR. 1995. Biosorption of heavy metals. Biotechnol. Progr. 11, 235-250.
- [12] Robati, D. 2013. Pseudo-second-order kinetic equations for modeling adsorption system for removal of lead ions using multi-walled carbon nanotube. J. Nanostruct. Chem. 3:55, 1-6.
- [13] APHA. 1998. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed., American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation. Washington, DC.
- [14] Baront, C., Curini, R., D-Ascenzo, G., Di-Corcia, A., Gennli, A. and Sampen, R. 2000. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. Environ. Sci. Technol. 34, 5059-5066.
- [15] Esperanza, M., Suidan, M.T., Nishimura, F., Wang, Z.M., Sorial, G.A., Zaffiro, A., McCauley, P., Brenner, R. and Sayles, G. 2004. Determination of sex hormones and nonylphenol ethoxylates in the aqueous matrixes of two pilot scale municipal wastewater treatment plants. Environ. Sci. Technol. 38, 3028-3035.
- [16] Komori, K., Tanaka, H., Okayasu, Y., Yasojima, M. and Sato, C. 2004. Analysis and occurrence of estrogen in wastewater in Japan. Water Sci. Technol. 50, 93-100.
- [17] Clara, M., Strenn, B., Saracevic, E. and Kreuzinger, N. 2004. Adsorption of *bisphenol-A*, *17 β -estradiol* and *17 α -ethinylestradiol* to sewage sludge. Chemosphere. 56, 843-851.