



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในน้ำเสียจากผลิตยาของอุตสาหกรรมอาหารและยา
โดยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีแอดวานซ์ออกซิเดชันเพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

Removal of antibiotic contaminants in pharmaceutical wastewater using advanced oxidation processes to
minimize environmental impacts

ผศ.ดร.อาลักษณ์ ทิพย์รัตน์

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
(เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 256101A1080009

สัญญาเลขที่ 23/2561

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในน้ำเสียจากผลิตยาของอุตสาหกรรมอาหารและยาโดยการ
ประยุกต์ใช้เทคโนโลยีแอกวานซ็อกซิเดชันเพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

Removal of antibiotic contaminants in pharmaceutical wastewater using advanced oxidation processes to
minimize environmental impacts

ผศ.ดร.อาลักษณ์ ทิพย์รัตน์

สำนักงานจัดการศึกษา คณะวิศวกรรมศาสตร์

ธันวาคม 2560

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปี
งบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา
23/2561

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.อาดิษฐ์ ทิพย์รัตน์ ได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัย จากมหาวิทยาลัยบูรพา ประเภทงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) มหาวิทยาลัยบูรพา โครงการวิจัยเรื่อง (ภาษาไทย) การทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในน้ำเสียจากผลิตยาของอุตสาหกรรมอาหารและยาโดยการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีแอดวานซ์ออกซิเดชันเพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (ภาษาอังกฤษ) Removal of antibiotic contaminants in pharmaceutical wastewater using advanced oxidation processes to minimize environmental impacts รหัสโครงการ 256101A1080009 / สัญญาเลขที่ 23/2561 ได้รับงบประมาณรวมทั้งสิ้น 1,100,000 บาท (หนึ่งล้านหนึ่งแสนบาทถ้วน) ระยะเวลาการดำเนินงาน 1 ปี 6 เดือน (ระหว่างวันที่ 1 ตุลาคม 2560 – วันที่ 31 มีนาคม 2562) โดยทั้งนี้อุตสาหกรรมยาเป็นอุตสาหกรรมที่ผลิตปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับชีวิตและสุขภาพของมนุษย์ ถือเป็นอุตสาหกรรมที่ส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจและสังคมโดยรวมทั้งด้านคุณภาพ ประสิทธิภาพ และความปลอดภัยในการบริโภค ปี 2551 การผลิตยาและผลิตภัณฑ์เภสัชกรรมในประเทศมีปริมาณ 25,780 ตัน และในปี 2554 มีปริมาณเป็น 28,692 ตัน นับว่าการผลิตมีการขยายตัวอย่างต่อเนื่อง และคิดเป็นอัตราการเติบโตเฉลี่ยร้อยละ 3 ต่อปี จากกำลังการผลิตยาในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น ผลที่ตามมาคือการใช้ยาในกระบวนการต่างๆ เพิ่มมากขึ้นด้วยเช่นกัน อาทิเช่น การใช้ยาในการล้างทำความสะอาดอุปกรณ์ เครื่องมือเครื่องจักรต่างๆ โดยน้ำที่ใช้ในปริมาณมากนี้ส่งผลให้เกิดน้ำทิ้งที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะหรือสารออกฤทธิ์ทางเภสัชกรรมเพิ่มขึ้นตามไปด้วย การพบการปนเปื้อนของสารออกฤทธิ์ทางเภสัชกรรมส่วนหนึ่งมาจากภาคอุตสาหกรรมอาหารในกลุ่มอุตสาหกรรมปศุสัตว์ โดยผู้ผลิตและ/หรือเกษตรกรมีการนำเทคโนโลยีต่างๆ เข้ามาใช้ในกระบวนการผลิตและการเลี้ยงสัตว์อย่างมากมาย วิธีหนึ่งที่ยอมรับใช้เพื่อป้องกัน รักษาโรคและเร่งการเจริญเติบโตในสัตว์เลี้ยง ในระบบการผลิตแบบฟาร์มหรือปศุสัตว์ คือ การใช้ยาปฏิชีวนะ โดยยาปฏิชีวนะที่ใช้ในสัตว์ส่วนใหญ่แล้วเป็นยาในกลุ่มเดียวกับที่ใช้ในคน เช่น ยากลุ่มเตตราไซคลิน (Tetracyclines) ยากลุ่มแมโครไลด์ (Macrolides) ยากลุ่มเพนิซิลลิน (Penicillins) ยากลุ่มซัลโฟนาไมด์ (Sulfonamides) และยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลน (Fluoroquinolones) ซึ่งยาปฏิชีวนะหรือสารออกฤทธิ์ทางเภสัชกรรมเหล่านี้เมื่อมีการแพร่กระจายไปสู่สิ่งแวดล้อม จะส่งผลกระทบในหลากหลายรูปแบบและเป็นที่น่าห่วงใยอีกอย่างหนึ่งคือ ยาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อนในน้ำจะเร่งให้เชื้อแบคทีเรียที่สัมผัสกับยา มีการดื้อยาเร็วยิ่งขึ้น นั่นหมายความว่าเมื่อเชื้อคือยา การใช้ยาดังนั้นๆ ในการฆ่าเชื้อจะไม่ได้ผล ในระยะยาวมนุษย์เราจะเจอโรคที่เชื้อคือยาได้มากขึ้น นักวิทยาศาสตร์ก็ต้องคิดค้นยาตัวใหม่ๆ มารักษาให้ทันกับเชื้อ

โรคที่เก็งกล้าขึ้นทุกวัน จากข้อมูลในวารสารวิชาการ ในแต่ละปีคนไทยติดเชื้อแบคทีเรียคือยาประมาณ 88,000 คนและเสียชีวิตจากเชื้อเหล่านี้ประมาณ 38,000 คน คิดเป็นความเสียหายทั้งทางตรงและทางอ้อมรวมกันถึง 46,000 ล้านบาท นอกจากนี้การมียาปฏิชีวนะหรือสารออกฤทธิ์ทางเภสัชกรรมตกค้างปนเปื้อนในแหล่งน้ำยังส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมอาหาร โดยจากรายงานในอดีตปี พ.ศ. 2545 มีการตรวจพบสารตกค้างของยาปฏิชีวนะกลุ่มไนโตรฟูแรน (Nitrofurans) ในสินค้ากุ้งและไก่แช่แข็งที่ส่งไปสหภาพยุโรปส่งผลให้มีการระงับการนำเข้าและส่งคืนสินค้าที่มาจากประเทศไทยรวมถึงมีการใช้มาตรการกีดกันทางการค้าตั้งข้อกำหนดที่เข้มงวด เช่น การตรวจสอบสารตกค้างทุกครั้งที่มีการนำเข้า ทำให้ประเทศไทยสูญเสียโอกาสการส่งออกผลิตภัณฑ์สัตว์เป็นจำนวนมาก สาเหตุหลักส่วนหนึ่งของการปนเปื้อนยาปฏิชีวนะและสารออกฤทธิ์ทางเภสัชกรรมในน้ำเสียเกิดจากระบบการบำบัดน้ำเสียในอุตสาหกรรมไม่มีประสิทธิภาพในการสลาย กำจัด ทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะและฮอร์โมน โดยระบบไม่ได้ถูกออกแบบไว้สำหรับการกำจัดสารปฏิชีวนะและฮอร์โมนที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียซึ่งสารเหล่านี้มีความคงทนและสลายได้ยาก ทำให้การบำบัดมีประสิทธิภาพต่ำ น้ำทิ้งที่ปล่อยออกมาหลังการบำบัดของโรงงานอุตสาหกรรมยาและเภสัชกรรมจึงมีความเป็นพิษ สารมลพิษที่หลงเหลือและตกค้างสร้างปัญหาต่อระบบนิเวศน์ เกิดการร้องเรียนจากชุมชน โดยรอบและถึงแม้บางโรงงานจะมีวิธีบำบัดที่มีประสิทธิภาพในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ โดยเป็นการออกซิเดชันด้วยกรด-ด่างเข้มข้น เพื่อปรับค่าความเป็นกรดด่างของน้ำเสีย แต่กรรมวิธีดังกล่าวทำให้เกิดเกลือจำนวนมากละลายในน้ำเสียซึ่งก็เป็นมลภาวะอีกรูปแบบหนึ่งที่ต้องมีการบำบัดต่อไป เกิดการใช้สารเคมีและพลังงานในการบำบัดน้ำเสียอย่างสิ้นเปลือง เพราะฉะนั้นระบบการบำบัดน้ำเสียก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะต้องมีประสิทธิภาพสูง ต้นทุนการดำเนินงานต่ำ เพื่อกำจัดทำลาย สลาย หรือลดปริมาณของสารมลพิษ ซึ่งนับเป็นการป้องกันและแก้ปัญหาสิ่งแวดล้อมที่อาจเกิดขึ้น

จากผลกระทบที่เกิดจากการมีสารปฏิชีวนะหรือสารออกฤทธิ์ทางเภสัชกรรมตกค้างในน้ำทิ้งหรือน้ำเสียจากการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารและยา ในงานวิจัยได้นำเสนอแนวทางการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียโดยใช้เทคโนโลยีสะอาด โดยจะเป็นการใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ที่อุณหภูมิ 140 °C เป็นเวลา 1 นาทีเพื่อให้มีการสร้างไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl radicals) จำนวนมาก สามารถทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะลงได้ทั้งหมดและสามารถออกซิไดซ์สารที่มีความเป็นพิษย่อยสลายได้ยากหรือสารอินทรีย์จนเปลี่ยนเป็นรูปคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ซึ่งการใช้เทคโนโลยีแอดวานซ์ออกซิเดชันเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถนำน้ำกลับมาใช้ใหม่ ลดปัญหาเชื้อคือยา ปัญหายาปฏิชีวนะตกค้างในระบบนิเวศ ช่วยแก้ปัญหามลพิษทางน้ำและบำบัดน้ำเสียได้

อย่างมีประสิทธิภาพโดยไม่ทิ้งสารตกค้างที่เป็นอันตรายแก่สิ่งแวดล้อม เทคโนโลยีใหม่จะเป็นอีกตัวอย่างหนึ่งของการเปลี่ยนแปลงที่มีผลกระทบต่อเทคโนโลยีการบำบัดในโรงงานอุตสาหกรรมยา โรงพยาบาล สถานเอนามัย หน่วยงานสาธารณสุข ปศุสัตว์ และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต้นทุนการผลิต ช่วยยกระดับมาตรฐานของอุตสาหกรรมเพื่อความสะอาดและปลอดภัยของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

บทคัดย่อ

การปล่อยยาปฏิชีวนะไปสู่สิ่งแวดล้อมอาจนำไปสู่การเสียดุลอย่างรุนแรงของระบบนิเวศ หนึ่งในเทคโนโลยีแบบใหม่สำหรับการบำบัดน้ำเสียที่เป็นยาปฏิชีวนะ ได้แก่ การประยุกต์ใช้กระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสาธิตการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับการใช้อุณหภูมิสูงที่ระดับต่างๆ ในการยับยั้งฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด ได้แก่ ceftazidime, ceftriazone, และ cefphalexin ในระบบน้ำเสียจำลอง โดยทำการทดสอบกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงที่ความเข้มข้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 1 ถึง 5 โดยปริมาตร และที่ระดับอุณหภูมิ 60 ถึง 150 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่างๆ ทั้งนี้เลือกใช้ความสามารถในการเจริญของเชื้อ อี.โคไล เป็นตัวบ่งชี้ประสิทธิภาพของกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง โดยศึกษาความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะในระบบน้ำเสียจำลองที่ระดับแตกต่างกัน ตั้งแต่ 60 ถึง 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาพบว่าการเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงในการยับยั้งฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะสามารถทำได้โดยการเพิ่มความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อุณหภูมิ และเวลาในการบำบัด สำหรับสภาวะการบำบัดที่เหมาะสมพิจารณาจากการเจริญของ อี.โคไล สูงสุดในตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการบำบัด โดยเมื่อบำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะเท่ากับ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที พบว่า อี.โคไล สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนจากความเข้มข้นเริ่มต้น 4.61 ± 0.01 เป็น 5.25 ± 0.04 log CFU ต่อมิลลิลิตร ในทางกลับกันพบว่าการบำบัดที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ที่ความเข้มข้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เดียวกันสามารถทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะลงได้ทั้งหมด แม้จะมีความเข้มข้นเริ่มต้นสูงถึง 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรก็ตาม นอกจากนี้ยังได้ศึกษาวิธีการขจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เหลืออยู่ในตัวอย่างหลังการบำบัดด้วยกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง โดยทดลองใช้ยีสต์ผงในการออกซิไดซ์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระบบน้ำเสียจำลอง ทั้งนี้พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างปริมาณยีสต์ต่อปริมาณน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงแล้ว คือ อัตราส่วน 1 ต่อ 50 และใช้เวลาในการบ่มเป็นเวลา 30 นาที

คำสำคัญ: กระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง/ ฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ/ อี.โคไล/ อุณหภูมิสูง/ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

Abstract

The release of trace pharmaceutical antibiotics into the environment can cause a major upset of an ecological balance. One of the promising technologies for treating antibiotic wastewater is the application of advanced oxidation processes (AOPs). This research was to demonstrate the use of hydrogen peroxide (H₂O₂) coupled with different degrees of high-temperature treatment to inactivate the activity of three antibiotics (ceftazidime, ceftriazone, and cephalexin) in a formulated synthetic antibiotic wastewater. H₂O₂ concentration (1-5% v/v) and temperature levels (60-150°C) were investigated during AOPs. The survival of *E. coli* was used as an indicator to study the efficacy of the proposed AOP treatments. The concentration of synthetic antibiotic wastewater was varied from 60 to 600 µg/mL. The effectiveness of AOPs on antibiotic inactivation was enhanced by increasing the H₂O₂ concentration, temperature, and contact time. The optimal H₂O₂ condition was determined based on the highest growth of *E. coli* or no remaining antibiotic activity in the treated samples. At 60 µg/mL of the antibiotics concentration, *E. coli* was able to actively multiply from the initial cell concentration of 4.61±0.01 to 5.25±0.04 log CFU/mL when the antibiotic contaminated wastewater was treated with 5% H₂O₂ at 100°C for 120 min. However, using pressurized condition at 140°C for 1 min, the same H₂O₂ concentration was able to completely cancel all antibiotic activity at an initial concentration of up to 600 µg/mL. To remove H₂O₂ residue in the treated samples after AOP treatment, dry baker's yeast was used to neutralize H₂O₂. The optimal ratio of the yeast to the volume of AOP treated sample was 1:50 and the incubation time was 30 min.

Keywords: Advanced oxidation processes/ Antibiotic activity/ *E. coli*/ Hydrogen peroxide/ High temperature

สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	I
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	II
บทคัดย่อ	V
สารบัญเรื่อง	VII
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญรูป	X
บทที่	
1 บทนำ	1
2 เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา	7
3 วัตถุประสงค์และการดำเนินงานวิจัย	24
4 ผลการทดลองและวิจารณ์	30
5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	56
ผลผลิต (Output)	58
เอกสารอ้างอิง	59
ภาคผนวก (Appendix)	61
ประวัติคณะผู้วิจัย	72

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	กลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ	11
2.2	ศักย์ออกซิเดชันของสารออกซิไดซ์	17
4.1	รูปโคโลนีของ <i>E. coli</i> ในอาหารสำหรับเลี้ยงยีสต์และรา (PDA) ที่ความเข้มข้นของ เซลล์ 10-เท่า แสดงให้เห็นการยังคงมีอยู่ของ H ₂ O ₂ ที่จะไปยับยั้งยีสต์และการผสมของ H ₂ O ₂ ที่อัตราส่วน 1:50 ของผงยีสต์และสารละลาย H ₂ O ₂	31
4.2	รูปของโคโลนี <i>E. coli</i> ในอาหาร Trypticase soy agar (TSA) ที่ความเข้มข้น 10-fold แสดงผลของการยับยั้งโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ยังคงมีอยู่ในยีสต์และสารผสม ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อัตราส่วน 1:50 ของผงยีสต์และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ ออกไซด์	32
4.3	รูปของโคโลนี <i>E. coli</i> ในอาหาร chromogenics selective agar (CCA) ที่ความเข้มข้น 10-fold แสดงผลของการยับยั้งโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ยังคงมีอยู่ในยีสต์และ สารผสมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อัตราส่วน 1:50 ของผงยีสต์และสารละลาย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	33
4.4	Photographs ของสารปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย <i>E. coli</i> ที่ความเข้มข้น 10- fold แสดงให้เห็นความสามารถของความเข้มข้นของเชื้อโคโลนี <i>E. coli</i> เริ่มต้นที่มีต่อ การเจริญของ <i>E. coli</i> ที่ความเข้มข้นของสารยาปฏิชีวนะที่หลากหลาย	38
4.5	Photograph ของความสามารถในการต้านทานต่อยาปฏิชีวนะที่มีต่อ <i>E. coli</i> แบคทีเรีย ในอาหารเชิงจำเพาะ (chromogenic selective agar) CCA ด้วยความเข้มข้นที่ 10-fold dilution แสดงที่หลากหลายของความเข้มข้น	39
4.6	ผลของอุณหภูมิและเวลาในการบ่มของ 1% H ₂ O ₂ ที่มีต่อการ degradation ของยา ปฏิชีวนะในน้ำเสีย	41
4.7	ผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการบ่มของ 3% H ₂ O ₂ ของการบำบัดในการทำลาย สภาพของยาปฏิชีวนะในน้ำเสีย	43
4.8	ผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนของ 5% H ₂ O ₂ ที่มีต่อการทำลายฤทธิ์ของ ยาปฏิชีวนะในน้ำเสีย	45
4.9	ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการบำบัดที่ 100 °C และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น เป็น 1, 3, และ 5% ของการทดลองที่มีต่อการทำลายฤทธิ์ของสารปฏิชีวนะในน้ำเสีย	47
4.10	ผลของอุณหภูมิที่ 100 ถึง 110°C และเวลาในการบ่มของ 5% H ₂ O ₂ ในการบำบัดน้ำ เสียที่มีการปนเปื้อนของสารปฏิชีวนะ 10X	50

ตารางที่		หน้า
4.11	ผลของอุณหภูมิที่ 120 ถึง 130°C และเวลาในการบ่มของการทดลองด้วย 5% H ₂ O ₂ ในน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนสารปฏิชีวนะ 10X ในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในแบบจำลองน้ำเสีย	51
4.12	ผลของอุณหภูมิที่ 140 ถึง 150°C และเวลาในการให้ความร้อนของ 5% H ₂ O ₂ ในการบำบัดทำลายยาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย 10X	53
A.1	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU) เมื่อเติม H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 1% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ	62
A.2	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%) เมื่อเติม H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 1% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ	63
A.3	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU) เมื่อเติม H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 3% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ	64
A.4	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%) เมื่อเติม H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 3% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ	65
A.5	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU) เมื่อเติม H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 5% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ	66
A.6	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%) เมื่อเติม H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 5% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ	67
A.7	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU) เมื่อเติม H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 1%, 3%, และ 5% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C	68
A.8	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%) เมื่อเติม H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 1%, 3%, และ 5% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C	69
A.9	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU) เมื่อเติม H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 5% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 ถึง 150°C	70
A.10	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%) เมื่อเติม H ₂ O ₂ ความเข้มข้น 5% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 ถึง 150°C	71

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1.1	3
2.1	10
2.2	10
2.3	11
2.4	13
2.5	14
2.6	15
3.1	28
4.1	34
4.2	34
4.3	35
4.4	36
4.5	37
4.6	40
4.7	42
4.8	44
4.9	46

รูปที่	หน้า
	ปฏิชีวนะ
4.10	48
ปริมาณของ <i>E. coli</i> ที่นับได้ที่อุณหภูมิ 100 °C และเวลาในการบ่มของการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 1, 3, และ 5% (v/v)	
4.11	49
โครมาโตแกรมของ HPLC ที่แสดงการกระจายของพีคที่ดีของ ceftazidime, ceftriaxone, และ cephalixin ของแบบจำลองน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะความเข้มข้น 600 µg/mL	
4.12	50
ปริมาณ <i>E. coli</i> ที่นับได้ที่อุณหภูมิแตกต่างกันที่ 100 ถึง 110°C และเวลาในการบ่มของการทดลอง 5% H ₂ O ₂ (v/v) (ปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 600 µg/mL)	
4.13	52
ปริมาณโคโลนี <i>E. coli</i> ที่นับได้ที่อุณหภูมิแตกต่างกันที่ 120 ถึง 130°C และเวลาในการบ่มของการทดลอง 5% H ₂ O ₂ (v/v) (ปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 600 µg/mL)	
4.14	53
ปริมาณโคโลนีที่นับได้ที่อุณหภูมิในการให้ความร้อนที่ 140°C ถึง 150°C และเวลาในการบ่มของ 1, 3, และ 5% H ₂ O ₂ (v/v) (ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 600 µg/mL)	

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ประเทศไทยในฐานะที่ประกาศตัวเป็นครัวของโลกเพื่อรองรับการค้าเข้าสู่ประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน หรือเออีซี (AEC) ในปี 2558 นั้น ถือเป็นทั้งโอกาสและความท้าทายในการยกระดับมาตรฐานอาหารและผลิตภัณฑ์ยาของประเทศให้มีคุณภาพและมีความปลอดภัยเพื่อเพิ่มความสามารถในการส่งออกไปแข่งขันกับประเทศต่างๆ ในภูมิภาค โดยภาคอุตสาหกรรมอาหารนั้นการทำอุตสาหกรรมปศุสัตว์มีมูลค่าการส่งออกเนื้อสัตว์ เช่น ไก่ เป็ด สุกร เพิ่มขึ้นจาก 25,983.49 ล้านบาท เป็น 56,021.54 ล้านบาท ในช่วงปี 2542 - 2551 (ข้อมูลสถิติปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์, 2551) และมูลค่าจากอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด เช่น ปลานิล ปลาดุก กุ้งก้ามกราม ขยายตัวจาก 8,433.20 ล้านบาท เป็น 18,948.65 ล้านบาท ในช่วงปี พ.ศ. 2543 - 2553 (ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง, 2553) อุตสาหกรรมอาหารถือเป็นอุตสาหกรรมที่มีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ สุขอนามัยของผู้บริโภคและผู้ที่เกี่ยวข้องในห่วงโซ่การผลิตโดยตรง ในห่วงโซ่การผลิต ผู้ผลิตและ/หรือเกษตรกรมีการนำเทคโนโลยีต่างๆ เข้ามาใช้ในกระบวนการผลิตและการเลี้ยงสัตว์อย่างมากมาย วิธีหนึ่งที่น่าสนใจเพื่อป้องกัน รักษาโรค และเร่งการเจริญเติบโตในสัตว์เลี้ยงในระบบการผลิตแบบฟาร์มหรือปศุสัตว์ คือ การใช้ยาปฏิชีวนะ ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในสัตว์นั้นส่วนใหญ่แล้วเป็นยาในกลุ่มเดียวกับที่ใช้ในคน เช่น ยากลุ่มเตตราไซคลิน (Tetracyclines) ยากลุ่มแมโครไลด์ (Macrolides) ยากลุ่มเพนนิซิลิน (Penicillins) ยากลุ่มซัลโฟนาไมด์ (Sulfonamides) และยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลน (Fluoroquinolones) อีกทั้งยาบางชนิดเป็นชนิดเดียวกับที่ใช้ในคน ได้แก่ Erythromycin Lincomycin และ Tetracycline เป็นต้น การใช้ยาปฏิชีวนะช่วยเพิ่มผลผลิตให้ผู้ผลิตได้มาก เพื่อแก้ไขข้อจำกัดในการทำอุตสาหกรรมปศุสัตว์ ที่ต้องการให้มีการเลี้ยงสัตว์จำนวนมากภายในพื้นที่จำกัด ด้วยต้นทุนที่ต่ำ และระยะเวลาที่จำกัด

สำหรับประเทศไทยนั้นมีรายงานของสถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข เกี่ยวกับสถานการณ์เชื้อดื้อยาปฏิชีวนะในคนของประเทศไทยในรอบ 10 ปี (พ.ศ. 2543-2554) พบว่า แต่ละปีมีผู้ป่วยติดเชื้อดื้อยามากกว่า 100,000 คน เสียชีวิต 30,000 คน และสูญเสียทางเศรษฐกิจกว่า 10,000 ล้านบาท โดยสาเหตุหลักของปัญหาเชื้อดื้อยาในคน คือ การใช้ยาปฏิชีวนะมากเกินไปและไม่เหมาะสม ขาดมาตรการควบคุม ถึงแม้การดูแลสุขภาพ การฝังแน่น การปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะในแหล่งน้ำ ระบบนิเวศและสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการปล่อยน้ำทิ้งหลังผ่านการบำบัดจากฟาร์มปศุสัตว์จะยังไม่มีการเชื่อมโยงอย่าง

เด่นชัดกับสาเหตุหลักของเชื้อค็อกซ์ในคน แต่ก็ยังเป็นสาเหตุหนึ่งที่มีอาจมองข้ามว่าอาจจะส่งผลต่อปัญหาเชื้อค็อกซ์ของแบคทีเรียต่างๆ ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมรอบๆ ตัวเรา (ใจพร, 2555) ปัญหาของระบบการบำบัดน้ำเสียในอุตสาหกรรมที่พบในปัจจุบันคือ การใช้ทรัพยากร สารเคมี และพลังงานในการบำบัดน้ำเสียอย่างสิ้นเปลือง ในอุตสาหกรรมเกษตรและปศุสัตว์ที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะและฮอร์โมน พบปัญหาการขาดประสิทธิภาพในการสลาย กำจัด ทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะและฮอร์โมน และนอกจากนี้ระบบการบำบัดน้ำเสียที่นิยมใช้ในปัจจุบันไม่ได้ถูกออกแบบไว้สำหรับการกำจัดสารปฏิชีวนะและฮอร์โมน ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียซึ่งสารเหล่านี้มีความคงทนและสลายได้ยากทำให้การบำบัดมีประสิทธิภาพต่ำน้ำทิ้งที่ปล่อยออกมาหลังการบำบัดของโรงงานอุตสาหกรรมยาและเภสัชกรรมจึงมีความเป็นพิษ สารมลพิษที่หลงเหลือและตกค้างสร้างปัญหาต่อระบบนิเวศเพราะฉะนั้นระบบการบำบัดน้ำเสียก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะต้องมีประสิทธิภาพสูง เพื่อกำจัดทำลาย สลาย หรือลดปริมาณของสารมลพิษอื่นๆ ซึ่งนับเป็นการป้องกันหรือแก้ปัญหาสิ่งแวดล้อมที่อาจเกิดขึ้นได้ (Behera et. al., 2011)

โดยผลกระทบจากการที่มียาปฏิชีวนะและฮอร์โมนตกค้างในแหล่งน้ำ ส่งผลทำให้ระบบสืบพันธุ์ของสัตว์น้ำเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยการปนเปื้อนที่ระดับต่ำเพียง 1 นาโนกรัมต่อลิตร ก็สามารถก่อให้เกิดผลกระทบต่อสัตว์น้ำได้เช่นกัน (Purdom et. al., 1994) สำหรับผลกระทบต่อมนุษย์ โดยส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ เช่น เพศชายมีจำนวนอสุจิลดลง ความสามารถในการเจริญพันธุ์ลดลง หรือการเกิดความผิดปกติในการพัฒนาระบบสืบพันธุ์ของเพศชาย นอกจากนี้จากรายงานของ Elmollaa และ Chaudhurib (2011) พบยาปฏิชีวนะที่มีความเข้มข้นเพียงเล็กน้อยและปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสีย เมื่อปล่อยสู่แหล่งน้ำสาธารณะ สิ่งแวดล้อมและแพร่กระจายไปตามระบบนิเวศ อาจนำไปสู่การค็อกซ์ของเชื้อจุลินทรีย์ เกิดปัญหาเชื้อค็อกซ์ในสัตว์ซึ่งยังสามารถแพร่กระจายไปในสัตว์ตัวอื่นหรือแพร่สู่คนทางห่วงโซ่อาหาร โดยการบริโภคเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์ การสัมผัสกับสัตว์โดยเฉพาะผู้เลี้ยงสัตว์ หรือการรับเชื้อจากสิ่งแวดล้อม เช่น ในแหล่งน้ำและดิน เป็นต้น Nina Bai (2008) รายงานว่าความเข้มข้นของยาแก้มิมเซร่าที่พบในแหล่งน้ำ (หน่วยพันล้านกรัมต่อลิตร) แม้จะเป็นปริมาณที่ไม่มากพอที่จะส่งผลกระทบต่อปลาที่มีสายพันธุ์เป็นปลาตัวโต แต่ก็เพียงพอที่จะทำให้ปลาขนาดเล็กและลูกปลารูสึกเชื้องิม หรือชิมเซร่า อีกทั้งงานวิจัยของ Megan Mcgee (2008) ศึกษาผลกระทบของยาแก้มิมเซร่าต่อปลาตัวโตเต็มวัยที่ยังไม่เคยวางไข่และปลาหลังวางไข่ โดยปริมาณความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองเป็นระดับเดียวกับที่พบในระบบบำบัดน้ำเสีย ผลการทดลองพบว่าปลามีอาการเหนื่อยชาและใช้เวลานานขึ้นเป็น 2 เท่าในการตอบสนองต่อสิ่งเร้า อาการเช่นนี้ทำให้ปลาถูกไล่ได้ง่ายขึ้นซึ่งนำมาสู่การสูญพันธุ์ในอนาคต และยังพบว่ายาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อนในน้ำเสียทำให้ปลามีพฤติกรรมเปลี่ยนไปโดยมักลอยที่บริเวณใต้พื้นน้ำ ไม่สนใจปลาตัวอื่น

ๆ ที่ว่ายน้ำอยู่ในบริเวณใกล้เคียงอีกทั้งยังหยุดกินอาหาร นอกจากนี้แล้ว Jonathan Benson (2012) ยังกล่าวว่ายาดังกล่าวยังส่งผลต่อพฤติกรรมของกุ้งที่เปลี่ยนไป ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้กุ้งตาย

จากรายงานในอดีตปี พ.ศ. 2545 พบว่า มีการตรวจพบสารตกค้างของยาปฏิชีวนะในกลุ่มไนโตรฟูแรน (Nitrofurans) ในสินค้ากุ้งและไก่แช่แข็งจากประเทศไทยที่ส่งไปที่สหภาพยุโรป ส่งผลให้มีการระงับการนำเข้าและส่งออกสินค้าที่มาจากประเทศไทย รวมถึงมีการใช้มาตรการกีดกันทางการค้า ตั้งข้อกำหนดที่เข้มงวด เช่น การตรวจสอบสารตกค้างทุกครั้งที่นำเข้า ทำให้ประเทศไทยสูญเสียโอกาสการส่งออกผลิตภัณฑ์สัตว์ (ใจพร, 2555) จึงมีการนำเทคโนโลยีแอดวานซ์ออกซิเดชันมาใช้ในการแก้ปัญหาดังกล่าว อาทิ การใช้กระบวนการเฟนตัน (ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และเฟอร์รัส, H_2O_2/Fe^{2+}) ในการสลายความเป็นพิษของยาปฏิชีวนะ amoxicillin, ampicillin, และ cloxacillin ที่ความเข้มข้น 10^4 , 10^5 , และ 10^3 mg/L ตามลำดับ จากการดำเนินการดังกล่าวพบว่าใช้เวลา 2 นาทีในการกำจัดยาปฏิชีวนะได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่การกำจัดทางด้านชีวภาพใช้เวลา 60 นาที สามารถลดค่าซีโอดีและดีไอซีได้เพียง 81.4% และ 51.3% ตามลำดับ (Elmolla และ Chaudhuri, 2009) การแก้ปัญหายาปฏิชีวนะที่ตกค้างในแหล่งน้ำธรรมชาติถือเป็นความท้าทายที่ต้องอาศัยความร่วมมืออย่างมีประสิทธิภาพจากหลายหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชน ดังนั้นความรู้ความเข้าใจในการใช้ยาปฏิชีวนะในสัตว์ ปัญหาที่เกิดขึ้น สาเหตุของปัญหา และผลกระทบต่อสัตว์ คน และสิ่งแวดล้อม ตลอดจนแนวทางการดำเนินการในการแก้ปัญหา จึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยให้การแก้ปัญหาเป็นไปอย่างสัมฤทธิ์ผล



รูปที่ 1.1 การใช้ยาปฏิชีวนะในสุกรและการปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำ

ที่มา : <http://newhope360.com/blog/will-feds-ever-act-issue-antibiotic-resistance>

https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Antibiotic_Use_for_Farm_Animals

จากผลกระทบที่เกิดจากการมีสารปฏิชีวนะตกค้างในน้ำทิ้งหรือน้ำเสียจากการผลิตยาในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารและยา งานวิจัยนี้จึงได้นำเสนอแนวทางการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อน

อยู่ในน้ำเสียโดยใช้เทคโนโลยีสะอาด เพื่อให้การแก้ไขปัญหาน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะ เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและรวดเร็ว โดยจะนำเสนอแนวทางการใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับอนุมูลไฮดรอกซิลที่ได้สภาวะที่มีความดันเพื่อให้มีการสร้างไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl radicals) จำนวนมาก ซึ่งไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl radicals) นั้นมีค่าศักย์ไฟฟ้าออกซิเดชันสูงถึง 2.8 โวลต์ มากกว่า $O_3 > H_2O_2 > ClO_2 > Cl_2$ ที่มีค่าศักย์ไฟฟ้าออกซิเดชัน 2.07, 1.78, 1.57, และ 1.36 โวลต์ ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการรับอิเล็กตรอนถ้าตัวออกซิไดซ์ที่แรงจะรับอิเล็กตรอนได้ง่ายมาก ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะสามารถออกซิไดซ์สารที่มีความเป็นพิษย่อยสลายได้ยากหรือสารอินทรีย์จนเปลี่ยนเป็นรูปคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดไฮดรอกซิลเรดิคัลที่จำเป็นต้องศึกษา เช่น ความเข้มข้นของสารออกซิไดซ์ อนุมูล ความเป็นกรดต่าง และระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เมื่ออนุมูลของน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะเพิ่มสูงขึ้นการเกิดปฏิกิริยาจะเร็วขึ้น ดังนั้นเวลาในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียจะเร็วขึ้น ซึ่งการใช้เทคโนโลยีแอดวานซ์ออกซิเดชันดังกล่าวมาแล้วนั้น เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถนำน้ำกลับมาใช้ใหม่ ลดปัญหาเชื้อดื้อยาและปัญหายาปฏิชีวนะตกค้างในระบบนิเวศน์ ซึ่งจะช่วยอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมและลดต้นทุนการผลิตในภาคอุตสาหกรรม คณะผู้วิจัยมีความร่วมมือทางวิชาการกับ โรงงานอุตสาหกรรมและหน่วยงานที่จะสามารถนำเทคโนโลยีแอดวานซ์ออกซิเดชันเพื่อการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในน้ำเสียจากผลิดยาของ โรงงานไปทดลองประยุกต์ใช้ได้จริง โดยโรงงานที่เกี่ยวข้อง อาทิเช่น บริษัท มิลลิเมด จำกัด, บริษัท เกสซ์ กรรมศรีประสิทธิ์ จำกัด, หน่วยโรงงานต้นแบบผลิตยชีววัตถุแห่งชาติ (National Biopharmaceutical Facility, NBF) เป็นต้น เทคโนโลยีใหม่นี้จะเป็นอีกตัวอย่างหนึ่งของการเปลี่ยนแปลงที่มีผลกระทบต่อเทคโนโลยี การบำบัดและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต้นทุนการผลิต เสริมสร้างศักยภาพให้กับอุตสาหกรรมในประเทศไทย

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาแนวทางการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีแอดวานซ์ออกซิเดชันในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อนในตัวอย่างน้ำเสียจากอุตสาหกรรม
- 1.2.2 เพื่อออกแบบ พัฒนาและสร้างเครื่องต้นแบบในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะด้วยระบบการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับอนุมูล
- 1.2.3 เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพความสามารถในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ โดยปัจจัยที่ศึกษา เช่น ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อนุมูล เวลา

- 1.2.4 เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เมื่อผ่านกระบวนการแอดวานซ์ออกซิเดชัน
- 1.2.5 เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะหลังผ่านกระบวนการแอดวานซ์ออกซิเดชันต่อความสามารถในการต้านเชื้อ *E. coli* และสามารถลดการตกค้างของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างหลังจากผ่านการบำบัด
- 1.2.6 เพื่อให้เข้าใจกลไกที่เกิดขึ้นอย่างแท้จริงในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในน้ำเสียด้วยกระบวนการไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และความร้อน
- 1.2.7 เพื่อพัฒนาวิธีการและสร้างเครื่องทำลายสารปฏิชีวนะและฮอร์โมนในระดับสเกลที่ใหญ่ขึ้นเพื่อนำไปประยุกต์ใช้การบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นก่อนถูกส่งไปบำบัดที่บ่อบำบัดรวม พร้อมทั้งทดสอบประสิทธิภาพการทำงาน เพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้จริง
- 1.2.8 ผลงานวิจัยที่ได้สามารถใช้เป็นแหล่งข้อมูลอ้างอิงในการนำเทคโนโลยีแอดวานซ์ออกซิเดชันไปประยุกต์ใช้เพื่อการบำบัดน้ำเสีย การทำลายฮอร์โมนและสารปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำหรืออุตสาหกรรมอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 ศึกษาข้อมูลน้ำเสียตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนด้วยยาปฏิชีวนะของโรงงานเพื่อกำหนดแนวทางในการบำบัดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และความร้อน
- 1.3.2 สร้างระบบต้นแบบการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในน้ำเสียจากการผลิตยาของอุตสาหกรรมอาหารและยา เพื่อให้สามารถบำบัดน้ำเสียตัวอย่างด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และความร้อน
- 1.3.3 ศึกษาแนวทางการใช้เทคโนโลยีแอดวานซ์ออกซิเดชัน โดยกำหนดความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อุณหภูมิและเวลา ที่ระดับต่าง ๆ ในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อนในน้ำ เช่น ceftazidime, ceftriaxone, และ cephalexin
- 1.3.4 หาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียตัวอย่าง
 - 1.3.4.1 ทำการวิเคราะห์ความเป็นฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะหลังผ่านกระบวนการแอดวานซ์ออกซิเดชันด้วยวิธีโครมาโทกราฟีเหลวความดันสูง (High Pressure Liquid Chromatography)
 - 1.3.4.2 ทำการวิเคราะห์ความเป็นฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะหลังผ่านกระบวนการแอดวานซ์ออกซิเดชัน โดยการศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อ *E. coli* ด้วยการตรวจนับปริมาณ

ชื่อ

- 1.3.5 หาภาวะที่เหมาะสมในการลดการตกค้างของเปอร็อกไซด์ในตัวอย่างหลังจากผ่านการบำบัดด้วยเทคโนโลยีแอดวานซ์ออกซิเดชันภายใต้กระบวนการ yeast oxidative
- 1.3.6 จากข้อมูลผลการศึกษาความสามารถในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะนำไปสู่การพัฒนาสร้างเครื่องทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในน้ำเสียจากการผลิตยาของอุตสาหกรรมอาหารและยาในระดับสเกลใหญ่ เพื่อการบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นก่อนถูกส่งไปบำบัดที่บ่อบำบัดรวม
- 1.3.7 รวบรวมข้อมูล สรุปผลการดำเนินงาน พร้อมทั้งหาแนวทางการการนำผลงานวิจัยดังกล่าวไปประยุกต์ใช้จริงในโรงงานอุตสาหกรรมหรือโรงพยาบาล หน่วยงานสาธารณสุขต่างๆ

บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

2.1 ความหมายของยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) เป็นยาที่ใช้รักษาโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย คนส่วนใหญ่มักเรียกว่ายาแก้แค้น และนับตั้งแต่ยาปฏิชีวนะตัวแรกของโลกที่ชื่อเพนิซิลินถือกำเนิดเมื่อเกือบ 90 ปีก่อน คนทั่วโลกก็ได้รับประโยชน์มากมายและใช้จนกลายเป็นความคุ้นเคยนอกจากได้จากธรรมชาติ คือ จากสิ่งมีชีวิตแล้วยังสามารถได้จากวิธีการสังเคราะห์และกึ่งสังเคราะห์ โดยอาศัยโมเลกุลที่เป็นโครงสร้างเดิมจากธรรมชาติ เป็นแบบในการสังเคราะห์ และกึ่งสังเคราะห์โมเลกุลใหม่ ๆ ออกมา

ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) คือ ยาที่ได้มาจากสารที่ผลิตโดยจุลชีพ ได้แก่ เชื้อรา และแบคทีเรีย มีฤทธิ์ฆ่าหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพอื่น สามารถแบ่งกลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ (ยาต้านแบคทีเรีย) เป็น 4 กลไก คือ

- ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ได้แก่ ยาในกลุ่ม β -lactam เช่น penicillins และ cephalosporins เป็นต้น
- ยับยั้งการสร้างโปรตีนของแบคทีเรีย (โปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น โครงสร้างหรือเป็นเอ็นไซม์ที่มีบทบาทในการมีชีวิตของแบคทีเรีย) ได้แก่ ยาในกลุ่ม tetracyclines, chloramphenicols, และ macrolides เป็นต้น
- ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ของแบคทีเรีย ได้แก่ ยาในกลุ่ม quinolones
- ยับยั้งขบวนการเมตะบอลิก ซึ่งเกี่ยวกับการสร้างสารอาหาร และพลังงานของแบคทีเรีย ได้แก่ ยาในกลุ่ม sulfamethoxazole และ trimethoprim

2.2 ประเภทของยาปฏิชีวนะเพื่อให้่ายในการเลือกใช้ยา นิยมแบ่งยาปฏิชีวนะที่ใช้บ่อยออกเป็นกลุ่มตามกลไกของการออกฤทธิ์ดังนี้

2.2.1 ยาที่ยับยั้งหรือขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย

- β -lactams และยาอื่นที่มีโครงสร้างคล้ายกัน ได้แก่ ยากลุ่ม penicillins ทั้งหมด cephalosporins และ carbapenems
- Glycopeptide ได้แก่ vancomycin และ teicoplanin
- Fosfomycin

2.2.2 ยาที่ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

- Aminoglycoside
- Tetracycline เช่น tetracycline, minocycline, doxycycline
- Glycylcyclines ขณะนี้มีเพียงชนิดเดียวคือ tigecycline
- Macrolides ได้แก่ erythromycin, roxithromycin, azithromycin, clarithromycin, และ lincosamide (clindamycin)

2.2.3 ยาที่ยับยั้งการสังเคราะห์สารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ได้แก่ trimethoprim และ sulfadimidine

2.2.4 ยาที่ขัดขวางกระบวนการแบ่งตัวและการถอดรหัสพันธุกรรม คือ ยากลุ่ม fluoroquinolone

2.3 Cephalosporins

กลุ่มยาเซฟาโลสปอริน (Cephalosporin) เป็นยาปฏิชีวนะประเภท เบต้า-แลคแทม (B-Lactam antibiotic) โดยมีแหล่งกำเนิดมาจากเชื้อราที่รู้จักกันในชื่อว่า Cephalosporium โดยยาเซฟาโลสปอริน มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและชนิดแกรมลบเนื่องจาก cephalosporins มีชนิดต่าง ๆ มากมาย เช่นเดียวกับ penicillins จึงมีขอบข่ายการออกฤทธิ์ต่าง ๆ ได้เช่นกัน จากระยะการค้นพบยาซึ่งปรากฏได้ยาที่มีความสัมพันธ์กับขอบข่ายการออกฤทธิ์ จึงได้มีการจัดแบ่งยากลุ่มนี้ออกเป็นรุ่นต่าง ๆ และถูกจำแนกออกเป็น 5 รุ่นย่อย (Generation) ดังนี้

2.3.1 รุ่นที่ 1 (first generation) มีขอบข่ายการออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเป็นส่วนใหญ่ และแกรมลบบางตัว (เช่น enteric bacilli ฯลฯ ยาในกลุ่มนี้บางตัวถูกขับออกจากร่างกายได้เร็ว แต่บางตัวถูกขับออกได้ช้าด้วยมีการจับกับโปรตีนในเลือดสูง หากใช้กับผู้ป่วยโรคไตต้องลดขนาดยาหรือปรับขนาดการใช้ให้น้อยลง) เท่านั้น ในบรรดาเซฟาโลสปอรินรุ่นที่ 1 Cefazolin เป็นยาที่ใช้กันมากที่สุดตัวอย่างยาในรุ่นนี้ เช่น

- | | |
|-----------------|------------------|
| - Cephaceteile | - Cephaloglycine |
| - Cephaloridine | - Cephalexin |
| - Cephalothin | - Cephapirin |
| - Cephazolin | - Cefadroxil |
| - Cephradine | - Cephalosporin |
| - Cefaclor | |

2.3.2 รุ่นที่ 2 (second generation) ใช้ได้ผลดีต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้มากยิ่งขึ้น (ยกเว้นต่อเชื้อ *P. aeruginosa*) และยังใช้ได้ผลดีต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ยาในรุ่นนี้อยู่ในร่างกายได้นานและมีการจับกับโปรตีนในเลือดสูง สามารถให้ยาคนไข้ได้วันละครั้งหรือ 2 ครั้งแล้วแต่รูปแบบของยา ที่มีทั้งชนิดฉีดและชนิดรับประทาน ตัวอย่างยาในรุ่นนี้ เช่น

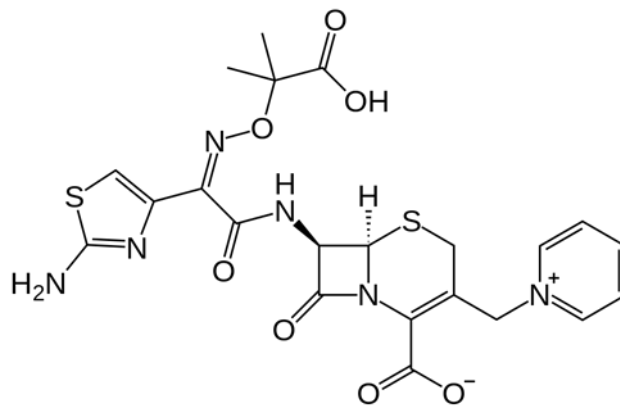
- | | |
|---------------|-----------------|
| - Cefaclor | - Cefonicid |
| - Cefprozil | - Cefuroxime |
| - Cefuzonam | - Cefmetazole |
| - Cefotetan | - Cefoxitin |
| - Cefoxitin | - Cefotiam |
| - Loracarbef | - Cephamycins |
| - Cefmetazole | - Cefminox |
| - Cefotetan | - Cefbuperazone |

2.3.3 รุ่นที่ 3 (third generation) มีใช้ได้ผลดีต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ อีกทั้งครอบคลุมเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ค่อยตอบสนองต่อยากลุ่มเซฟาโลสปอรินรุ่น 1, 2 เช่น มีผลต่อเชื้อ *P. aeruginosa* ด้วย แต่ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกจะลดลง ยารุ่นนี้นำมาใช้รักษาโรคหนองในเทียม รวมถึงโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะที่ซับซ้อนมากขึ้น ตัวอย่างยาในรุ่นนี้เช่น

- | | |
|----------------|---------------|
| - Cefcapene | - Cefdaloxime |
| - Cefdinir | - Cefmenoxime |
| - Cefditoren | - Cefetamet |
| - Cefixime | - Cefodizime |
| - Cefotaxime | - Cefovecin |
| - Cefpimizole | - Ceftamere |
| - Ceftibuten | - Ceftiofur |
| - Cefpodoxime | - Cefteram |
| - Ceftioleone | - Ceftizoxime |
| - Cefoperazone | - Ceftazidim |

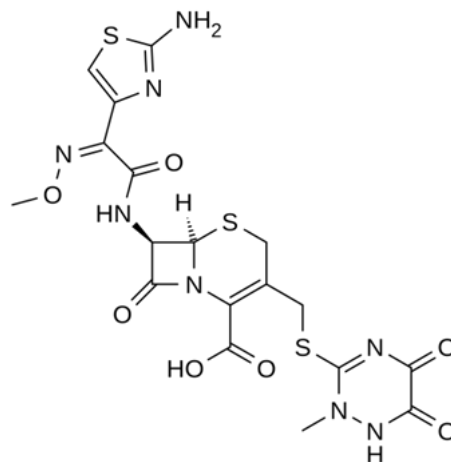
2.3.4 รุ่นที่ 4 (fourth generation) ใช้ได้ดีกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเหมือนรุ่นที่ 1 และครอบคลุมถึงเชื้อแบคทีเรียที่มีความต้านทานกับยาคลุ่มเซฟาโลสปอริน รุ่นที่ 3 มีการนำยาในรุ่นนี้มารักษาการติดเชื้อที่เยื่อหุ้มสมอง (เยื่อหุ้มสมองอักเสบ) ด้วยตอบสนองการรักษาได้ดีตัวอย่างยาในรุ่นนี้เช่น

2.3.5 รุ่นที่ 5 (fifth generation) เป็นรุ่นที่พัฒนาขึ้นมาโดยวัตถุประสงค์คาดหวังให้มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียกว้างทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยมีผลกับแกรมบวก ได้แก่ methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci (MRCoNS), *Streptococcus* spp. และ penicillin-resistant streptococcus pneumoniae (PRSP) และแกรมลบ ได้แก่ *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* spp. และ *Haemophilus influenzae* ตัวอย่างยาในรุ่นนี้เช่น Ceftobiprole และ Ceftaroline



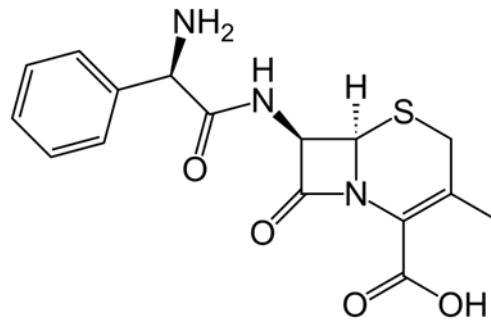
รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของ ceftazidime ($C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$)

ที่มา: <http://en.wikipedia.org/wiki/Ceftazidime>



รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของ ceftriaxone ($C_{36}H_{46}N_{16}Na_4O_{21}S_6$)

ที่มา: <http://en.wikipedia.org/wiki/Ceftriaxone>



รูปที่ 2.3 สูตร โครงสร้างของ cephalexin ($C_{16}H_{17}N_3O_4S$)

ที่มา: <http://en.wikipedia.org/wiki/Cefalexin>

2.4 ยาที่จะจัดเป็นยาปฏิชีวนะต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

- 2.4.1 เป็นผลผลิตจากการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพ
- 2.4.2 อาจได้จากกิ่งสังเคราะห์หรือจากการสังเคราะห์อนุพันธ์จากยาปฏิชีวนะที่ได้จากธรรมชาติ
- 2.4.3 ออกฤทธิ์ไปยับยั้งหรือต้านการเจริญเติบโตของจุลชีพ 1 หรือมากกว่า 1 สปีชีส์
- 2.4.4 ออกฤทธิ์ได้ในปริมาณต่ำ

2.5 คุณสมบัติที่สำคัญและจำเป็นสำหรับยาปฏิชีวนะ ประกอบด้วย

- 2.5.1 ต้องมีพิษเฉพาะต่อจุลชีพหรือเนื้อเยื่อของมะเร็ง
- 2.5.2 ต้องแยกให้บริสุทธิ์ได้ง่าย มีความคงตัวดี
- 2.5.3 ต้องมีการเปลี่ยนแปลงในร่างกายช้า เพื่อให้อยู่ในร่างกายได้นาน จึงมีประสิทธิภาพการรักษา และถูกขับออกจากร่างกายได้หมด

ยาปฏิชีวนะที่มีใช้ในสัตว์ โดยใช้ในขนาดต่ำทำให้สัตว์มีสุขภาพดี ไม่เป็นโรคนอกจากนี้ยังมียาปฏิชีวนะที่ใช้ฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียในพืช ยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในสัตว์แม้เพียงเล็กน้อยก็อาจทำให้ผู้บริโภคพบได้

ตารางที่ 2.1 กลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ (เกษร, 2556)

Site of Action	Antibiotic	Process Interrupted	Type of Activity
Cell wall	Bacitracin	Muropeptide synthesis	Bactericidal
	Cephalosporin	Cell wall cross-linking	Bactericidal
	Cycloserine	Synthesis of cell wall peptides	Bactericidal

	Penicillins	Cell wall cross-linking	Bactericidal
	Vancomycin	Mucopeptide synthesis	Bactericidal
Cell membrane	Amphotericin B	Membrane function	Fungicidal
	Nystatin	Membrane function	Fungicidal
	Polymyxins	Membrane integrity	Bactericidal
Ribosome 50S subunit	Chloramphenicol	Protein synthesis	Bactericidal
	Erythromycin	Protein synthesis	Bactericidal
	Lincomycins	Protein synthesis	Bactericidal
30S subunit	Aminoglycosides	Protein synthesis and fidelity	Bactericidal
	Tetracyclines	Protein synthesis	Bacteriostatic
Nucleic acids	Actinomycin	DNA and mRNA synthesis	Pancidal
	Griseofulvin	Cell division, microtubule assembly	Fungistatic
DNA and/or RNA	Mitomycin C	DNA synthesis	Pancidal
	Rifampin	mRNA synthesis	Bactericidal

β -lactam antibiotics

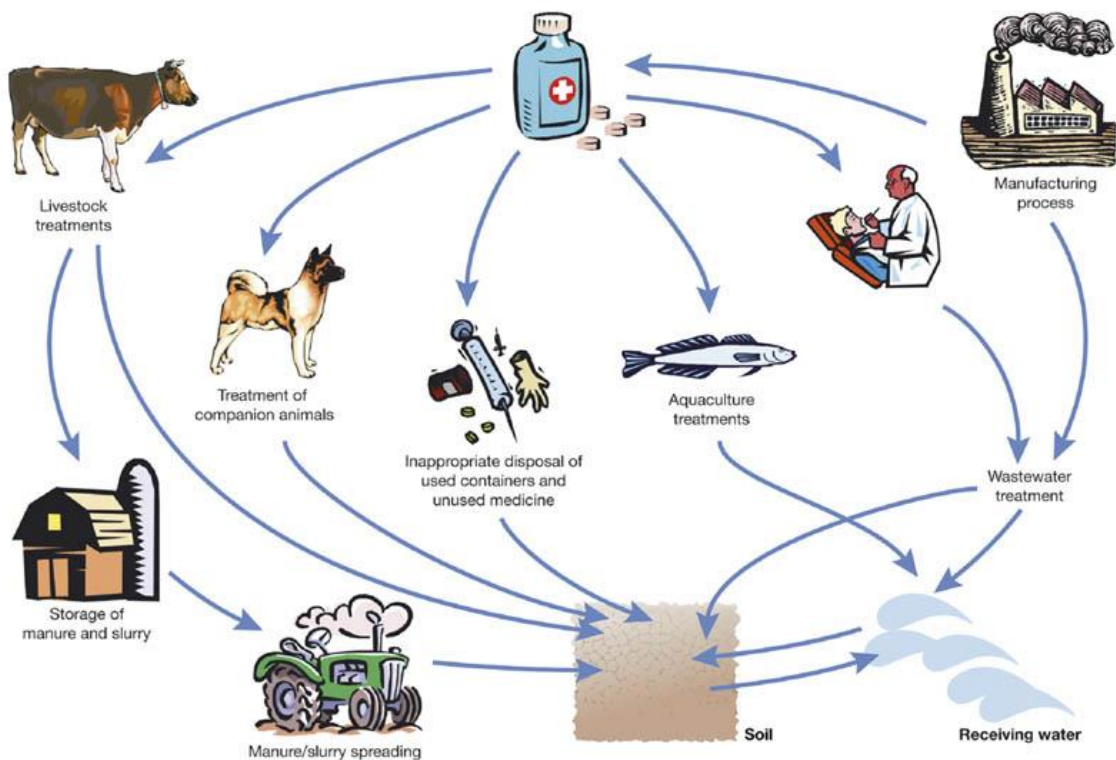
ยาปฏิชีวนะกลุ่มนี้มีสูตรโครงสร้างหลักคือ β -lactam antibiotics ซึ่งเป็น 4-membered cyclic amide เป็นยา กลุ่มสำคัญที่ใช้รักษาการติดเชื้อแบคทีเรีย แบ่งเป็น Penicillin, β -lactam, antibiotics, Cephalosporin, Monobactams

Penicillin มีหลายชนิดจึงมีขอบข่ายการออกฤทธิ์ต่าง ๆ มีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ cell wall โดยไปยับยั้งการสร้าง Dipeptidoglycan ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ ทำหน้าที่สร้างความแข็งแรงให้แก่ผนังเซลล์เชื้อแบคทีเรียออกฤทธิ์เป็น Bactericidal action มีพิษและปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์น้อย Penicillins กลุ่มต่าง ๆ จะต่างกันตรง Amide substituted groups ซึ่งมีผลทำให้มีฤทธิ์ในการรักษา, คุณสมบัติทางฟิสิกส์เคมีและความคงตัวต่างกัน Substituted groups เหล่านี้ก็คือ Acyl groups, Penicillins ส่วนใหญ่ในปัจจุบันได้จากเชื้อ *Penicillium notatum* และ *P. chrysogenum* ปัจจุบันอาจได้จากการทำกิ่งสังเคราะห์ ยาในกลุ่ม Penicillin สังเคราะห์ได้จากเชื้อรา รักษาการติดเชื้อแบคทีเรียในเนื้อเยื่ออวัยวะ เช่น Amoxicillin, Ampicillin, Carbenicillin, Cloxacillin, Flucloxacillin ยาในกลุ่ม Cephalosporin ออกฤทธิ์ต้าน

เชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด เช่น ชนิดก่อให้เกิดการอักเสบทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร เช่น Cefazidime, Ceftriaxone, Cephalexin ซึ่งโครงการได้ใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่มเป็นตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

2.6 กลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะ (วุฒินันท์, 2549)

กลไกการออกฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะมีกระบวนการทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโดยทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ศัพท์ทางวิทยาศาสตร์เรียกว่า เซลล์เมมเบรน (Cell membrane) ซึ่งเป็นเยื่อบาง ๆ ที่หุ้มตัวเชื้อแบคทีเรีย (มีหน้าที่แลกเปลี่ยนสารต่าง ๆ ระหว่างภายนอกเซลล์) ส่งผลให้สมดุลในการดำรงชีวิตของเชื้อโรคละเอียดไปและตายในที่สุด ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ (Cell wall) ซึ่งเป็นผนังภายนอกสุดของเซลล์ที่ห่อหุ้มเซลล์อีกที (มีหน้าที่ปกป้องและคงรูปร่างของเซลล์ มักพบกับเซลล์แบคทีเรียและเซลล์พืช ไม่พบในเซลล์สัตว์ ด้วยกลไกนี้จะทำให้เชื้อแบคทีเรียต่าง ๆ ไม่สามารถแพร่พันธุ์ จึงหยุดการเจริญเติบโต ก่ออวนการเจริญเติบโต ก่ออวนการสังเคราะห์สารพันธุกรรม DNA และ RNA ในตัวของเชื้อแบคทีเรีย กลไกดังกล่าวจะทำให้เชื้อปลดปล่อยน้ำย่อยออกมาช่วยตัวเองและตายในที่สุด

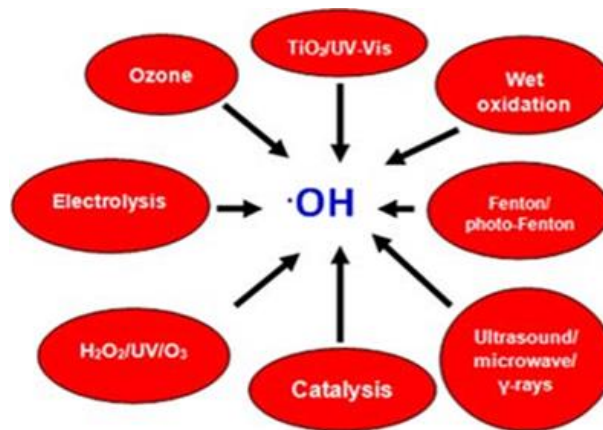


รูปที่ 2.4 การปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะสู่ระบบนิเวศน์และสิ่งแวดล้อม

ที่มา: <http://www.york.ac.uk/depts/eeem/gsp/esm/images/pharmabig.jpg>

2.7 กระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง (Advance Oxidation Processes)

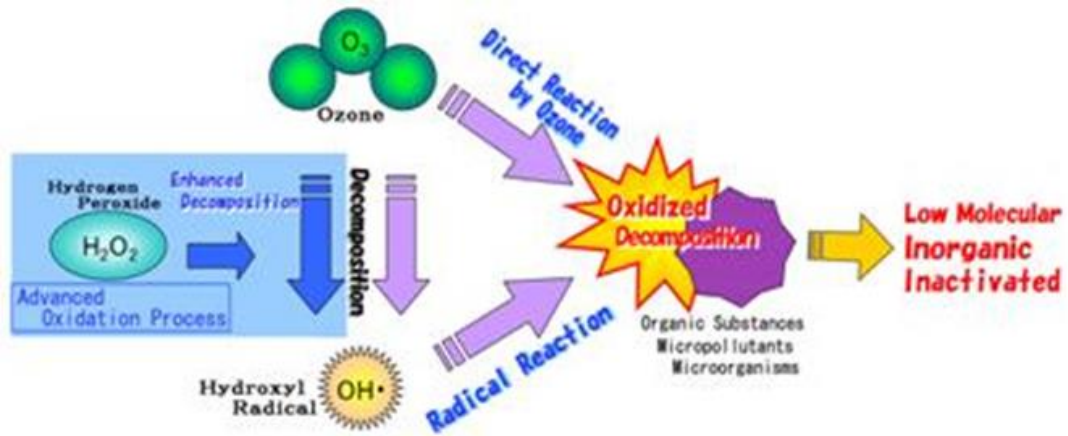
กระบวนการออกซิเดชันขั้นสูง (Advance Oxidation Processes, AOPs) เป็นกระบวนการทางเคมีวิธีการหนึ่งซึ่งอาศัยสารออกซิไดซ์ (Oxidizing agent) ที่มีค่าศักย์ออกซิเดชันสูง ปัจจุบันได้รับความสนใจและพัฒนาขึ้นเพื่อนำมาใช้กำจัดสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำ ซึ่งไม่สามารถย่อยสลายได้หรือย่อยสลายได้ยาก (Recalcitrant) ด้วยกระบวนการบำบัดทางชีวภาพหรือกระบวนการทางเคมี โดยหลักการของกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงนี้ คือ การมุ่งสร้างไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl Radical, $\cdot\text{OH}$) ดังแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 กระบวนการสร้างไฮดรอกซิลเรดิคัล

ที่มา: <http://www.chemeng.upatras.gr/en/content/%E2%80%9CAdvanced-oxidation-pr>

ทำหน้าที่ย่อยสลายหรือเปลี่ยนรูปของสารมลพิษเกิดเป็นอนุมูลของสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ซึ่งสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลอื่นได้ต่อไป ทำให้สารอินทรีย์หรืออนินทรีย์เปลี่ยนโครงสร้างและมีขนาดโมเลกุลเล็กลง สารมลพิษต่างๆ ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียจะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำซึ่งไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมหรือหากไม่สามารถออกซิไดซ์อย่างสมบูรณ์ได้ สารมลพิษดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนรูปให้อยู่ในรูปที่มีความเป็นพิษหรือสร้างภาวะมลพิษได้ต่ำดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 กระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงจากการทำปฏิกิริยาของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) กับ สารมลพิษ

ที่มา: http://www.sbmc.or.jp/english/ozonation_technology.html

กระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงโดยทั่วไปนิยมใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารออกซิไดซ์หลัก ร่วมกับสารเร่งปฏิกิริยา เช่น เกลือของโลหะ โอโซน รังสียูวี หรือ ความร้อน เป็นต้น ซึ่งจะสามารถเร่งให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดการแตกตัวเป็นไฮดรอกซิลเรดิคัลซึ่งเป็นสารที่มีศักยภาพในการออกซิไดซ์ที่รุนแรงมาก กระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงในปัจจุบันที่มีการใช้งานมีหลายประเภทเช่น เบนตอนรีเอเจนต์ (Fenton's reagent) แสงยูวีร่วมกับไทเทเนียมไดออกไซด์ (UV/TiO₂) แสงยูวีร่วมกับโอโซน (H₂O₂/O₃) แสงยูวีร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (UV/H₂O₂) หรือใช้แสงยูวีร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และโอโซน (H₂O₂/O₃/UV) ซึ่งในที่นี้จะกล่าวถึงกระบวนการไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับความร้อนซึ่งเป็นวิธีที่ไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่ซับซ้อน

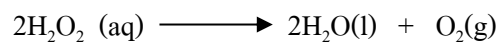
2.7.1 กระบวนการออกซิเดชันทางเคมี (Chemical Oxidation)

กระบวนการออกซิเดชัน (Oxidation) มีวัตถุประสงค์เพื่อลดความเป็นพิษของของเสียที่เป็นของเหลวที่ปนเปื้อน ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นสูง แต่มีปริมาณน้อยเพื่อลดความเป็นพิษ การบำบัดน้ำเสียที่ย่อยสลายด้วยวิธีทางชีวภาพได้ยากให้สามารถถูกย่อยสลายได้ง่ายมากขึ้นเพื่อลดเวลาที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการทางชีวภาพโดยทำการเติมสารออกซิไดซ์เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของของเสียเปลี่ยนให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำหรือในรูปอื่นที่มีความเป็นพิษน้อยกว่า และสามารถนำไปบำบัดด้วยกระบวนการทางชีวภาพต่อไปได้ กระบวนการออกซิเดชันสามารถใช้ได้ผลดีกับสารอินทรีย์หลายชนิด เช่น Chlorinated VOCs, Mercaptan, ฟีนอล, และไซยาไนด์ เป็นต้น กลุ่มของสารออกซิไดซ์ได้แก่ โอโซน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และคลอรีน รวมทั้งสารประกอบ

Hypochlorite, Persulfate, perchlorate, และ permanganate อาจมีการใช้แสงยูวีร่วมกับการใช้โอโซน หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อเร่งการออกซิเดชันด้วยก็ได้ สารเคมีที่นิยมใช้เป็นตัวออกซิไดซ์กันอย่างแพร่หลาย คือ โอโซน (Ozone:O₃) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide:H₂O₂) คลอรีน (Chlorine:Cl₂) โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (Potassium Permanganate:KMnO₄) และสารละลายเฟนตัน (Fenton's Reagent) เป็นต้น

2.7.2 กระบวนการไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ปฏิกิริยาการสลายตัวของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีสูตรทางเคมีว่า H₂O₂ เป็นสารประกอบเปอร์ออกไซด์ (สารที่ประกอบด้วยออกซิเจนสองตัวและเชื่อมกันด้วยพันธะเดี่ยว) โดยทั่วไปไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะอยู่ในรูปสารละลายความเข้มข้นตั้งแต่ 3–90% มีสภาพเป็นของเหลวใส หนักกว่าน้ำเล็กน้อย มีรสขม ไม่อยู่ตัว เมื่อเจือจางจะเป็นสารละลายไม่มีสี มักใช้เป็นสารฟอกสีผืน สารทำความสะอาด น้ำยาฆ่าเชื้อ ใช้ฆ่าเชื้อโรคบนผิวหนัง ใช้ล้างภาชนะน้ำมันเก่าๆ ให้สดชื่น ทำน้ำยาบ้วนปาก เนื่องจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถสลายตัวเป็นน้ำได้ดังสมการ แสงสว่างและความร้อนจะช่วยเร่งให้เกิดการสลายตัวเร็วขึ้น ดังนั้นจึงควรเก็บรักษาสารชนิดนี้ไว้ในภาชนะทึบแสงและในที่เย็น



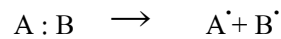
นอกจากนี้แล้ว ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังเป็นสารออกซิไดซ์ที่มีค่าศักย์ออกซิเดชัน 1.78 โวลต์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่ย่อยสลายง่ายและไวต่อแสงมีราคาถูกและสามารถผลิตไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl radical, ·OH) ได้โดยไม่ต้องอาศัยตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) แต่ความสามารถในการออกซิไดซ์น้อยไม่สามารถออกซิไดซ์สารที่ย่อยสลายยากได้แต่เมื่อมีการใช้ร่วมกับสารเร่งปฏิกิริยา เช่น เฟอร์รัสไอออน (Fe²⁺) เฟอริกไอออน (Fe³⁺) จะส่งผลให้สามารถผลิตสารออกซิไดซ์ที่มีค่าศักย์ออกซิเดชันสูง โดยการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับตัวเร่งปฏิกิริยาหรือปฏิกิริยาเฟนตัน (Fenton's reaction)

2.7.3 กลไกการเกิดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (·OH)

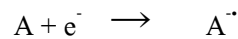
อนุมูลอิสระ (Free radical) คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ (unpaired electron) อย่างน้อย 1 ตัวโคจรรอบวงนอกสุด อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออก ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่ไม่เสถียรและมีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นอย่างรวดเร็ว จึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบๆ โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรือ

อะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ที่ไม่เสถียรซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อกันไปเรื่อยๆ สมบัติของอนุมูลอิสระก็มีเหมือนสารทั่วไป คือมีความสามารถในการทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ เปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง (pH) และความชื้น เป็นต้นอนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสถานะที่เป็นกลางทางไฟฟ้า มีทั้งประจุบวกและประจุลบ อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพได้แก่ Hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), Superoxide anion radical ($\text{O}_2^{\cdot-}$) เป็นต้น อนุมูลเหล่านี้จัดเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกัน ดังนี้

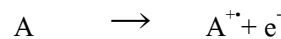
ก. การแตกของพันธะ โควาเลนต์แบบโฮโมไลซิส (Homolysis)



ข. การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัว ให้แก่อะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



ค. การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัว จากอะตอมที่เป็นกลางทางไฟฟ้า



การแบ่งอนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องในด้านชีววิทยาที่สามารถเป็นตัวตั้งต้น แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive nitrogen species, RNS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (reactive chlorine species, RCS) สารบางชนิดสามารถจัดอยู่ได้ 2 กลุ่ม เช่น เปอร์ออกซิไนไตรท์ (Peroxynitrite) ตัวอย่าง อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องแสดงในตาราง 2.2

ตารางที่ 2.2 ศักย์ออกซิเดชันของสารออกซิไดซ์

องค์ประกอบ	สูตรทางเคมี	ศักย์ทางไฟฟ้า (V)
Fluorine	F_2	3.60
Hydroxyl radical	$\cdot\text{OH}$	2.80
Ozone	O_3	2.07
Chlorine dioxide	ClO_2	1.91
Hydrogen peroxide	H_2O_2	1.78

Chlorine	Cl ₂	1.36
Bromine	Br ₂	1.09
Iodine	I ₂	0.54

ที่มา: Parsons (2004)

2.7.4 กลไกการเกิดไฮดรอกซิลเรดิคัล

การเกิดไฮดรอกซิลเรดิคัลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดขึ้นเมื่อให้ความร้อนกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นสารหลักในการทำให้เกิดกระบวนการออกซิเดชันทางเคมีซึ่งสามารถนำไปใช้ในการกำจัดสารมลพิษอินทรีย์หรืออนินทรีย์โดยไฮดรอกซิลเรดิคัลนี้สามารถเปลี่ยนรูปหรืออาจถึงขั้นกำจัดสารมลพิษได้อย่างสมบูรณ์ คือสามารถเปลี่ยนรูปของสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ให้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์น้ำและเกลือต่างๆ การให้ความร้อนกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นการเร่งปฏิกิริยาให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดการแตกตัวเป็นไฮดรอกซิลเรดิคัล ความร้อนจะเป็นตัวเร่งให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เกิดการแตกตัวเป็นไฮดรอกซิลเรดิคัลซึ่งจะเป็นปฏิกิริยาแบบต่อเนื่องจนกว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะหมดไป

การออกซิไดซ์สารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ของไฮดรอกซิลเรดิคัลจะเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่จนกระทั่งไฮดรอกซิลเรดิคัลไม่สามารถออกซิไดซ์สารดังกล่าวได้อีกต่อไปและแบ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮดรอกซิลเรดิคัลเป็น 3 ขั้นตอน คือ

- ขั้นตอนที่ 1 เรียกว่าขั้นตอนอินิทิเอชัน (initiation step) เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกสร้างหรือผลิตขึ้น
- ขั้นตอนที่ 2 เรียกว่า ขั้นพวพาเกชัน (propagation step) เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อๆ กันไป
- ขั้นตอนที่ 3 เรียกว่า ขั้นเทอร์มิเนชัน (termination step) เป็นขั้นตอนของการหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ และเป็นขั้นที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูลได้เป็นสารที่มีความเสถียรโดยทั่วไปการเสยอิเล็กตรอนหรือการที่มีอิเล็กตรอนเข้าคู่กันครบของโมเลกุลหรืออะตอมของสารเพื่อกลายเป็นอนุมูลอิสระได้นั้นต้องอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง

2.7.4.1 ขั้นตอนอินิทิเอชัน (chain initiation)

อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นได้จากกลไกต่างๆ ได้หลากหลายวิธี ได้แก่ Bond homolysis หรือการแตกพันธะของโมเลกุลที่มีพลังงานต่ำมาก เรียกว่าการแตกตัวแบบ Homolysis ได้อนุมูลอิสระที่เหมือนกัน 2 โมเลกุล การแตกพันธะเนื่องจากแสง (photolysis) ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น การแตกตัวเนื่องจากผลของรังสี (Radiolysis) เป็นการทำลายพันธะของโมเลกุลในสารโดยใช้รังสีที่มีพลังงานสูง เช่น รังสีแกมมา และรังสีเอกซ์ อนุมูลอิสระที่ได้มีความไวในการทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์หรือเป็นการแตกตัวที่มาจากปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redoxreaction) ซึ่งปฏิกิริยาทั้ง 4 ลักษณะจัดเป็นกลไกพื้นฐานในการสร้างอนุมูลอิสระ ซึ่งกระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นการสร้างไฮดรอกซิลเรดิคัลที่มาจากกลไกแบบ Homolysis ซึ่งอธิบายได้ดังนี้

Bond homolysis

ในทางทฤษฎีสามารถแยกโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีอิเล็กตรอนวงนอกสุด (Valence electron) เป็นจำนวนคู่ออกจากกัน โดยให้ผลลัพธ์เป็นอนุมูลอิสระในสภาวะที่อุณหภูมิปกติ การที่อิเล็กตรอนคู่ในพันธะโควาเลนต์จะแยกจากกันไปให้อะตอมแต่ละตัวต้องเป็นโมเลกุลที่มีพลังงานระหว่างพันธะที่อ่อนมาก ตัวอย่าง Bond homolysis แสดงได้ดังสมการต่อไปนี้

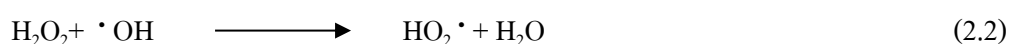
Initiation

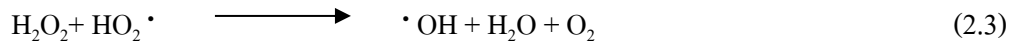


2.7.4.2 ขั้นตอนพรอพาเกชัน (chain propagation)

เป็นขั้นตอนการทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนอนุมูลอิสระเป็นสารอื่น โดยปฏิกิริยาดังกล่าวจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ซึ่งจะได้อนุมูลอิสระชนิดใหม่ออกมาตลอดเวลาและอิเล็กตรอนที่ไม่เข้าคู่ (unpaired electron) มีการเปลี่ยนตำแหน่ง การเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในปฏิกิริยาทำให้จำนวนอนุมูลอิสระที่พร้อมทำปฏิกิริยาเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามหากปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีสูงเกินไปหรือมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เหลือในระบบมากเกินไป ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะแสดงพฤติกรรมเป็นตัวยับยั้งไฮดรอกซิลเรดิคัล โดยจะทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซิลเรดิคัลเกิดเป็นอนุมูลอิสระเปอร์ไฮดรอกซิล (perhydroxyl radicals, HO₂•) น้ำและออกซิเจนดังแสดงในสมการ

Propagation



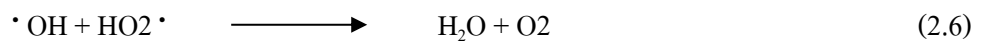
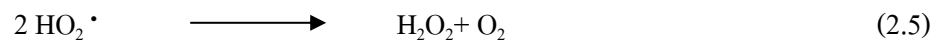
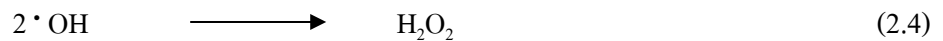


ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะเป็นตัวยับยั้งอนุมูลไฮดรอกซิลแรดิคัลที่เกิดจากปฏิกิริยาที่ (2.1) ทำให้ไฮดรอกซิลแรดิคัลไปทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ได้น้อยลง เกิดอนุมูลอิสระเปอร์ไฮดรอกซิลที่มีค่าศักย์ออกซิเดชันหรือความรุนแรงน้อยกว่าไฮดรอกซิลแรดิคัลทั้งไฮดรอกซิลแรดิคัลและอนุมูลอิสระเปอร์ไฮดรอกซิลสามารถเปลี่ยนรูปกลับไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์หรือสลายเป็นน้ำและออกซิเจนได้เช่นกันดังแสดงในสมการที่ (2.4) ถึง (2.6) แต่อัตราการเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าการเกิดอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล

2.7.4.3 ขั้นเทอร์มิเนชัน (chain termination)

เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระประกอบด้วยกลไกหลัก 3 ชนิดคือ การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ (Homolinking and cross-linking of radicals) การกำจัดอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) และการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron transfer)

Termination



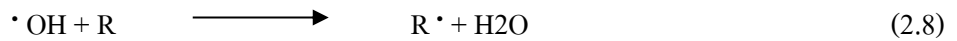
2.7.5 กลไกการกำจัดยาปฏิชีวนะ

การออกซิไดซ์สารอินทรีย์หรืออนินทรีย์ของอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลจะเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่จนกระทั่งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลไม่สามารถออกซิไดซ์สารดังกล่าวได้อีกต่อไป ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลอาศัยกลไกหลัก 3 แบบ

- การรวมแบบชอบไฟฟ้า (Electrophilic Addition) อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลจะสร้างพันธะกับสารอินทรีย์/อนินทรีย์ที่ไม่อิ่มตัว เช่น Aliphatic หรือ Aromatic เกิดเป็นอนุมูลอิสระของสารอินทรีย์ขึ้น เช่น อนุมูลอิสระ Cyclohexadienyl ที่ไม่เสถียรขึ้นและจะทำปฏิกิริยาเปลี่ยนรูปต่อไปดังสมการ



- การดึงไฮโดรเจน (Hydrogen Abstraction) อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลจะทำปฏิกิริยาดึงไฮโดรเจนของสารอินทรีย์/อนินทรีย์ออกมาและเกิดอนุมูลอิสระของสารอินทรีย์/อนินทรีย์ซึ่งไม่เสถียรและจะเปลี่ยนรูปต่อไปดังสมการ

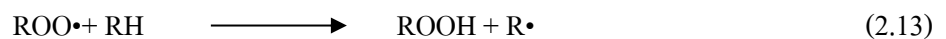
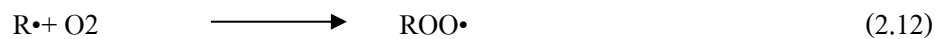
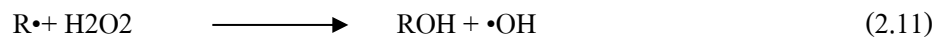
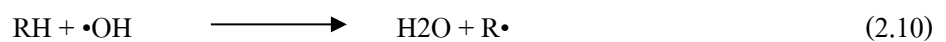


- การส่งถ่ายอิเล็กตรอน (Electron Transfer) อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลคืออนุมูลไฮดรอกไซด์ที่ขาดอิเล็กตรอนไปหนึ่งตัวเป็นผลให้อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลมีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ เพื่อเปลี่ยนรูปให้กลายเป็นอนุมูลไฮดรอกไซด์ที่มีความเสถียร ดังนั้นเมื่อมีการสร้างอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลขึ้นอิเล็กตรอนของสารมลพิษจะถูกอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลออกซิไดซ์ดังไปดังสมการ



การออกซิไดซ์สารอินทรีย์โดยอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลส่วนใหญ่จะเป็นกลไกแบบที่หนึ่งและแบบที่สอง ทำให้สารอินทรีย์นั้นเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลอิสระสารอินทรีย์ ($\text{R}\cdot$) และอนุมูลอิสระสารอินทรีย์นี้ยังสามารถไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบต่อเนื่องได้อีกดังแสดงในสมการที่ (2.10) ถึง (2.13) จนกระทั่งไม่สามารถถูกออกซิไดซ์ด้วยอนุมูลอิสระได้อีกต่อไป ท้ายที่สุดจะได้สารอินทรีย์ผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ดังสมการที่ (2.14) และ (2.15)

Chain Propagation



Decomposition



2.8 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

Souza และคณะ (2014) ศึกษากระบวนการออกซิเดชันขั้นสูงด้วยการใช้รังสียูวีที่ความคลื่น 254 นาโนเมตร ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการบำบัดน้ำเสียหลังผ่านการบำบัดขั้นที่สองของเทศบาลที่ปนเปื้อนด้วยสาร atrazine โดยพิจารณาปฏิกิริยาการสลายของ atrazine และประสิทธิภาพของไฮดรอกซิลเรดิคัลในการกำจัดสารอินทรีย์และอนินทรีย์ในน้ำเสียโดยมีความเข้มข้นเริ่มต้นของ atrazine เท่ากับ 0.1 กรัม/ลิตร ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 5 มิลลิกรัม/ลิตรหรืออัตราส่วนโดยโมลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่อค่าดีไอซี ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{DOC}$) เท่ากับ 0.1 และแปรผันอัตราส่วนเป็น 1, 2, 3, และ 4 ตามลำดับ โดยใช้เวลาในการทำปฏิกิริยา 120 นาที

ผลการทดลองพบว่าการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่ำที่อัตราส่วน $\text{H}_2\text{O}_2/\text{DOC}$ เท่ากับ 0.1 สามารถสลาย atrazine ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียหลังผ่านการบำบัดขั้นที่สองถึงแม้ว่าไฮดรอกซิลเรดิคัลจะถูกยับยั้ง 60% ของจำนวนที่สร้างขึ้นซึ่งสามารถกำจัดสารประกอบอินทรีย์ในน้ำทิ้งได้ 85% และเมื่อพิจารณาอัตราการสลายตัวของ atrazine พบว่าเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ค่าคงที่ของอัตราการเกิดปฏิกิริยาของ atrazine ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียหลังผ่านการบำบัดขั้นที่สองของเทศบาลมีค่าลดลง 15 เท่าเมื่อเทียบกับค่าคงที่ของ atrazine ที่ปนเปื้อนในน้ำ DI การใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่ำ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{DOC}$ เท่ากับ 0.1 ไม่สามารถเพิ่มการย่อยสลายทางชีวภาพของสารอินทรีย์ในน้ำเสียหลังผ่านการบำบัดขั้นที่สองของเทศบาล ดังนั้นจึงไม่สามารถกำจัดสารมลพิษที่ปนในน้ำเสีย ซึ่งเมื่อเพิ่มอัตราส่วน $\text{H}_2\text{O}_2/\text{DOC}$ มากกว่า 3 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายของสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำมากกว่า 50%

Kusic และคณะ (2006) รายงานประสิทธิภาพของ AOPs เทคโนโลยีโดยใช้ O_3 , $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$, UV/O_3 และ $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3$ ในการลดปริมาณของสารฟีนอลในน้ำเสียเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับแบบจำลองน้ำเสียโดยแปรผัน ค่าพีเอชเริ่มต้นในช่วง 3-12 ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 2–110 mM และใช้เวลาบำบัดน้ำเสียนาน 60 นาที ซึ่งการทดลองนี้ให้ความสำคัญต่ออัตราการสลายตัวของสารฟีนอลอย่างสมบูรณ์ร่วมกับการพิจารณาความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าการสลายตัวอย่างสมบูรณ์ของสารฟีนอลที่ปนเปื้อนในน้ำเสียสามารถเกิดขึ้นได้ในกระบวนการออกซิเดชันที่หลากหลายสภาวะ ยกเว้นกระบวนการ $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ สามารถสลายสารฟีนอลได้ 99.4% ภายในเวลา 1 ชั่วโมง นอกจากนี้กระบวนการ $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3$ ที่สภาวะพีเอชเท่ากับ 7

ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 10 mM มีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์มากที่สุด สามารถกำจัดสารฟีนอลที่ปนเปื้อนในน้ำเสียได้ 100% ภายใน 30 นาที และเมื่อพิจารณาค่า TOC หลังสิ้นสุดการบำบัดที่เวลา 1 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 58% ในส่วนของค่าใช้จ่ายในการบำบัดสารฟีนอลที่ปนเปื้อนในน้ำ พบว่าการใช้ O_3 โดยบำบัดน้ำเสียที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 12 มีค่าใช้จ่ายถูกที่สุดคือ 1.34 EUR/g ใช้เวลาในการบำบัดที่ 45 นาที ดังนั้นเมื่อพิจารณาที่ความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจึงสรุปได้ว่าการใช้ UV/H₂O₂/O₃ เป็นสถานะที่เหมาะสมที่สุดในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนสารฟีนอล

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์ และการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุที่ใช้ในการทดลอง

ยาปฏิชีวนะ Cefazidime, ceftriaxone, และ cephalexin ได้รับมาจากบริษัท มิลลิเมค จำกัด ที่ความบริสุทธิ์ (>98%) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (50%) จัดซื้อจาก Chemipan Corporation Co. Ltd. เมธานอลและอะซีโตรไนไตรท์ (เกรด HPLC) จัดซื้อจาก Chemipan Corporation Co. Ltd. ด้วยเช่นเดียวกัน โดยสารที่ใช้ทั้งหมดเป็นเกรด analytical

3.2 แบคทีเรียที่ใช้

Escherichia coli, กองชีววัตถุ; กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.3.1 ตู้เจ็บบีชี (Laminar flow cabinet DWYER Series 0325, USA)
- 3.3.2 ตู้บ่มเชื้อ (MEMMERT Model ULM500 Series TS8000, Germany)
- 3.3.3 ตู้เย็น (Sanyo, Japan)
- 3.3.4 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (BECTHAI and HIRAYAMA Model HA300D, Japan)
- 3.3.5 เครื่องเขย่าพร้อมระบบควบคุมอุณหภูมิ (NEW BRUNWICK SCIENTIFIC, USA)
- 3.3.6 96-microwell plate (Costar, USA)
- 3.3.7 Auto pipette ปริมาตร 5 ไมโครลิตร (Autopipette, USA)
- 3.3.8 Auto pipette ปริมาตร 10 ไมโครลิตร (Autopipette, USA)
- 3.3.9 Auto pipette ปริมาตร 200 ไมโครลิตร (Autopipette, USA)
- 3.3.10 Auto pipette ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร (Autopipette, USA)
- 3.3.11 เครื่องชั่งละเอียด 0.0001 กรัม (Mettler Toledo Model AG204, Switzerland)
- 3.3.12 เครื่องชั่งละเอียด 0.01 กรัม (Mettler Toledo Model GG-4002S, Switzerland)
- 3.3.13 HPLC Agilent 1200 (Germany)
- 3.3.14 อุปกรณ์ระบบ AOPs
 - ชุดควบคุมอุณหภูมิ (YL-6E, China)
 - เกจวัดความดัน

- ชุดให้ความร้อน
- กระจก AOPs

3.4 อาหารและสารเคมีที่ใช้

- 3.4.1 อาหารเลี้ยงเชื้อไม่จำเพาะ
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Agar (TSA) (Difco, France)
 - อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB) (Difco, France)
- 3.4.2 อาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)
 - อาหารเลี้ยงเชื้อ Chromogenic coliform agar (CCA)
- 3.4.3 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl), Merck, Germany
- 3.4.4 น้ำมันปาล์ม, สุขสมบูรณ์, ประเทศไทย
- 3.4.5 อะซีโตรไนไตรท์, RCI Labscan, ประเทศไทย
- 3.4.6 เมธานอล, เคมีภัณฑ์, ประเทศไทย
- 3.4.7 กรดซัลฟิวริก (H₂SO₄), RCI Labscan, ประเทศไทย
- 3.4.8 แอมโมเนียมโมลิบเดต (NH₄)₆MO₇O₂₄·4H₂O, Carlo Erba, Thailand
- 3.4.9 โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI), Carlo Erba, Thailand
- 3.4.10 สารละลายน้ำแข็ง, Carlo Erba, Thailand
- 3.4.11 โซเดียมไฮดรอกไซด์, Carlo Erba, Thailand
- 3.4.12 กรดซาลิไซลิก, Carlo Erba, Thailand
- 3.4.13 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH), Carlo Erba, Thailand
- 3.4.14 ยีสต์แห้ง, Saf-Instant, Thailand

3.5 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

3.5.1 เชื้อ *Escheichia coli* แข็งแรง

200 µL ของเชื้อ *Escheichia coli* ที่เก็บรักษาแบบแช่แข็งในแอฟเพนคอร์ฟ ปิเปตลงใน 100 mL ของ TSB ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C (เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm, 12 ชั่วโมง) จนได้ปริมาณเชื้อที่ความหนาแน่นของเซลล์สุดท้ายที่ 10⁷ CFU/mL ทำการ dilution จนได้ความหนาแน่นเซลล์ 10⁶ CFU/mL

3.5.2 การเตรียมอาหาร

3.5.2.1 Potato dextrose agar (PDA)

อาหาร PDA ถูกเตรียมมาจากการชั่งสาร PDA จำนวน 3.9 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

3.5.2.2 Tryptic Soy Agar/ Broth (Soybean-casein digest medium)

- Agar medium

อาหาร TSA ถูกเตรียมมาจาก ชั่งสาร TSA จำนวน 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

- Broth medium

อาหาร TSB เหลวถูกเตรียมมาจาก ชั่งสาร TSB จำนวน 3 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

3.5.2.3 Chromocult coliform agar (CCA)

อาหาร CCA ถูกเตรียมมาจาก ชั่งสาร CCA จำนวน 2.65 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL นำไปให้ความร้อนด้วยการต้มให้เดือดเพื่อให้ส่วนผสมละลาย

3.6 การเตรียมสารเคมี

3.6.1 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (1% w/v)

ชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์จำนวน 1 กรัม ละลายในน้ำ DI 100 mL เก็บ stock สารที่เตรียมไว้ในตู้เย็นและไม่ถูกแสง

3.6.2 การเตรียมสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต (3% w/v)

ชั่งแอมโมเนียมโมลิบเดตจำนวน 9 กรัม ละลายใน 10 mL ของ 6 N ของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH₄OH) ก่อนเติม 24 กรัมของแอมโมเนียมไนเตรท (NH₄NO₃) สารละลายตัวอย่างนี้ถูกทำให้เจือจางเป็น 100 mL ด้วยน้ำ DI

3.6.3 การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริก

สกัดสารละลายถูกเตรียมโดยการละลายกรดซัลฟิวริก 98% (H₂SO₄) ใน 4 ส่วนของน้ำ DI

3.6.4 การเตรียมสารละลายโซเดียมโซอิลเฟต (0.1 N)

สารละลายโซเดียมโซอิลเฟต ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ถูกเตรียมโดยการละลายสาร 1.241 กรัมของ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ และ 0.08 กรัม ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ในน้ำ สารละลายถูกปรับเป็น 1000 mL ด้วยน้ำ DI

3.6.5 สารละลายน้ำแข็ง

ซังแข็ง 2 กรัม และกรดซัลฟิวริกจำนวน 0.2 กรัม ละลายในน้ำร้อน 100 mL

3.7 ขั้นตอนการทดลอง

3.7.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานยาปฏิชีวนะ

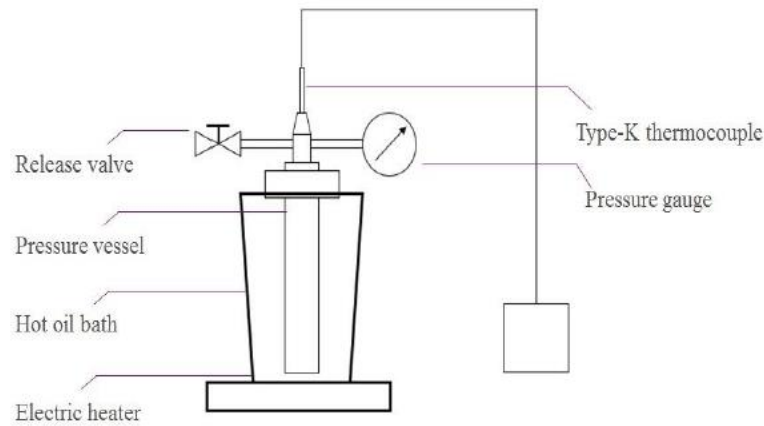
สต็อกของสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดเช่น ceftazidime, ceftriaxone, และ cephalexin ถูกเตรียมด้วยการละลายในน้ำ DI จนได้ความเข้มข้นที่ 60 และ 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ สารละลายมาตรฐานผสมถูกเตรียมโดยการ dilution ของสต็อกสารละลายก่อนทำการทดลองในแต่ละเงื่อนไข

3.7.2 การ Neutralization ของ H_2O_2 โดยใช้ผงยีสต์

สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกเตรียมในน้ำ DI ที่ 1, 3, และ 5% (w/v) และ 50 mL ของ H_2O_2 ถูกผสมด้วยผงยีสต์ในบีกเกอร์ที่อัตราส่วนยีสต์ต่อสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1:50 ส่วนผสมถูกผสมที่อุณหภูมิห้อง ตัวอย่างถูกทำให้เจือจางภายใน 30 นาที และทำการวิเคราะห์ *E. coli* และปริมาณของ H_2O_2 ตกค้าง

3.7.3 การเตรียม reactor และการบำบัดด้วย H_2O_2

การบำบัดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกดำเนินการในแบบจำลองน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะใน reactor ที่มีการควบคุมอุณหภูมิแบบ isothermal (รูปที่ 3.1) สต็อกของสารมาตรฐานยาปฏิชีวนะถูกเตรียมที่ 1,200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ โดย 10 เท่าของการ dilution ถูกได้รับก่อนดำเนินการทดลอง 2 เท่าของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกใช้เพื่อผสมกับส่วนของสต็อกมาตรฐานเพื่อให้ได้ปริมาตร 100 mL ยาปฏิชีวนะและสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกผสมลงใน reactor ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 60 ถึง 150°C ด้วยความร้อนจาก hot oil อุณหภูมิของสารละลายผสมถูกตรวจติดตามด้วยการใช้เทอร์โมคัปเปิลชนิด K และแสดงผลด้วยอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ ในแต่ละตัวอย่าง 5 mL ของแต่ละตัวอย่างถูกสุ่มออกมาจาก reactor เพื่อนำไปทำการวิเคราะห์ต่อไป



รูปที่ 3.1 ชุดอุปกรณ์ Reactor

3.8 เครื่องมือวิเคราะห์

3.8.1 การวัดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ตกค้างด้วยเทคนิควิธีการไทเทรต

ในขวด Erlenmeyer ตัวอย่างจำนวน 2 mL ถูกผสมด้วย 40 mL ของน้ำ DI, 5 mL ของสารละลายกรดซัลฟิวริก, 5 mL ของสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ และ 2 หยดของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต น้ำแป้งประมาณ 2 mL ถูกเติมลงไปเพื่อเป็นตัวบ่งชี้ใช้ในการตัดสินใจจุดยุติสุดท้ายของการไทเทรตด้วยโซเดียมไซโอซัลเฟต ส่วนผสมถูกไทเทรตด้วย 0.005 N ของโซเดียมไซโอซัลเฟตจนกระทั่งตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีเหลือง จากนั้นการไทเทรตยังคงต่อเนื่องจนสิ้นน้ำเงินหายไป

3.8.2 การตรวจวิเคราะห์การตกค้างของยาปฏิชีวนะหลังการบำบัดด้วย HPLC

ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ Cefotaxime, ceftriaxone, และ cephalexin ถูกวัดโดยใช้ HPLC ในการวิเคราะห์ยาปฏิชีวนะ คอลัมน์ HPLC ที่ใช้เป็น C8 รีเวอร์สเฟส LC, คอลัมน์ (4.6 × 150 mm) โมบายเฟส ถูกประกอบด้วยเมธานอล: 40 mM KH_2PO_4 (18:82) โดย HPLC ทำงานในโหมด isocratic ด้วยอัตราการไหล 1 mL/นาที ความยาวคลื่นของ UV detector ถูกตั้งที่ UV 254 nm ปริมาตร injection เป็น 10 μL

3.8.3 การนับเชื้อ *E. coli*

จำนวนของเชื้อถูกวัดโดยการนับปริมาณเชื้อ 10 เท่าของ dilution ถูกเตรียมด้วยสารละลายน้ำเกลือและใช้เป็นเชื้อที่มีการเติมลงไปแบบจำลองน้ำที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะ ปริมาณเชื้อสุดท้ายที่นับได้หลังจากการ incubation ลงไปถูกนำมาเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมเพื่อประเมินกิจกรรมของยาปฏิชีวนะที่ยังคงมีอยู่

เพื่อที่จะนับโคโลนี *E. coli* โปรโตคอลการวิเคราะห์ขนาดเล็กที่ได้จากเขื่อนจันท์เจริญและทิพย์รัตน์ (2011) 10 เท่าของการเจือจางถูกดำเนินการโดยการสุ่มตัวอย่างจากสารที่ได้มีการ neutralization ของ H_2O_2 แล้วหรือการบำบัดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 20 μL ของ serially – diluted ถูกเปิดลงบน 96-microtiter plate ที่มีอาหาร 200 μL ของ Chromocult coliform Agar (CCA) เมื่อนั้นไมโครไทเทอเพลทถูกทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง การนับเชื้อโคโลนี *E. coli* ถูกรายงานเป็น CFU/mL (colony-forming units per milliter)

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

งานวิจัยเพื่อศึกษาการกำจัดสารปฏิชีวนะตกค้างที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียของโรงงานยาโดยการใช้เทคโนโลยี AOP ที่สภาวะการใช้อุณหภูมิต่างๆ ในการทดลองได้มีการจำลองระบบน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะที่ 2 ความเข้มข้น (60 และ 600 μL) ที่ปรากฏในปริมาณเฉลี่ยและค่าปริมาณสูงสุดของยาปฏิชีวนะ 3 ชนิด (ceftazidime (CAZ), ceftriaxone (CRO), และ cephalexin (LEX)) ในการทดลองมีการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 3 ความเข้มข้น 1, 3, และ 5% (v/v) ถูกนำไปประยุกต์ใช้และอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลองเป็นอุณหภูมิตั้งที่ 60 ถึง 150 $^{\circ}\text{C}$ ปริมาณของสารยาปฏิชีวนะที่ยังคงเหลืออยู่หลังจากทำการทดลองถูกประเมินโดยการทดสอบด้วยการเจริญเติบโตของเชื้อ และเปรียบเทียบกับ การตัดสินใจหาสภาวะที่เหมาะสมของการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะ

4.1 ผลของการใช้ยีสต์ที่อัตราส่วน 1:50 สำหรับการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เวลาต่าง ๆ

การทดลองถูกดำเนินการเพื่อศึกษาผลของการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยการใช้ยีสต์แห้ง สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกเตรียมที่ 1, 3, 5% (v/v) และยีสต์แห้งถูกเติมร่วมกับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อัตราส่วน 1:50 ปฏิกริยาถูกดำเนินการเป็นเวลา 30 นาที และการผสมถูกคงไว้ด้วยการกวนตลอดเวลา ตัวอย่างมีการเก็บทุกๆ 5 นาทีภายในระยะเวลาที่ทำการทดลองและทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยการใช้วิธีไทเทรตและการทดสอบทางจุลชีววิทยา ผลการทดลองถูกใช้ในการตัดสินใจเวลาที่ต้องการเพื่อให้ได้ระดับความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ไม่สามารถตรวจพบ การศึกษายืนยันด้วยการเจริญเติบโตของเชื้อถูกใช้เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าสารละลายจะไม่มีสารปนเปื้อนของสารอันตรายที่ยังคงหลงเหลืออยู่ที่จะป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์หลังจากมีการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการบำบัด

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองนี้มุ่งไปที่ผลของสารยาปฏิชีวนะที่ยังคงเหลืออยู่ที่มีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียแกรมลบในกระบวนการ AOPs ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ถูกใช้ในการผลิตอนุมูลอิสระ hydroxyl radical (OH^{\cdot}) Ogusucu และคณะ (2007) ได้รายงานเปอร์ออกไซด์รีดอกซ์ซิน เปอร์ออกซิเดส มีการระบุชี้แจงในเชื้อจุลินทรีย์และสารนี้มาจากสปีชีส์ที่ยังมีชีวิต เช่น แบคทีเรีย, ยีสต์, ฟัง และมนุษย์ เอนไซม์เหล่านี้ถูกแสดงให้เห็นว่าสามารถเร่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำและออกซิเจน ดังนั้นไฮโดรเจนเปอร์

ออกไซค์จึงยังคงปรากฏหลังจากกระบวนการที่สามารถที่จะมีแนวโน้มในการถูกทำให้เป็นกลางโดยการ
ใช้เปอร์ออกไซค์รีดอกซ์ซิน เปอร์ออกซิเดส ในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซค์ในกระบวนการ การ
ใช้เอนไซม์นี้อำนวยความสะดวกให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซค์เกิดการแตกตัวไปเป็นน้ำและออกซิเจน
เอนไซม์คะตะเลสในยีสต์ถูกนำเสนอเพื่อเร่งปฏิกิริยาและกำจัดกิจกรรมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซค์ที่
ยังคงตกค้างดังแสดงในตารางที่ 4.1, 4.2, และ 4.3

ตารางที่ 4.1 รูปโคโลนีของ *E. coli* ในอาหารสำหรับเลี้ยงยีสต์และรา (PDA) ที่ความเข้มข้นของเซลล์ 10-
เท่า แสดงให้เห็นการยังคงมีอยู่ของ H_2O_2 ที่จะไปยับยั้งยีสต์และการผสมของ H_2O_2 ที่
อัตราส่วน 1:50 ของผงยีสต์และสารละลาย H_2O_2

Time (min)	Colony count (CFU)																
	1% H_2O_2 solution					3% H_2O_2 solution					5% H_2O_2 solution						
	10-fold dilution					10-fold dilution					10-fold dilution						
	0	-1	-2	-3	-4	-5	0	-1	-2	-3	-4	-5	0	-1	-2	-3	-4
Control (No yeast added)																	
5																	
10																	
15																	
20																	
25																	
30																	

เพื่อที่จะประเมินความเป็นพิษของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซค์ที่ยังคงเหลืออยู่ในสารละลายผสม เชื้อ *E. coli* ที่ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 6 log CFU/mL ถูกนำมาใส่ลงในสารละลายเพื่อให้ได้ปริมาณความเข้มข้น
สุดท้ายที่ 5 log CFU/mL ในสารละลาย H_2O_2 โคโลนีที่นับได้ถูกดำเนินการในการทดลองที่ได้มีการเติม
ผงยีสต์ควบคู่กับการทดลองควบคุมที่ไม่มีการเติมผงยีสต์

ในตารางที่ 4.1, 4.2, และ 4.3 ตัวอย่างควบคุมเป็นตัวอย่างที่ไม่มีการเติมยีสต์แสดงให้เห็นว่าไม่มีการ
เจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ในทุกสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซค์ หลังจาก 5 นาทีของการบ่มที่มีผง

ยีสต์ผสมอยู่ ระดับของปริมาณ H_2O_2 ลดลงอย่างมาก (รูปที่ 4.1, 4.2, และ 4.3) และผลของการนับโคโลนี แสดงให้เห็นว่ามีการพัฒนาปรับปรุงเป็นอย่างมากในการฟื้นตัวของเชื้อ *E. coli* ใกล้เคียงกับปริมาณ เซลล์ที่ได้คาดหวังไว้ที่ $5 \log CFU/mL$ ในทุกส่วนผสมของความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่แตกต่างกัน ตามที่เวลาการบ่มเพิ่มถึง 30 นาที ปริมาณเชื้อโคโลนี *E. coli* ก่อนข้างที่จะคงที่ เป็นการบอกรับเป็นนัยว่าความเข้มข้นของ H_2O_2 ลดลงอย่างเพียงพอ ยอมให้เซลล์ *E. coli* โตปราศจากผลจากการยับยั้งของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกทำให้เป็นกลางด้วยการเติมผงยีสต์สามารถทำงานได้เป็นอย่างดีและสามารถที่จะกำจัดผลที่เกิดจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *E. coli* ดังนั้นเพียงผลของสารยับยั้งที่เกิดจากยาปฏิชีวนะที่ยังคงมีอยู่สามารถที่จะถูกศึกษาได้

ตารางที่ 4.2 รูปของโคโลนี *E. coli* ในอาหาร Trypticase soy agar (TSA) ที่ความเข้มข้น 10-fold

แสดงผลของการยับยั้งโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ยังคงมีอยู่ในยีสต์และสารผสมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อัตราส่วน 1:50 ของผงยีสต์และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

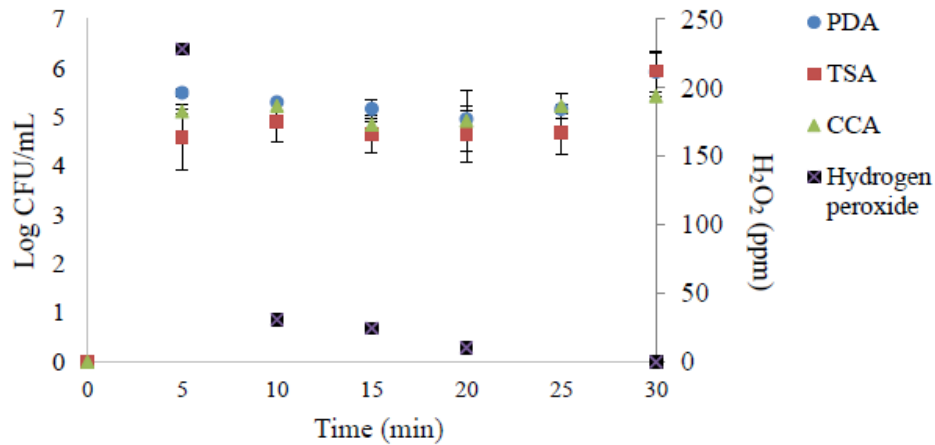
Time (minutes)	Colony count (CFU)																
	1% H_2O_2 solution					3% H_2O_2 solution					5% H_2O_2 solution						
	10-fold dilution					10-fold dilution					10-fold dilution						
	0	-1	-2	-3	-4	-5	0	-1	-2	-3	-4	-5	0	-1	-2	-3	-4
Control (No yeast added)																	
5																	
10																	
15																	
20																	
25																	
30																	

การทดลองถูกเตรียมเพื่อจำลองการลดลงของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นออกซิเจนและน้ำตลอดการใช้โดย thioredoxin และ thiol-electron donors อื่นๆ (Wong et. al., 2004) อย่างไรก็ตาม รูปที่ 4.1 แสดงให้เห็นโคโลนีที่นับได้และ profile ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ยังเหลือของการทดลองของ 1% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (v/v) การทดลองที่ควบคุมหรือไม่มีการเติมยีสต์ถูกแสดงที่เวลาเริ่มต้น ($t = 0$) และไม่มีเชื้อ *E. coli* ถูกตรวจพบ

ตารางที่ 4.3 รูปของโคโลนี *E. coli* ในอาหาร chromogenics selective agar (CCA) ที่ความเข้มข้น 10-fold แสดงผลของการยับยั้งโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ยังคงมีอยู่ในยีสต์และสารผสมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อัตราส่วน 1:50 ของผงยีสต์และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

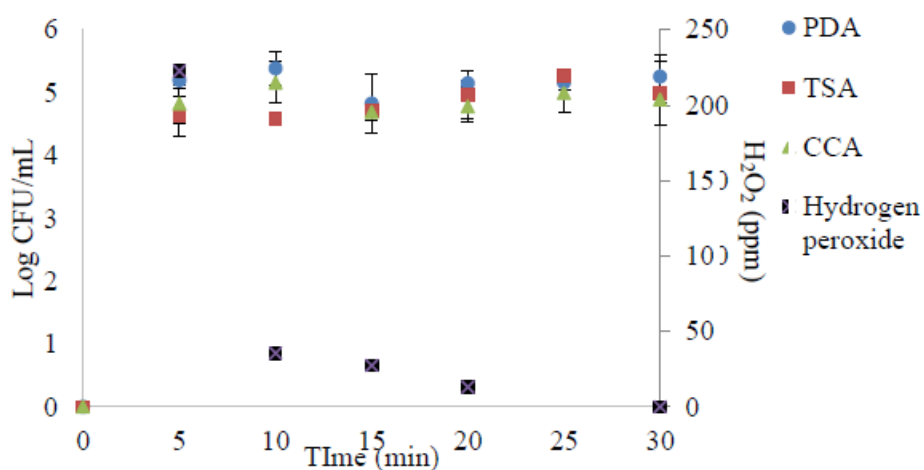
Time (minutes)	Colony count (CFU)																	
	1% H ₂ O ₂ solution					3% H ₂ O ₂ solution					5% H ₂ O ₂ solution							
	10-fold dilution					10-fold dilution					10-fold dilution							
	0	-1	-2	-3	-4	-5	0	-1	-2	-3	-4	-5	0	-1	-2	-3	-4	-5
Control (No yeast added)																		
5																		
10																		
15																		
20																		
25																		
30																		

หลังจาก 5 นาทีของยีสต์แห้งที่มีการนำมาใช้ โคโลนี *E. coli* ถูกตรวจพบที่ปริมาณเซลล์ประมาณ 4.5 ถึง 5.5 log CFU/mL ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารแข็ง โดยทั่วไป TSA ให้การฟื้นตัวของเซลล์ที่ไม่ดีและ PDA สามารถให้ปริมาณของเซลล์ที่สูง อย่างไรก็ตามปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตที่นับได้ส่วนใหญ่ถูกมาจาก CCA เพราะอาหารนี้มีความจำเพาะกับ *E. coli* เป็นอย่างมาก การตรวจวิเคราะห์ของกิจกรรม β -D-glucuronidase เป็นที่รู้อย่างกว้างขวางในการใช้แยกแบคทีเรีย *E. coli* ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่ใน *E. coli* โดยให้โคโลนีสีน้ำเงินเข้ม (Rattanabumrung et. al., 2012) ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของ 10,000 ppm ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ถูกบำบัดด้วยการเติมยีสต์เป็นเวลา 5 นาที ส่งผลทำให้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลดลงเป็น 250 ppm หลังจาก 10 นาทีของปฏิกิริยา ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลดลงเป็น exponentially หลังจาก 30 นาที ไม่ปรากฏมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกตรวจพบและปริมาณจำนวนเซลล์ที่นับได้มีแนวโน้มสูงกว่าเงื่อนไขการบ่มอื่นๆ ปริมาณเซลล์สุดท้ายอยู่ที่ปริมาณ 5 ถึง 6 log CFU/mL



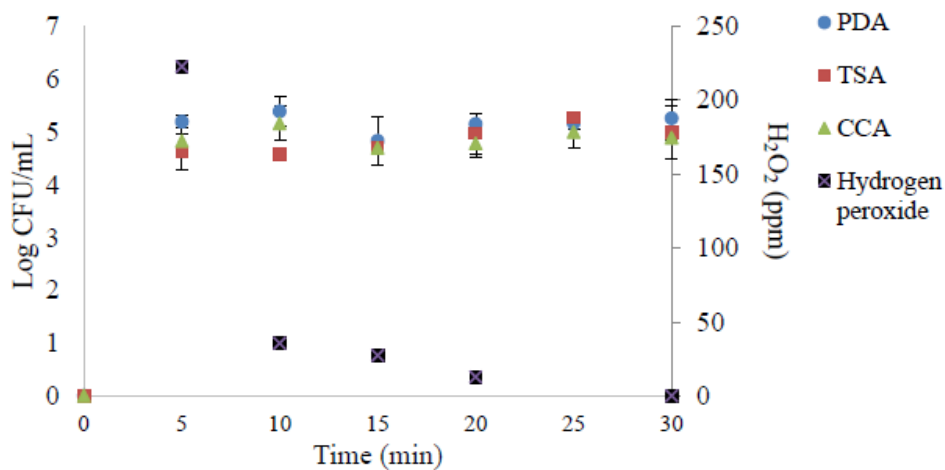
รูปที่ 4.1 ปริมาณเซลล์ของ *E. coli* ในอาหารที่แตกต่างกัน (PDA, TSA, และ CCA) ที่ 1% ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (v/v) เป็นฟังก์ชันกับเวลา

ในรูปที่ 4.2 ที่ความเข้มข้นของ H_2O_2 3% (v/v) ผลของการนับโคโลนี *E. coli* ที่เวลาการบ่มที่แตกต่างกันบนอาหาร PDA, TSA, และ CCA แสดงให้เห็นผลของการยับยั้งของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์พบว่ามีความน้อยมาก เมื่อมีการเติมผงยีสต์ที่อัตราส่วนของยีสต์และสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1:50 ถูกพบว่ามีประสิทธิภาพในการทำให้ความเป็นพิษของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นกลางที่ความเข้มข้นของสารละลายมากกว่า 5% เพื่อที่จะให้ได้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ยังคงเหลือในรูปที่ 4.2 ที่เวลาการบ่ม 30 นาทีถูกเลือกเพื่อที่จะกำจัดความเป็นไปได้ของผลยับยั้งของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ตามมาภายหลังการทดลอง



รูปที่ 4.2 ปริมาณเซลล์ของ *E. coli* ในอาหารที่แตกต่างกัน (PDA, TSA, และ CCA) ที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 3% (v/v) เป็นฟังก์ชันกับเวลา

ที่ 5% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (v/v) อัตราส่วน 1:50 ระหว่างยีสต์แห้งกับสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังคงถูกต้อง หลังจาก 30 นาที ไม่ปรากฏพบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ปริมาณของเซลล์ *E. coli* ที่นับได้ให้ปริมาณเซลล์ที่สอดคล้องเป็นอย่างมากและแสดงการใช้ยีสต์แห้งพบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัด ผลกระทบของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และไม่มีผลกับจำนวนของ *E. coli* ตามที่แสดงในรูปที่ 4.3 ปริมาณของ *E. coli* เซลล์ในอาหารแข็งทั้ง 3 ชนิดให้คุณภาพไม่เท่ากันแต่สามารถที่จะโตได้ใน log เดียวกันที่เวลาของการบ่มเดียวกัน จากผลการทดลอง อาหารแข็ง CCA ให้ปริมาณของเซลล์มากที่สุด และอาหารนี้มีความจำเพาะกับแบคทีเรีย *E. coli* ดังนั้น CCA agar ถูกใช้ในการเพื่อตรวจวิเคราะห์ในการทดลองนี้



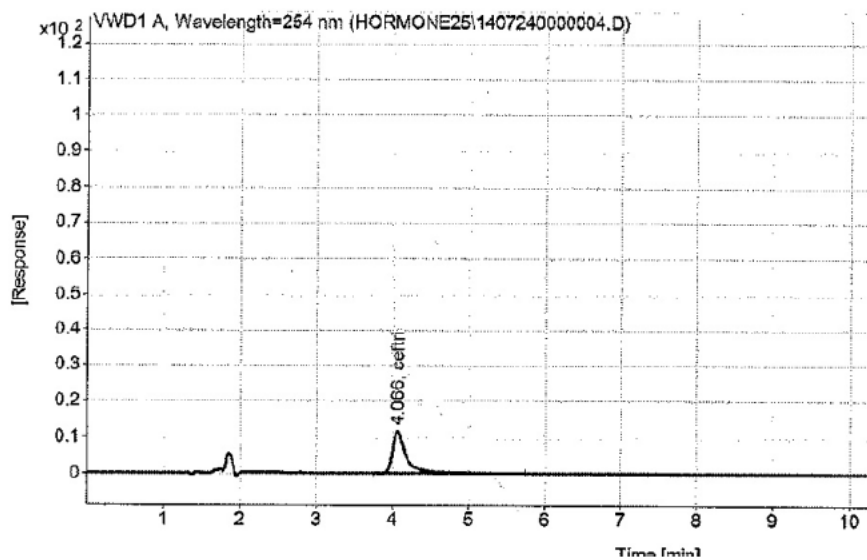
รูปที่ 4.3 ปริมาณเซลล์ของ *E. coli* ในอาหารที่แตกต่างกัน (PDA, TSA, และ CCA) ที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 5% (v/v) เป็นฟังก์ชันกับเวลา

4.2 การกำจัดยาปฏิชีวนะในแบบจำลองน้ำเสียโดยการบำบัดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

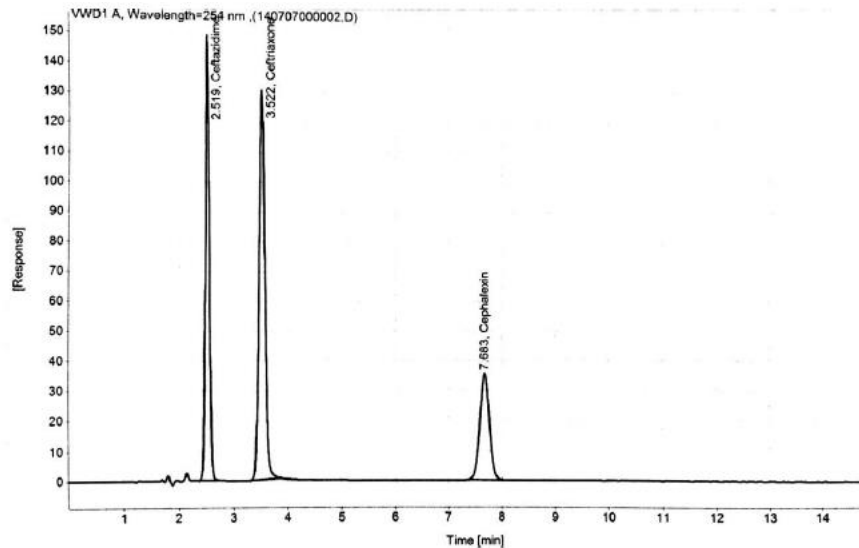
การทดลองถูกดำเนินการเพื่อสังเกตผลของการกำจัดยาปฏิชีวนะตกค้างด้วยการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบบจำลองยาปฏิชีวนะในน้ำเสียถูกเตรียมโดยที่ความเข้มข้น 60 และ 600 $\mu\text{g/mL}$ และความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ 1%, 3%, และ 5% (v/v) ปฏิริยาถูกดำเนินการจาก 1 นาที ถึง 2 ชั่วโมง และให้ความร้อนจนได้อุณหภูมิที่ประมาณ 60 ถึง 150 $^{\circ}\text{C}$ ตัวอย่างถูกนำมาวิเคราะห์ปริมาณของยาปฏิชีวนะตกค้างด้วยการใช้ HPLC และทำการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ผลการทดลองที่ได้ถูกใช้ในการตัดสินใจเวลาและอุณหภูมิที่ต้องการเพื่อให้ได้สภาวะที่ไม่สามารถที่จะตรวจพบยาปฏิชีวนะตกค้างในน้ำเสีย ผลการทดสอบถูกยืนยันกับผลของ HPLC และการทดสอบปริมาณเชื้อถูกทำให้มั่นใจว่าสารละลายจะไม่มีสารปฏิชีวนะตกค้างหลังจากการบำบัดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

4.2.1 แบบจำลองของน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะ

การปรากฏของสารยาปฏิชีวนะในน้ำล้างอุปกรณ์แรกถูกวิเคราะห์และโครมาโตแกรมของ HPLC ได้แสดงให้เห็นสาร ceftriaxone ถูกนำเสนอที่ปริมาณเฉลี่ยของ $10 \mu\text{g/mL}$ (รูปที่ 4.4) เพื่อที่จะให้บรรลุตามเป้าหมาย การวิเคราะห์ HPLC โดย 6 เท่าของความเข้มข้นของน้ำเสียเริ่มต้นถูกประยุกต์เพื่อสร้างแบบจำลองน้ำเสียในการศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยสารปฏิชีวนะที่ใช้ในการศึกษามี 2 ชนิด (ceftazidime และ cephalixin) ยาปฏิชีวนะเหล่านี้ถูกรวมอยู่ในกลุ่มที่ปนเปื้อนน้ำเสีย รูปที่ 4.5 แสดงให้เห็นการกระจายของพีคยาปฏิชีวนะที่ดีในโครมาโตแกรม HPLC เดียวกันของแบบจำลองน้ำเสียที่มีการใส่ความเข้มข้นของสาร 6 เท่า ($60 \mu\text{g/mL}$) หรือ แบบจำลองน้ำเสีย 1 เท่า ผลของโครมาโตแกรมของแต่ละแบบจำลองน้ำเสียแสดงให้เห็นพีคมีการกระจายตัวที่ดี ในแต่ละชนิดของยาปฏิชีวนะให้ retention time ที่แตกต่างกันที่เวลา 2.51, 3.52, และ 7.68 สำหรับ ceftazidime, ceftriaxone, และ cephalixin ตามลำดับ



รูปที่ 4.4 โครมาโตแกรม HPLC ของสาร ceftriaxone (โดยประมาณ $10 \mu\text{g/mL}$)



รูปที่ 4.5 โครมาโทแกรม HPLC ที่แสดงการกระจายของพีคที่ดีของ ceftazidime, ceftriaxone, และ cephalixin ของแบบจำลองน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะที่ความเข้มข้น 60 $\mu\text{g/mL}$

4.2.2 ความเข้มข้นของปริมาณ *E. coli* เบื้องต้นที่มีต่อการตรวจวิเคราะห์ *E. coli* ที่ความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะ

ในการทดลองนี้มุ่งเน้นไปที่ผลของปริมาณเชื้อ *E. coli* เริ่มต้นที่มีต่อความสามารถในการตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ที่ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่แตกต่างกัน ตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นความเข้มข้นของเชื้อ *E. coli* เริ่มต้นถูกศึกษาที่แตกต่างกันจาก 1 ไปเป็น 5 log CFU/mL และความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะถูก varied เป็น 3 ระดับคือ (0.01X, 0.1X, และ 1X) ยาปฏิชีวนะที่ทุกความเข้มข้นถูกดำเนินการด้วยการเจือจางด้วย 1 mL ของเชื้อ *E. coli* ใน 9 mL ของน้ำเกลือที่บรรจุความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะเดียวกัน ที่ความเข้มข้นของน้ำเสีย 1X ไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทุกความหนาแน่นของเชื้อเริ่มต้นที่ 10-fold ของการ dilution ของความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ มีบางส่วนที่บ่งบอกการยังมีชีวิตของ *E. coli* โดยเฉพาะเป็นพิเศษที่ความหนาแน่นของเซลล์สูง อย่างไรก็ตามกำลังความสามารถในการยับยั้งของสารยาปฏิชีวนะมีความแรงเป็นอย่างมากและไม่มีโคโลนีสังเกตให้เห็นที่ความเจือจาง 100-fold dilution ผลของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของยาปฏิชีวนะมีความอ่อนมาก ที่ปริมาณความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นที่สูง โคโลนี *E. coli* ถูกตรวจพบที่ dilution ที่เหมาะสม ที่ปริมาณของเซลล์เริ่มต้นมาก *E. coli* โคโลนี ถูกตรวจพบในบาง dilution ที่เหมาะสม ที่ปริมาณของเซลล์เริ่มต้นน้อยกว่าได้ปรากฏจุดโคโลนีของ *E. coli* ที่เจือจาง การสังเกตความสามารถในการยับยั้งของสารปฏิชีวนะที่ความเข้มข้นของสารสูงมากกว่า 0.01X และน้อยกว่าที่ minimum limit ดังนั้นผลของสารปฏิชีวนะค่อนข้างที่จะอ่อนเป็นอย่างมากในการใช้เป็นสารในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ 4.4 Photographs ของสารปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ที่ความเข้มข้น 10-fold แสดงให้เห็นความสามารถของความเข้มข้นของเชื้อโคโลนี *E. coli* เริ่มต้นที่มีต่อการเจริญของ *E. coli* ที่ความเข้มข้นของสารยาปฏิชีวนะที่หลากหลาย

Initial colony count (CFU)	Con trol	Antibiotic concentration															
		0.01X					0.1X					1X					
		10-fold dilution					10-fold dilution					10-fold dilution					
		0	-1	-2	-3	-4	-5	0	-1	-2	-3	-4	-5	0	-1	-2	-3
10 ⁵																	
10 ⁴																	
10 ³																	
10 ²																	
10 ¹																	
10 ⁰																	

4.2.3 ความต้านทานของผลของสาร ceftazidime (CAZ), ceftriaxone (CRO) และ cephalixin (LEX)

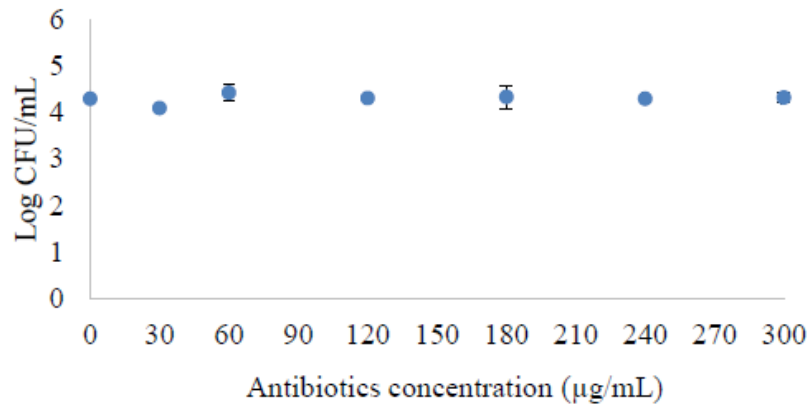
ที่มีต่อความเข้มข้นของแบคทีเรีย *E. coli*

ตารางที่ 4.6 แสดงให้เห็นผลทางจุลชีววิทยาของยาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อนในน้ำที่มีต่อการเจริญเติบโตของ *E. coli* ที่ความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะที่แตกต่างกัน การทดลองควบคุมได้จำลองเงื่อนไขที่ซึ่งไม่มีการเติมสารยาปฏิชีวนะแต่ถูกเติมเชื้อ *E. coli* ความเข้มข้นของเชื้อ *E. coli* เริ่มต้นถูกคำนวณที่ประมาณ 4 log CFU/mL ตามที่ได้เห็นในการทดลองก่อนหน้านี้ การลดลงของยาปฏิชีวนะได้พัฒนาการมีชีวิตอยู่ของ *E. coli* ในอาหาร CCA ที่ความเข้มข้น 30 µg/mL ผลของความสามารถในการยับยั้งของสารยาปฏิชีวนะถูกเห็นได้ชัด ในช่วงแรกของการบ่มเพาะเชื้อในภายหลังของการ dilution ถัดมาใช้สารละลายน้ำเกลือ ทั้งเซลล์ของ *E. coli* และยาปฏิชีวนะถูกเจือจางด้วย 10-fold ซึ่งแสดงให้เห็นเกิดการสูญเสียกำลังความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และที่ปริมาณของแบคทีเรียโคโลนี *E. coli* ที่มาก การเจือจางในภายหลังได้ส่งเสริมความหนาแน่นของเซลล์และทำให้สะดวกในการนับของโคโลนี ถึงแม้ว่าการเปิดรับของสารยาปฏิชีวนะ ปริมาณเซลล์ที่นับได้สุดท้ายยังคงสอดคล้องเห็นด้วยกับตัวอย่างที่ควบคุมในรูปแบบที่ 4.6 ในการทดลองนี้เพียงแค่สารปฏิชีวนะได้จัดการ biostasis แต่ไม่ biocidal ผลกระทบกับการเจริญเติบโตของ *E. coli* อย่างไรก็ตาม อาหารแข็งที่เป็น blank ของการเจือจางเริ่มต้นชี้ให้เห็นว่าส่วนที่เหลือของสารปฏิชีวนะในสารละลายที่ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่สูง อาหารแข็งเกิดปรากฏของโคโลนีใน dilution ถัดไป สำหรับตัวอย่างที่ 60 µg/mL ไม่ปรากฏโคโลนีบนอาหารแข็งที่อันแรกและ

อันที่สองของการเจือจาง ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองก่อนหน้านี้ (4.2.2) ที่ซึ่งผลกระทบของสารยับยั้งที่มีต่อช่วงความเข้มข้นแรก 2 dilution (10^0 และ 10^{-1}) ได้ถูกสังเกต เมื่อความแรงของสารยาปฏิชีวนะสูงขึ้นไปเป็น 5 เท่า ($300 \mu\text{g/mL}$) สารยาปฏิชีวนะได้ส่งผลให้ไม่ปรากฏของโคโลนีบนอาหารแข็งที่ 3 dilution เป็นที่สังเกตว่าที่ความเข้มข้นที่สูงมากของสารยาปฏิชีวนะให้ผลอย่างไม่มีนัยสำคัญที่มีต่อปริมาณเซลล์สุดท้ายที่นับได้ ปริมาณเซลล์สุดท้ายไม่ตอบสนองกับสารยาปฏิชีวนะถึงแม้จะสูงเป็น 5 เท่าเพิ่มขึ้นจากที่ระดับดั้งเดิม 1X ($60 \mu\text{g/mL}$) EI-Sukhon และ Boukhatem (2003) ได้นำเสนอการบำบัดด้วย ceftazidime ร่วมกับ imipenem ซึ่งเป็นการทำงานร่วมกัน การป้องกันผลกระทบกับ *E. coli* แบคทีเรียเนื่องจาก β -lactamase นำไปสู่การยับยั้งที่สูงของ ceftazidime

ตารางที่ 4.5 Photograph ของความสามารถในการต้านทานต่อยาปฏิชีวนะที่มีต่อ *E. coli* แบคทีเรียในอาหารแข็งจำเพาะ (chromogenic selective agar) CCA ด้วยความเข้มข้นที่ 10-fold dilution แสดงที่หลายหลายของความเข้มข้น

Antibiotic concentration ($\mu\text{g/mL}$)	<i>E. coli</i> count (CFU)					
	10-fold dilution					
	0	-1	-2	-3	-4	-5
0						
30						
60						
120						
180						
240						
300						












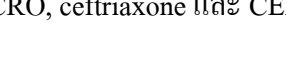
รูปที่ 4.6 ปริมาณเซลล์สุดท้ายของความสามารถในการต้านทานของยาปฏิชีวนะที่มีต่อแบคทีเรีย *E. coli* ที่หลากหลายของความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ

4.2.4 ผลของความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่มีต่อยาปฏิชีวนะความเข้มข้น 1X

ผลกระทบของความเข้มข้นของ H_2O_2 ในการทดลองนี้ ได้ถูกสังเกตที่อุณหภูมิต่ำที่หลายหลาย (60, 80, และ $100^\circ C$) ของการใช้ยาปฏิชีวนะความเข้มข้น 1X ในแบบจำลองน้ำเสีย ในการทดลองที่เป็นตัวอย่างควบคุมไม่ปรากฏสารยาปฏิชีวนะ การแนะนำของ *E. coli* แสดงให้เห็นความเข้มข้นสุดท้ายที่ 5 log CFU/mL (รูปที่ 4.7) และโคโลนี *E. coli* โตเป็นอย่างดีใน serial dilution order ในทุกอาหารแข็ง (รูปที่ 4.6) เมื่อ *E. coli* ได้ถูกบ่มเพาะ โดยการใช้ น้ำเสียที่ได้มีการบำบัดที่มียาปฏิชีวนะปรากฏ ผลการทดสอบยาปฏิชีวนะต่อการยับยั้งของเซลล์แสดงให้เห็นว่ามีปริมาณเซลล์น้อยและไม่มีโคโลนีปรากฏที่ปริมาณของยาปฏิชีวนะที่น้อย ผลกระทบของยาปฏิชีวนะลดลงกับ serial dilution ที่เพิ่มขึ้น มีการฟอร์มของโคโลนีที่น้อยบนอาหารแข็งที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงที่ -5 dilution แสดงให้เห็นผลกระทบที่มีต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่ไม่ได้บำบัดด้วยยาปฏิชีวนะ โครมาโทแกรมของ HPLC สังเกตการทดลองที่ 1% H_2O_2 สามารถที่จะลดความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะได้ทุกชนิด ระดับการทำลายของยาปฏิชีวนะสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและเวลาในการบ่มที่นานขึ้น ผลของยาปฏิชีวนะที่เหลืออยู่ปรากฏจากการบำบัดด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกันและเวลาในการบ่มที่แตกต่างกัน ได้นำเสนอความยืดหยุ่นที่แตกต่างกันของสปีชีส์แอนติไบโอติกที่แตกต่างกัน ผลจากการทดลองดูเหมือนว่าได้ชี้ให้เห็นลำดับของ bio-recalcitrance ดังต่อไปนี้ ceftazidime > ceftriaxone > cephalixin มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการแยกยาปฏิชีวนะที่แตกต่างกันของยาปฏิชีวนะ (tetracyclines > sulfonamides > quinolones) ในการบำบัดสิ่งปฏิกูลด้วยวิธีทั่วไป (STP) สามารถกำจัด tetracyclines ได้ 87.9% (Xu et. al.,

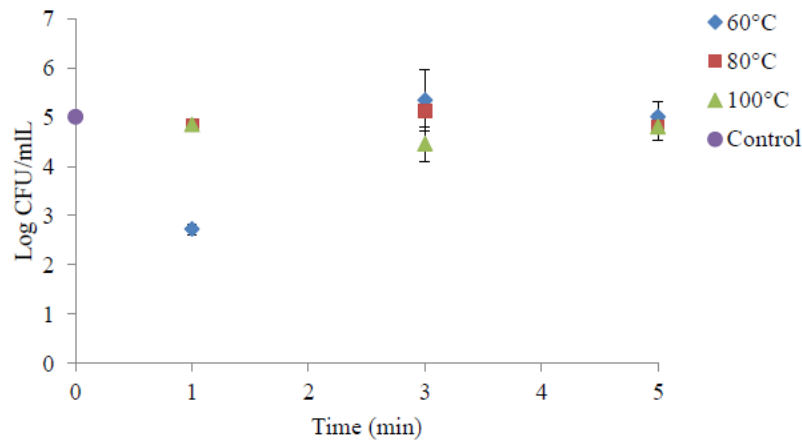
2015) ความเข้มข้นที่ 1% H₂O₂ สามารถที่จะทำให้เสื่อมสภาพได้ 86.23% ของ ceftazidime ภายใน 5 นาทีของการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C

ตารางที่ 4.6 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการบ่มของ 1% H₂O₂ ที่มีต่อการ degradation ของยาปฏิชีวนะในน้ำเสีย

Initial antibiotic concentration (µg/mL)	Treated temperature (°C)	Incubation time (min)	Residual antibiotic after treated (µg/mL)			<i>E. coli</i> count (CFU)							
			CAZ	CRO	LEX	10-fold serial dilution							
						0	-1	-2	-3	-4	-5		
0 (Control)	27	N/A	0	0	0								
60	60	1	43.27	55.11	44.31								
		3	37.78	45.80	37.79								
		5	34.74	41.61	34.52								
	80	1	1	46.10	30.91	34.68							
			3	20.14	3.91	18.15							
			5	12.78	1.152	11.56							
		100	1	1	15.74	2.56	1.75						
				3	2.56	2.52	2.16						
				5	0.06	2.43	0						

ตัวย่อของสารยาปฏิชีวนะจำเพาะเป็นดังนี้ CAZ, ceftazidime; CRO, ceftriaxone และ CEX, cephalixin
N/A = not applicable











ความสามารถในการ oxidizing ของ OH เรดิคัลที่ถูกสร้างขึ้นโดย AOPs ได้มีการจำลองเพื่อที่จะกำจัดสารออร์แกนิกธรรมชาติในตัวอย่างน้ำดิบผ่านการออกซิเดชันด้วยสารเคมี (Lamsal et. al., 2011) กลไกการเสื่อมสลายอยู่บนพื้นฐานของสารเคมีของ OH เรดิคัล ซึ่งจะไปออกซิเดชันสารมลพิษและเกิดเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็น CO₂ และสารอนินทรีย์ (Cesaro et. al., 2013)



รูปที่ 4.7 จำนวนของโคโลนี *E. coli* ที่เวลาในการบ่มที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นผลของอุณหภูมิ และ 1% H_2O_2 (v/v) ในแบบจำลองน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะ

ใน UV- และ O_3 บนพื้นฐานจาก AOPs การพัฒนาประสิทธิภาพการทำลาย phenol โดยการพัฒนาของความเข้มข้นของ H_2O_2 ถูกสังเกตและการเติม H_2O_2 สามารถที่จะปรับปรุงการทำให้เป็นแร่ธาตุของฟีนอลในแบบจำลองน้ำเสีย (Kusic et. al., 2006) การบำบัดด้วย UV/ H_2O_2 ถูกใช้ในการทำลายสารเคมีมลพิษและยาปฏิชีวนะในสารละลายและน้ำเสียที่ได้มีการทดสอบด้วยการเติมสารที่เกี่ยวข้องกับยา 40 ชนิด และแสดงให้เห็นองค์ประกอบเหล่านี้สามารถที่จะทำให้เสื่อมสภาพโดยตรงโดย H_2O_2 โดยปราศจากการฉายด้วย UV (Wol et. al., 2013) ในการศึกษานี้ ยาบางตัว เช่น tramadol, terbutaline, และ penicillin V ถูกหายไปหลังจากมีการเติม H_2O_2 ในตัวอย่างน้ำ ในขณะที่องค์ประกอบอื่นๆ สำหรับตัวอย่าง pindolol, salbutamol, lincomycin, และ clindamycin แสดงให้เห็นความเข้มข้นที่มากกว่าความเข้มข้นเริ่มต้น

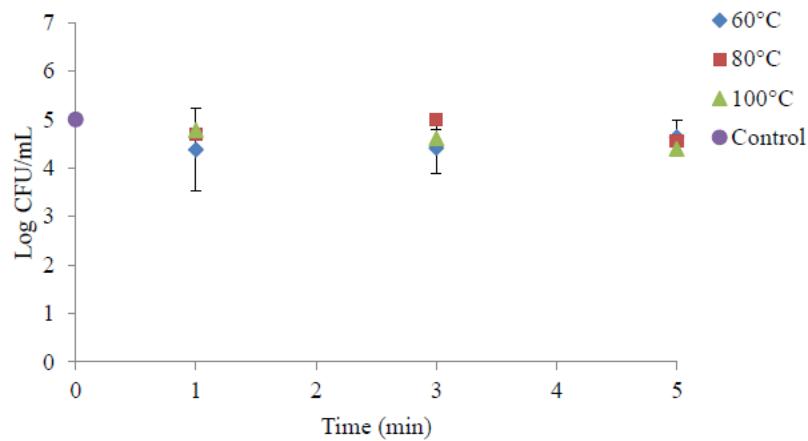
ตารางที่ 4.7 ผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการบ่มของ 3% H₂O₂ ของการบำบัดในการทำลายสภาพของยาปฏิชีวนะในน้ำเสีย

Initial antibiotic concentration (µg/mL)	Treated temperature (°C)	Incubation time (min)	Residual antibiotic after treated (µg/mL)			<i>E. coli</i> count (CFU)					
			CAZ	CRO	LEX	10-fold dilution					
						0	-1	-2	-3	-4	-5
0 (Control)	27	N/A	0	0	0						
60	60	1	40.40	41.55	35.15						
		3	26.81	38.07	25.76						
		5	25.93	32.27	22.93						
	80	1	30.18	34.21	32.93						
		3	22.57	9.74	24.97						
		5	18.91	0	0						
	100	1	31.95	17.41	31.90						
		3	16.28	9.91	0						
		5	8.26	0	0						

ตัวย่อของสารยาปฏิชีวนะจำเพาะเป็นดังนี้ CAZ, ceftazidime; CRO, ceftriaxone และ CEX, cephalixin

N/A = not applicable









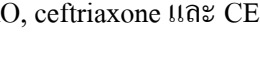

ความเข้มข้นของ H₂O₂ ที่มากกว่าสามารที่จะทำลายยาปฏิชีวนะได้มากเพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารตกค้างในปริมาณที่น้อย สารยาปฏิชีวนะที่ยังคงเหลืออยู่โดยทั่วไปน้อยกว่า 5% H₂O₂ มากกว่าที่ 3% H₂O₂ (ตารางที่ 4.7 และ 4.8) ตามที่ได้เห็นก่อนหน้านี้ อุณหภูมิการบำบัดที่สูงขึ้นสามารถที่จะทำให้เกิดเงื่อนไขของการ oxidation ที่มีความแข็งแรง ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่มีการผลิตไฮดรอกซิลเรดิคัล OH ที่เป็นจำนวนมาก การบำบัดที่ 100°C ทั้ง ceftriaxone และ cephalixin ปริมาณยาปฏิชีวนะทั้งหมดถูกกำจัดออกจากแบบจำลองของน้ำเสียและเพียงแคร์องรอยของ ceftriaxone ถูกตรวจวิเคราะห์ การประเมินความเป็นพิษของยาปฏิชีวนะที่มีต่อเซลล์ *E. coli* สอดคล้องกับผลที่ได้จาก HPLC ใน well ของอาหาร CCA ที่ไม่ได้มีการเจือจาง แสดงให้เห็นตัวบ่งชี้ของการเจริญเติบโตของ *E. coli* ที่อุณหภูมิการบำบัดที่สูงกว่าและใช้เวลาในการบ่มนาน เหมือนกับเงื่อนไขที่เป็นตัวอย่างควบคุม (ตารางที่ 4.7 และ 4.8) ปริมาณเซลล์ *E. coli* สุดท้ายแสดงให้เห็นจำนวนที่สอดคล้องกันประมาณ 5 log CFU/mL ที่ทุกเวลาของการทดลอง



รูปที่ 4.8 ปริมาณโคโลนี *E. coli* ที่นับได้ที่เวลาในการบ่มที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นผลของอุณหภูมิและ 3% ของการบำบัดด้วย H_2O_2 (v/v) ในรูปแบบจำลองน้ำเสียที่มียาปฏิชีวนะ

ในทุกการทดลองของ 5% H_2O_2 ที่อุณหภูมิ 100°C โดยเฉพาะเป็นพิเศษแสดงให้เห็นการฟอร์มของโคโลนีที่ดีในทุกการเจือจาง ถึงแม้ที่ไม่มีเจือจางชี้ให้เห็นว่าไม่มียาปฏิชีวนะตกค้างส่งผลให้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนี *E. coli* เหมือนกับความเข้มข้นที่สูงเหล่านั้นของยาปฏิชีวนะตกค้าง การเริ่มต้นของจำนวน *E. coli* แสดงให้เห็นปริมาณเซลล์สุดท้ายที่ 5 log CFU/mL (รูปที่ 4.9) ผลการวิเคราะห์ HPLC สอดคล้องตรงกันกับจำนวน *E. coli* ที่ได้นำเสนอ ความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่สูงสามารถที่จะลดความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะได้ดี ระดับการทำลายฤทธิ์ของสารปฏิชีวนะถูกเพิ่มขึ้นด้วยอุณหภูมิของการบำบัดที่สูง และเวลาในการให้ความร้อนที่นาน ผลของยาปฏิชีวนะตกค้างที่ยังคงมีอยู่จากการทดลองบำบัดที่แตกต่างกันด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกันและเวลาในการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน ได้เสนอแนะความสามารถในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะที่แตกต่างกันที่จะส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ดังแสดงในตารางที่ 4.8

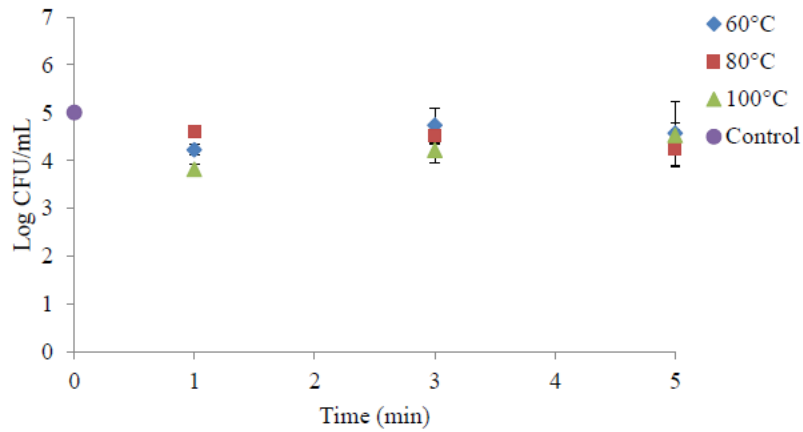
ตารางที่ 4.8 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนของ 5% H₂O₂ ที่มีต่อการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในน้ำเสีย

Initial antibiotic concentration (µg/mL)	Treated temperature (°C)	Incubation time (min)	Residual antibiotic after treated (µg/mL)			<i>E. coli</i> count (CFU)					
			CAZ	CRO	LEX	10-fold dilution					
						0	-1	-2	-3	-4	-5
0 (Control)	27	N/A	0	0	0						
60	60	1	50.00	40.62	42.18						
		3	44.78	30.51	35.03						
		5	35.32	17.55	22.56						
	80	1	6.35	2.15	0						
		3	3.67	1.41	0						
		5	2.02	1.74	0						
	100	1	5.10	0	0						
		3	2.72	0	0						
		5	1.40	0	0						

ตัวย่อของสารยาปฏิชีวนะจำเพาะเป็นดังนี้ CAZ, ceftazidime; CRO, ceftriaxone และ CEX, cephalixin

N/A = not applicable

มีการศึกษาที่ประสบความสำเร็จในการสาธิตใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่น้อยในการบำบัดน้ำที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะด้วย UV/H₂O₂ (Souza et. al., 2014) อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ปริมาณน้อยสามารถลดความสามารถในการทำลายที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหรือการแปรเป็นแร่ธาตุของสารออร์แกนิกแมทเทอร์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ปริมาณความเข้มข้นมาก นอกเหนือจากนั้นสามารถที่จะทำลายฤทธิ์ขององค์ประกอบยาปฏิชีวนะในน้ำเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพ วิธีหนึ่งในการเพิ่ม OH เรดิคอลลในการออกซิเดชันที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ปริมาณน้อยด้วยการยืดเวลาหรือขยายเวลาในการให้ความร้อนและยอมให้ OH เรดิคอลลทำปฏิกิริยาที่ยาวนานในกระบวนการแอดวานซ์ออกซิเดชัน



รูปที่ 4.9 ปริมาณของโคโลนีที่นับได้ที่เวลาการบ่มที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นผลของอุณหภูมิและ 5% H_2O_2 ในการบำบัด (v/v) ในแบบจำลองน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะ

4.2.5 การยืดเวลาของการบำบัดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่อุณหภูมิ $100^\circ C$

ในการทดลองนี้ ช่วงเวลาของการบ่มได้ถูกขยายจากที่เวลามากที่สุดจาก 5 นาทีเป็นถึง 2 ชั่วโมง เมื่อเวลาในการบ่มได้ถูกขยายออกไป เวลาในการสัมผัสที่นานขึ้นเพื่อกระบวนการออกซิเดชัน ที่ 1% ของการบำบัดด้วย H_2O_2 ได้ให้ระดับของการทำลายฤทธิ์ของสารยาปฏิชีวนะที่สูง (ตารางที่ 4.9) ซึ่งที่ 10 นาที ทั้ง ceftriaxone และ cephalexin โดยทั่วไปได้ถูกกำจัด ด้วย 1% ของการบำบัดด้วย H_2O_2 cefazidime ต้องการเวลามากกว่า 2 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ปริมาณโดยรวมที่สามารถกำจัดได้ในน้ำเสีย เมื่อความเข้มข้นของ H_2O_2 ถูกเพิ่มขึ้นเป็น 3% และ 5% โดยเวลาในการให้ความร้อนถูกลดลงเป็น 60 และ 30 นาที ตามลำดับ ด้วยเวลาในการให้ความร้อนที่ยาวนาน มันถูกเป็นไปได้เพื่อการออกซิไดซ์ cefazidime ได้ อย่างสมบูรณ์สำหรับช่วงเวลาแรก ตรงกันข้ามกับเวลาในการบ่มที่สั้นในการทดลองการหน้ำนี้

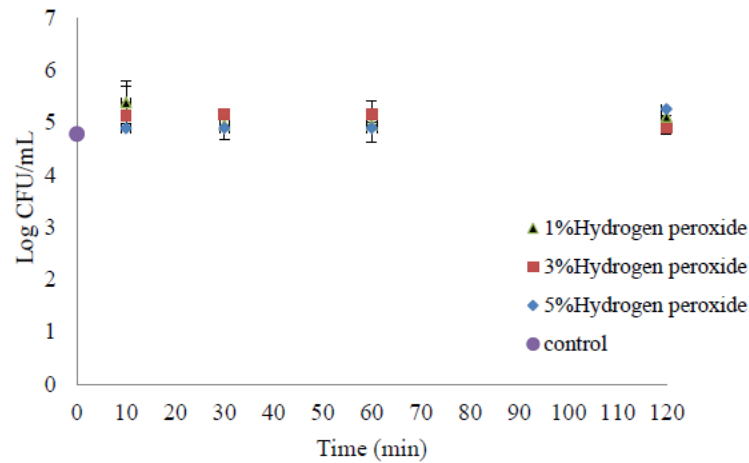
ผลการทดลองจะถูกเปรียบเทียบคุณภาพความสามารถในการทำลายฤทธิ์ของสารปฏิชีวนะในตัวอย่างเหล่านี้ด้วยการประเมินจากการนับปริมาณของเชื้อ *E. coli* มันถูกชี้ให้เห็นว่า cefazidime มีความคงทนเป็นอย่างมากท่ามกลางสารปฏิชีวนะที่ใช้ทดสอบ 3 ชนิด การทดลองทั้งหมดที่นับปริมาณของ *E. coli* ได้ชี้ให้เห็นว่าสารปฏิชีวนะที่ยังคงหลงเหลือมีปริมาณน้อยมากและไม่มีผลกับการเจริญเติบโตของ *E. coli* ในทุกความเจือจาง เวลาการบ่มที่นานได้ส่งผลกระทบต่อกระบวนการ oxidation ของสารปฏิชีวนะ มีบางโคโลนีที่ปรากฏให้เห็นการเจริญเติบโตเหมือนกับ dilution ที่ควบคุมที่ปราศจากการเติมสารปฏิชีวนะ ที่ การเจือจางแรกของตัวอย่างสารปฏิชีวนะไม่ปรากฏโคโลนีให้เห็นถึงแม้จะได้เพิ่มเวลาการบ่ม ปริมาณของเซลล์ *E. coli* สุดท้ายที่นับได้ประมาณ 5 log CFU/mL ในทุกเวลาของการบำบัด (รูปที่ 4.10)

ตารางที่ 4.9 ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการบำบัดที่ 100 °C และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นเป็น 1, 3, และ 5% ของการทดลองที่มีต่อการทำลายฤทธิ์ของสารปฏิชีวนะในน้ำเสีย

Initial antibiotic concentration (µg/mL)	Incubation time (min)	% H ₂ O ₂	Residual antibiotic after treated (µg/mL)			<i>E. coli</i> count (CFU)						
			CAZ	CRO	LEX	10-fold dilution						
						0	-1	-2	-3	-4	-5	
0 (Control)	0	N/A	0	0	0							
60	10	1	4.314	0	0							
			0.894	0	0							
			0.834	0	0							
			0	0	0							
	30	3	3	3.45	0	0						
				0.426	0	0						
				0	0	0						
				0	0	0						
	60	5	5	2.232	0	0						
				0	0	0						
				0	0	0						
				0	0	0						

ตัวย่อของสารยาปฏิชีวนะจำเพาะเป็นดังนี้ CAZ, ceftazidime; CRO, ceftriaxone และ CEX, cephalixin

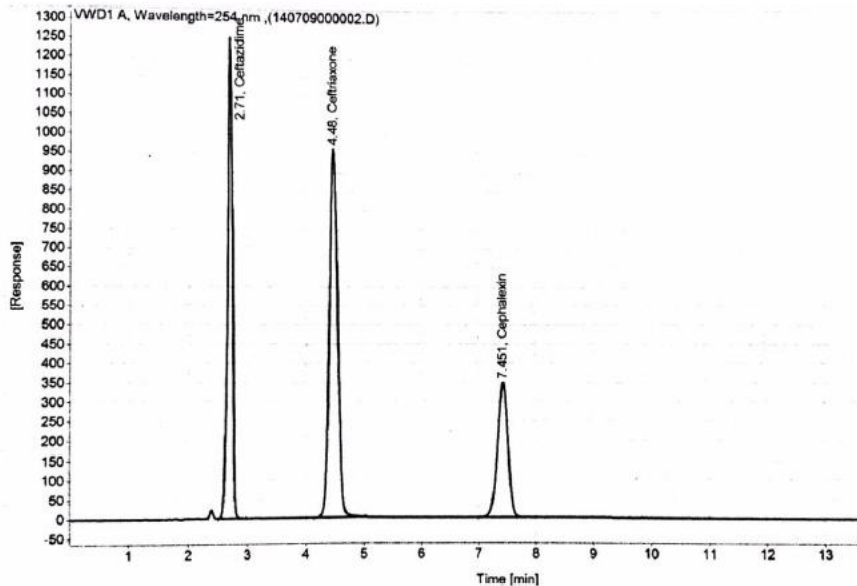
N/A = not applicable



รูปที่ 4.10 ปริมาณของ *E. coli* ที่นับได้ที่อุณหภูมิ 100 °C และเวลาในการบ่มของการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 1, 3, และ 5% (v/v)

4.2.5 แบบจำลองน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะ 10 เท่า

ตามที่เกิด oxidizing ที่แรงที่เป็นผลมาจากการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับอุณหภูมิสูงได้ถูกสังเกตสำหรับ 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ของสารยาปฏิชีวนะ ความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะที่สูงที่ 10 เท่ามีความแรงกว่าการทดลองก่อนหน้านี้ที่ได้ถูกเตรียมเพื่อทดสอบการประยุกต์ใช้ H_2O_2 ที่อุณหภูมิสูงกว่าจุดเดือด ความเข้มข้นของ ceftazidime, ceftriaxone, และ cephalexin เพิ่มขึ้นเป็น 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ตามที่แสดงผลในโครมาโตแกรม HPLC (รูปที่ 4.11) โดยเฉพาะที่ 5% ของ H_2O_2 ได้ถูกใช้และอุณหภูมิในการบำบัดที่เพิ่มขึ้นอย่างเป็นเส้นตรงจาก 100 ถึง 150 °C ที่แบบจำลองการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะในน้ำเสียที่ความเข้มข้น 1X ก่อนหน้านี้ โครมาโตแกรม HPLC ของยาปฏิชีวนะในน้ำเสียแบบจำลองที่ 10x ได้แสดงให้เห็นการกระจายตัวของพีคที่ดีของยาปฏิชีวนะ ceftazidime, ceftriaxone, และ cephalexin โดยให้ retention time ที่เวลาต่าง ๆ กันที่ 2.71, 4.48, และ 7.45 ตามลำดับ



รูปที่ 4.11 โครมาโตแกรมของ HPLC ที่แสดงการกระจายของพีคที่ดีของ ceftazidime, ceftriaxone, และ cephalixin ของแบบจำลองน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะที่ความเข้มข้น 600 $\mu\text{g/mL}$

4.2.5 ผลของอุณหภูมิสูงที่มีต่อแบบจำลองน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสารปฏิชีวนะ 10 เท่า

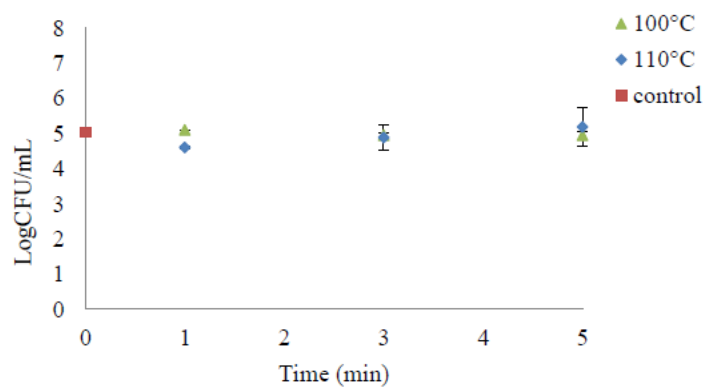
จากการสังเกตที่ความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะน้อยและสภาวะเงื่อนไขที่การบำบัดด้วยเวลาในการให้ความร้อนที่น้อย ceftazidime ยังคงเป็นสารปฏิชีวนะที่มีความยืดหยุ่นท่ามกลางสารปฏิชีวนะทั้ง 3 ชนิด (รูปที่ 4.10 และ 4.11) ตามที่ได้เห็นพบว่าที่อุณหภูมิต่ำของการทำลายที่สมบูรณ์ของ ceftazidime อาจจะต้องเวลาสัมผัสที่นาน อย่างไรก็ตามการ oxidative ที่แข็งแกร่งด้วยสภาพแวดล้อมที่ทดสอบหรือ 5% H_2O_2 ที่อุณหภูมิ 100 และ 110°C ไม่สามารถที่จะกำจัดสารยาปฏิชีวนะได้หมดจากแบบจำลองน้ำเสียที่มีการปนเปื้อน (ตารางที่ 4.10) การยืดเวลาในการทำปฏิกิริยาบางที่อาจสามารถที่จะทำลายฤทธิ์ของสารยาปฏิชีวนะต่อไป ดังนั้นในการทดลองที่นำเสนอเรื่องของอุณหภูมิถูกเพิ่มขึ้น แม้ที่ 10 เท่าของความเข้มข้น การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิในการบำบัดร่วมกับ 5% H_2O_2 ได้แสดงให้เห็นว่ามีการทำลายให้เสื่อมสภาพที่เร็วและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของสารปฏิชีวนะที่ปริมาณความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะที่น้อยในการทดลองก่อนหน้านี้ ปริมาณเซลล์สุดท้ายของ *E. coli* ที่นับได้ประมาณ 5 log CFU/mL ในทุกเวลาของการทดลอง (รูปที่ 4.12)

ตารางที่ 4.10 ผลของอุณหภูมิที่ 100 ถึง 110°C และเวลาในการต้มของ 5% H₂O₂ ในการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของสารปฏิชีวนะ 10X

Initial antibiotic concentration (µg/mL)	Treated temperature (°C)	Incubation time (min)	Residual antibiotic after treated (µg/mL)			<i>E. coli</i> count (CFU)					
			CAZ	CRO	LEX	10-fold dilution					
						0	-1	-2	-3	-4	-5
0 (Control)	27	N/A	0	0	0						
600	100	1	20.82	8.82	8.04						
		3	18.48	6.94	3.78						
		5	15.18	3.76	1.04						
	110	1	20.98	7.08	2.88						
		3	13.7	5.78	1.62						
		5	9.9	3.1	0.68						

ตัวย่อของสารยาปฏิชีวนะจำเพาะเป็นดังนี้ CAZ, ceftazidime; CRO, ceftriaxone และ CEX, cephalixin

N/A = not applicable







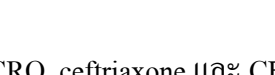


รูปที่ 4.12 ปริมาณ *E. coli* ที่นับได้ที่อุณหภูมิแตกต่างกันที่ 100 ถึง 110°C และเวลาในการต้มของการทดลอง 5% H₂O₂ (v/v) (ปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 600 µg/mL)

อย่างไรก็ตาม 5% H₂O₂ ร่วมกับการใช้อุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมิจุดเดือดบรรยากาศเหมือนจะทำให้เกิดการ oxidation ที่แข็งแรงที่จะมีผลกับความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะในแบบจำลองน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะ (600 µg/mL) ทั้ง ceftriaxone และ cephalixin ได้ถูกทำลายอย่างสมบูรณ์ในระดับที่ไม่สามารถตรวจพบภายใน 5 นาที สำหรับการให้ความร้อนที่ 120°C (ตารางที่ 4.11) เมื่อ

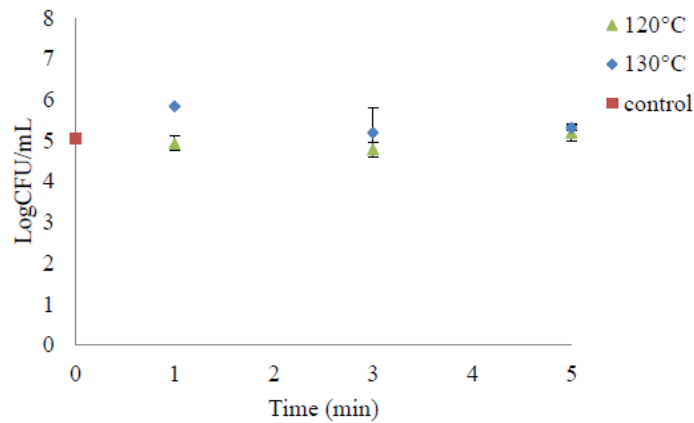
อุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 130°C เวลาในการบ่มถูกทดลองเป็น 1 นาที เพื่อให้ได้ปริมาณทั้งหมดของ ceftriaxone และ cephalixin ที่จะกำจัดออกจากแบบจำลองน้ำเสีย ในขณะที่ปริมาณทั้งหมดของ ceftazidime ได้ถูกทำลายประมาณ 95% ปริมาณสุดท้ายของ *E. coli* ที่นับได้ 5 log CFU/mL ในทุกเวลาของการทดลอง (รูปที่ 4.13) การเจือจางแรกของตัวอย่างสารปฏิชีวนะไม่ได้ปรากฏโคโลนีของ *E. coli* ตามที่ได้แสดงในตารางที่ 4.11 มีบางโคโลนีที่มีการเจริญเติบโตเหมือนกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการเติมสารปฏิชีวนะ ผลจากการวิเคราะห์ HPLC ที่แตกต่างกันซึ่งยังคงปรากฏมีปริมาณของยาปฏิชีวนะที่หลงเหลืออยู่ การทดลองปริมาณของ *E. coli* ที่นับได้ชี้ให้เห็นว่าปริมาณสารปฏิชีวนะที่ตกค้างที่ยังคงหลงเหลืออยู่ในความเข้มข้นที่ต่ำไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *E. coli* ในทุก dilution

ตารางที่ 4.11 ผลของอุณหภูมิที่ 120 ถึง 130°C และเวลาในการบ่มของการทดลองด้วย 5% H₂O₂ ในน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนสารปฏิชีวนะ 10X ในการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะในแบบจำลองน้ำเสีย

Initial antibiotic concentration (µg/mL)	Treated temperature (°C)	Incubation time (min)	Residual antibiotic after treated (µg/mL)			<i>E. coli</i> count (CFU)					
			CAZ	CRO	LEX	10-fold dilution					
						0	-1	-2	-3	-4	-5
0 (Control)	27	N/A	0	0	0						
600	120	1	17.3	1.78	2.7						
		3	12.46	0.66	1.02						
		5	3.72	0	0						
	130	1	26.94	0	0						
		3	10.2	0	0						
		5	1.26	0	0						

ตัวย่อของสารยาปฏิชีวนะจำเพาะเป็นดังนี้ CAZ, ceftazidime; CRO, ceftriaxone และ CEX, cephalixin

N/A = not applicable



รูปที่ 4.13 ปริมาณ โคโลนี *E. coli* ที่นับได้ที่อุณหภูมิแตกต่างกันที่ 120 ถึง 130°C และเวลาในการบ่มของการทดลอง 5% H₂O₂ (v/v) (ปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 600 µg/mL)

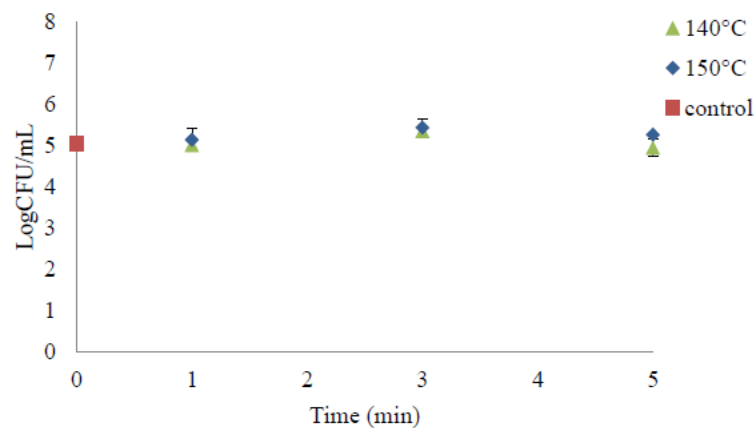
ถึงอย่างนั้นก็ตามเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นมากกว่า 140°C การบำบัดด้วย 5% H₂O₂ สามารถที่จะออกซิไดซ์สาร ceftazidime ไปเป็นระดับที่ไม่สามารถตรวจพบเจอภายใน 1 นาที (ตารางที่ 4.12) ตามที่ได้เห็นก่อนหน้านี้ที่อุณหภูมิต่ำ การทำลายของ ceftazidime ที่สมบูรณ์อาจต้องการเวลาสัมผัสที่นาน การวิเคราะห์ทั้ง HPLC และการทดสอบทางจุลชีววิทยา แสดงให้เห็นว่าสามารถแยกสารยาปฏิชีวนะออกได้อย่างหมดสมบูรณ์ ดังนั้นมีการเจริญเติบโตของโคโลนีเหมือนกับ dilution ที่เป็น control เชื้อ *E. coli* สามารถที่จะแข็งแรงเพิ่มจำนวนจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 4.60±0.01 ไปเป็น 5.34±0.04 log CFU/mL ซึ่งได้แสดงในรูปที่ 4.14 เทคโนโลยีนี้มีประสิทธิภาพสำหรับการกำจัดทำลายยาปฏิชีวนะในโรงงานอุตสาหกรรมยา (Joss et. al., 2005; Clara et. al., 2005)

ตารางที่ 4.12 ผลของอุณหภูมิที่ 140 ถึง 150°C และเวลาในการให้ความร้อนของ 5% H₂O₂ ในการบำบัดทำลายยาปฏิชีวนะที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย 10X

Initial antibiotic concentration (µg/mL)	Treated temperature (°C)	Incubation time (min)	Residual antibiotic after treated (µg/mL)			<i>E. coli</i> count (CFU)					
			CAZ	CRO	LEX	10-fold dilution					
						0	-1	-2	-3	-4	-5
0 (Control)	27	N/A	0	0	0						
600	140	1	0.00	0.00	0.00						
		3	0.00	0.00	0.00						
		5	0.00	0.00	0.00						
	150	1	0.00	0.00	0.00						
		3	0.00	0.00	0.00						
		5	0.00	0.00	0.00						

ตัวย่อของสารยาปฏิชีวนะจำเพาะเป็นดังนี้ CAZ, ceftazidime; CRO, ceftriaxone และ CEX, cephalixin

N/A = not applicable



รูปที่ 4.14 ปริมาณ โคโลนีที่นับได้ที่อุณหภูมิในการให้ความร้อน 140°C ถึง 150°C และเวลาในการบ่มของ 1, 3, และ 5% H₂O₂ (v/v) (ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 600 µg/mL)

กลไกการออกซิเดชันของ H₂O₂ ที่อุณหภูมิสูงได้ถูกนำเสนอเพื่อติดตามแนวคิดของการเกิดไฮดรอกซิลเรดิคอลและการ oxidation โดย AOPs อื่นๆ ที่มีอยู่ (Zhang et. al., 2010; Luiz et. al., 2012; Rosario-Ortiz

et. al., 2010) H_2O_2 ได้ให้สารเริ่มต้นที่เพียงพอสำหรับไฮดรอกซิลเรดิคัลที่เกิดขึ้นและปฏิกิริยานี้ถูกเร่งโดยการใช้อุณหภูมิสูงในการผลิตสารไฮดรอกซิลเรดิคัลในปริมาณที่มาก ซึ่งสามารถเกิดได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ สมการ Eq.(4.1) การใช้ UV/ H_2O_2 เพื่อออกซิไดซ์สารฮอร์โมนที่สังเคราะห์ (ethinyl estradiol) สมการ (4.1) – (4.3) ได้ถูกสังเกตเพื่อให้เป็นไปตาม pseudo-first order kinetics ได้แสดงให้เห็นอัตราการคงที่ที่สูงเมื่อความเข้มข้นของ H_2O_2 มากขึ้น เห็นด้วยอย่างดีกับข้อมูลการทดลองที่แสดงให้เห็นการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะที่สูงกว่าเป็นผลจากความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่สูงและอุณหภูมิที่สูงกว่า



การเติม H_2O_2 สามารถที่จะทำให้อัตราการทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะดีขึ้นตลอดจนการเพิ่มความเข้มข้นของไฮดรอกซิลเรดิคัล อย่างไรก็ตามการปรับปรุงพัฒนาการทำลายฤทธิ์ของสารยาปฏิชีวนะจากการเพิ่มความเข้มข้นของ H_2O_2 ไม่ได้ถูกสังเกต การที่อุณหภูมิต่ำน้อยกว่า $60^\circ C$ การศึกษาบางงานวิจัยได้รายงานว่ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มากเกินไปจะเป็นสิ่งที่ไม่ดีในการยับยั้งอัตราการ oxidation (Yue และ Legrini, 1992; Muruganandham และ Swaminathan, 2004) การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิเป็นไปได้ในการเร่งสมการ (4.1) – (4.3) ให้ไปข้างหน้าและอาจจะเกิดการเกิดออกซิเดชันแบบอัตโนมัติโดย H_2O_2 ตามที่ได้เสนอในสมการ (4.4) – (4.5)



ที่อุณหภูมิสูงขึ้น การทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะได้ถูกจำกัดที่ความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่น้อยเนื่องจากมีปริมาณของไฮดรอกซิลเรดิคัลที่ไม่เพียงพอ ความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลการทำลายสารยาปฏิชีวนะ Petrovic และคณะ (2011) ได้รายงานไฮดรอกซิลเรดิคัลทำปฏิกิริยาด้วยอัตราการซึมผ่านที่ควบคุมและเกี่ยวข้องกับสารปรอทของวงอะโรมาติกใน photoreactivity กับ TiO_2 ไฮดรอกซิลเรดิคัลสามารถที่จะออกซิไดซ์สารยามาแมลง ใน cephalosporins โครงสร้างพื้นฐานประกอบไปด้วย four-member b-lactam ring ซึ่งการบำบัดด้วย ozone/ H_2O_2 ได้แสดงให้เห็นการลดของสารสังเคราะห์ในน้ำเสียที่บรรจุ ceftriaxone โดยมากกว่า 90% (Balcioglu และ Otter, 2003) ผู้วิจัยได้ใช้ค่าการดูดกลืนแสง

ที่ 254 นาโนเมตรและรายงานประสิทธิภาพในการทำลายวงอะโรมาติกในโมเลกุลของ ceftriaxone อย่างไรก็ดีตามไม่มีการทำลายผลิตภัณฑ์พลอยได้โดยได้ถูกบ่งชี้สำหรับการทำลาย ceftriaxone ด้วย โอโซนหรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ถึงแม้ว่าในยูรีนได้รายงานผลิตภัณฑ์พลอยได้ของ cephalosporin เป็น 2 intermediates จากการทำลายสภาพของสารยาปฏิชีวนะรวมถึง 5-methyl-1,3,4-thiadiazole-2-thiol และ 5-methyl-1,3,4-thiadiazole-2-methylthiol (Ikehata et. al., 2006)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

กระบวนการ Advanced Oxidation Processes (AOPs) ได้ประสบความสำเร็จในการประยุกต์นำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียสำหรับสิ่งแวดล้อมเพื่อทำลายสารตกค้างยาปฏิชีวนะและสารพิษอันตรายอื่นๆ ไม่ก่อให้เกิดสารพิษตกค้างที่เป็นอันตรายหรือเกิดการแตกตัวเป็นแร่ธาตุ ผลการทดลองที่เหมือนกันได้ถูกสังเกตในการประยุกต์ใช้การบำบัด H_2O_2 ด้วยการใช้อุณหภูมิที่สูงในการทำลายฤทธิ์ของสารปฏิชีวนะ ในงานวิจัยนี้ การทดลองได้ถูกแบ่งเป็น 2 ส่วน ในการกำจัด H_2O_2 ที่ยังคงเหลืออยู่โดยการใช้ยีสต์ผงและการกำจัดยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในรูปแบบน้ำเสีย (ceftazidime, ceftriaxone, และ cephalixin) โดยการใช้ H_2O_2 บำบัด

การใช้ยีสต์ผงถูกใช้ในการปรับสภาพให้เป็นกลางของผลจากความเป็นพิษของ H_2O_2 ที่ยังคงหลงเหลืออยู่ก่อนหน้านั้นด้วยการทดสอบทางจุลชีววิทยาในการบำบัดยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในน้ำเสีย อัตราของยีสต์ผงต่อน้ำเสียควรเป็น 1:50 เพื่อที่จะกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทั้งหมดที่ตกค้างในแบบจำลองน้ำเสียทั้งหมด ผลของการนับด้วยโคโลนิแอสแดงให้เห็นการปรับปรุงที่ดีของ *E. coli* ในการฟื้นฟูเซลล์ใกล้เคียงกับปริมาณเซลล์ที่คาดไว้เป็น $5 \log CFU/mL$ ในทุกส่วนผสมของความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่แตกต่างกัน (1, 3, และ 5%) ภายใน 30 นาทีของเวลาในการให้ความร้อน การใช้ H_2O_2 ในการทำให้สภาพเป็นกลางโดยการเติมยีสต์ผงสามารถที่จะแยกผลของ H_2O_2 ดังนั้นเพียงผลของการยับยั้งที่ยังคงมีอยู่ของสารยาปฏิชีวนะสามารถที่จะถูกดำเนินการวิเคราะห์ได้

การกำจัดยาปฏิชีวนะความเข้มข้นที่ 60 และ 600 $\mu g/mL$ ในแบบจำลองน้ำเสีย การ oxidative ที่แรง โดยการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถที่จะทำให้ดีขึ้น โดยผลของอุณหภูมิที่สูงในการบำบัดในแบบจำลองน้ำเสีย (ceftazidime, ceftriaxone, และ cephalixin) การวิเคราะห์ด้วย HPLC และการประเมินทางจุลชีววิทยาโดยการใช้ *E. coli* ในการนับถูกดำเนินการควบคู่กันเพื่อพิสูจน์ผลของความเป็พิษตกค้างของการบำบัดตัวอย่าง จากผลการทดลองการนับปริมาณ *E. coli* เซลล์ สอดคล้องเห็นด้วยกับการวิเคราะห์ HPLC ในทุกความเข้มข้นของสารยาปฏิชีวนะ การบำบัดที่ยาวนานของ H_2O_2 ด้วยการ ใช้ 60 $\mu g/mL$ ด้วยการเติมสารปฏิชีวนะลงไปในแบบจำลองน้ำเสียสามารถที่จะกำจัดสารยาปฏิชีวนะทั้ง 3 ได้ ความยืดหยุ่นของยาปฏิชีวนะในการ oxidation มีความหลากหลายและปรากฏมีความทนทานในการ

เสถียรภาพตามลำดับต่อไปนี้ (ceftazidime > ceftriaxone > cephalixin) เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการบำบัดน้อยกว่าจุดเดือด cephalixin และ ceftriaxone ที่ 60 $\mu\text{g/mL}$ มีความไวต่อการ degradation โดยสมบูรณ์ภายใน 5 นาทีที่ 1% และ 3% H_2O_2 ตามลำดับ ceftazidime เป็นยาปฏิชีวนะที่คงทน ต้องการเวลา 30, 60, และ 120 นาทีเพื่อให้เกิดการกำจัดได้อย่างสมบูรณ์โดยการใส่ 1, 3, และ 5% H_2O_2 ที่ 100°C อย่างไรก็ตาม อุณหภูมิที่เร่ง (มากกว่า 140°C) การบำบัดด้วย H_2O_2 ที่ 5% H_2O_2 สามารถที่จะกำจัดยาปฏิชีวนะดังกล่าวได้เร็ว (น้อยกว่า 1 นาทีของการบำบัด) ถึงแม้ว่าที่ปริมาณของยาปฏิชีวนะสูงเป็น 600 $\mu\text{g/mL}$ ของแบบจำลองน้ำเสียที่ปนเปื้อนยาปฏิชีวนะ ไฮดรอกซิลเรดิคัลที่ปรากฏอยู่ถูกสมมติฐานในการให้แนวโน้มของการเกิด oxidation ที่แข็งแกร่งในการใช้ H_2O_2 ในการบำบัด

ข้อเสนอแนะ

การทดสอบทางจุลชีววิทยาเปรียบเทียบกับวิเคราะห์ทางเคมีด้วยการใช้ HPLC แสดงให้เห็นว่าการทดสอบทางจุลชีววิทยามีความไวในการตอบสนองน้อยกว่าที่ใช้ HPLC วิเคราะห์

ปฏิกิริยาอื่นๆ และการทดสอบที่เป็นการแก้ไขที่สูงควรที่จะนำเสนอเพื่อประเมินผลของการบำบัดด้วย H_2O_2 เป็นฟังก์ชันกับการบำบัดด้วยอุณหภูมิ งานวิจัยในอนาคต การทดสอบควรที่จะตัดสินใจด้วยการใช้ HPLC ในการวิเคราะห์ปริมาณของตัวอย่างที่ทำการทดสอบทั้งก่อนและหลังการบำบัด ซึ่งการทดสอบเหล่านี้สำคัญมากเพื่อการยืนยันประสิทธิภาพในการกำจัดยาปฏิชีวนะดังกล่าว

ผลผลิต (Output)

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการทั้งในระดับชาติและนานาชาติ (ระบุชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร ปี เล่ม เลขที่ และหน้า)

1.1 Sangadkit, W., Supabroob, J., Weeranoppanan, N., Foster, K.W. and Thipayarat, A., 2019, "Microbiology evaluation of combined hydrogen peroxide and heat treatment on antibiotic wastewater", Srinakharinwirot University (Journal of Science and Technology), 11(22).

2. การจดสิทธิบัตร

การทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นสูงที่มีการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับอนุมูล

3. ผลงานเชิงพาณิชย์ (มีการนำเสนอไปผลิต/ขาย/ก่อให้เกิดรายได้ หรือมีการประยุกต์ใช้โดยภาครัฐกิจ หรือบุคคลทั่วไป)

ทางคณะผู้วิจัยได้นำเสนอเทคนิคการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะด้วยกระบวนการแอดวานซ์ออกซิเดชันขั้นสูงที่เป็นการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร่วมกับอนุมูลไฮดรอกซิลสูง ณ บริษัท มิลลิเมด จำกัด ซึ่งเป็นโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตยา แต่เดิมทางโรงงานบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของยาปฏิชีวนะด้วยกระบวนการปรับกรด-ด่าง ใช้สารเคมีปริมาณมากและก่อให้เกิดเกลือในปริมาณสูง จำเป็นต้องหาวิธีการจัดการต่อเกิดความซ้ำซ้อนของกระบวนการ สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายอีกทั้งวิธีดังกล่าวประสิทธิภาพในการบำบัดค่อนข้างต่ำไม่สามารถทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะได้ เทคนิควิธีการที่ทางคณะผู้วิจัยนำเสนอทางบริษัทเห็นด้วยเหมาะกับการบำบัดของทางโรงงาน ทำให้น้ำทิ้งมีความปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและเตรียมวางแผนที่จะปรับปรุงการบำบัดน้ำเสียด้วยกระบวนการดังกล่าวในปี 2562

4. ผลงานเชิงสาธารณะ (เน้นประโยชน์ต่อสังคม ชุมชน ท้องถิ่น)

ช่วยลดการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมที่อาจจะส่งผลกระทบต่อความสมดุลของระบบนิเวศน์วิทยาโดยรวม เกิดองค์ความรู้การบำบัดและทำลายฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับอุตสาหกรรมอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง เทคโนโลยีใหม่นี้จะเป็นอีกตัวอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต้นทุนการผลิต เสริมสร้างศักยภาพให้กับอุตสาหกรรมในประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

1. ข้อมูลสถิติปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์, 2551, <http://ict.dld.go.th/th2/index.php/th/report/13-statistic/1-2542>.
2. ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง, 2553, http://www.dld.go.th/th/index.php?option=com_weblinks&view=category&id=56&Itemid=72
3. โจพร พุ่มคำ, 2555, อาหารไม่ปลอดภัย ผลจากการใช้ยาปฏิชีวนะในสัตว์, วารสารอาหารและยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, ฉบับเดือน ก.ย.-ธ.ค., หน้า 9-11.
4. Balcioglu, A.I. and Otker, M., 2003, "Treatment of Pharmaceutical Wastewater Containing Antibiotics by O3 and O3/H2O2 Processes", *Chemosphere*, Vol. 50, No. 1, pp. 85–95.
5. Cesaro, A., Naddeo, V. and Belgiorno, V., 2013, "Wastewater Treatment by Combination of Advanced Oxidation Processes and Conventional Biological Systems", *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, Vol. 4, No. 8, p. 208.
6. Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N. and Kroiss, H., 2005, "Removal of Selected Pharmaceuticals, Fragrances and Endocrine Disrupting Compounds in A Membrane Bioreactor and Conventional Wastewater Treatment Plants", *Water Research*, Vol. 39, No. 19, pp. 4797–4807.
7. El-Sukhon, S.N. and Boukhatem, Z.F., 2003, "Activity of Combinations of Ceftazidime, Imipenem and Pefloxac in Against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*", *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 22, No. 6, pp. 613–617.
8. Ikehata, K., Naghashkar, N.J. and El-Din, M.G., 2006, "Degradation of Aqueous Pharmaceuticals by Ozonation and Advanced Oxidation Processes: A Review", *Science and Engineering*, Vol. 28, No. 6, pp. 353–414.
9. Joss, A., Elvira, K., Alfredo, C.A., Anke, G., Christa, S.M., Thomas, T. and Hansruedi, S., 2005, "Removal of Pharmaceuticals and Fragrances in Biological Wastewater Treatment", *Water Research*, Vol. 39, No. 14, pp. 3139–3152.
10. Lamsal, R., Walsh, M.E. and Gagnon, G.A., 2011, "Comparison of Advanced Oxidation Processes for The Removal of Natural Organic Matter", *Water Research*, Vol. 45, No. 10, pp. 3263–3269.
11. Luiz, D.B., Jose, H.J. and Moreira, R.F.P.M., A Discussion Paper on Challenges and Proposals for Advanced Treatments for Potabilization of Wastewater in the Food Industry [Online], Available: <http://www.intechopen.com/books/scientific-health-and-social-aspects-of-the-food-industry/a-discussion-paper-on-challenges-and-proposals-for-advanced-treatments-for-potabilization-of-wastewa> [2015, October 14].

12. Kusic, H., Koprivanac, N. and Bozic, A.L., 2006, "Minimization of Organic Pollutant Content in Aqueous Solution by Means of AOPs: UV- and Ozone-Based Technologies", *Journal of Chemical Engineering*, Vol. 123, No. 3, pp. 127–137.
13. Muruganandham, M. and Swaminathan, M., 2004, "Photochemical Oxidation of Reactive Azo Dye with UV/H₂O₂ Process", *Dyes Pigments*, Vol. 62, No. 3, pp. 269–275.
14. Ogusucu, R., Rettori, D., Munhoz, C. D., Netto, S.E. L. and Augusto, O., 2007, "Reactions of Yeast Thioredoxin Peroxidases I and II with Hydrogen Peroxide and Peroxynitrite: Rate Constants by Competitive Kinetics", *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 42, No. 3, pp. 326–334.
15. Petrovic, M., Radjenovic, J. and Barcelo, D., 2011, "Advanced Oxidation Processes (AOPs) Applied for Wastewater and Drinking Water Treatment. Elimination of Pharmaceuticals", *The Holistic Approach to Environment*, Vol. 1, No. 2, pp. 63–74.
16. Purdom, C.E. et.al., 1994, "Estrogenic effects from sewage treatment works", *Chem Ecol*, Vol. 8, pp. 275 – 285.
17. Wong, C. M., Siu, K. L. and Jin, D. Y., 2004, "Peroxiredoxin-Null Yeast Cells Are Hypersensitive to Oxidative Stress and Are Genomically Unstable", *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 279, No. 22, pp. 23207–23213.
18. Rattanabumrung, O., Sangadkit, W., Supanivatin, P. and Thipayarat, A., 2012, "Kinetics of *E.coli* Colony Area Expansion and Color Development in Chromocult Coliform Agar (CCA) Under Different Incubation Conditions", *Procedia Engineering*, Vol. 32, pp. 134–140.
19. Rosario-Ortiz, L.F., Wert, C.E. and Snyder, A.S., 2010, "Evaluation of UV/H₂O₂ Treatment for The Oxidation of Pharmaceuticals in Wastewater", *Water Research*, Vol. 44, No. 5, pp. 1440–1448.
20. Souza, B.S., Dantas, R.F., Cruz, A., Sans, C., Esplugas, S. and Dezotti, M., 2014, "Photochemical Oxidation of Municipal Secondary Effluents at Low H₂O₂ Dosage: Study of Hydroxyl Radical Scavenging and Process Performance", *Journal of Chemical Engineering*, Vol. 237, pp. 268–276.
21. Wols, B.A., Hofman-Caris, C.H.M., Harmsen, D.J.H. and Beerendonk, E.F., 2013, "Degradation of 40 Selected Pharmaceuticals by UV/H₂O₂", *Water Research*, Vol. 47, No. 15, pp. 5876–5888.
22. Zhang, Z., Feng, Y., Liu, Y., Sun, Q., Gao, P. and Ren, N., 2010, "Kinetic Degradation Model and Estrogenicity Changes of EE2 (17-Ethinylestradiol) in Aqueous Solution by UV and UV/H₂O₂ Technology", *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 181, No. 1, pp. 1127–1133.
23. Yue, P.L. and Legrini, O., 1992, "Photochemical Degradation of Organics in Water, Water Pollute", *Canadian Journal of Chemistry*, Vol. 27, No. 1, pp. 123–137.

ภาคผนวก (Appendix)
(ข้อมูล HPLC)

ตารางที่ A.1 ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU) เมื่อเติม H₂O₂ ความเข้มข้น 1% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ

สภาวะเงื่อนไข	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU)		
	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cephalexin
STD.	658.13	841.47	442.05
STD.+ 1% H ₂ O ₂	640.00	833.02	391.44
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 20°C, 1 min	430.98	576.87	229.33
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 20°C, 3 min	414.89	528.59	168.08
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 20°C, 5 min	398.92	498.04	149.63
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 40°C, 1 min	510.35	645.98	258.54
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 40°C, 3 min	286.04	614.59	203.99
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 40°C, 5 min	276.68	575.91	205.77
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 60°C, 1 min	574.72	711.93	270.13
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 60°C, 3 min	327.97	598.53	214.33
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 60°C, 5 min	294.77	448.51	198.55
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 80°C, 1 min	321.90	474.95	214.85
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 80°C, 3 min	240.76	135.28	162.90
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 80°C, 5 min	201.71	0.00	0.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100 °C, 1 min	340.83	241.72	208.17
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100 °C, 3 min	173.72	137.70	0.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100°C, 5 min	88.15	0.00	0.00

ตารางที่ A.2 ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%) เมื่อเติม H₂O₂ ความเข้มข้น 1% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ

สภาวะเงื่อนไข	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%)		
	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cephalexin
STD.	-	-	-
STD.+ 1% H ₂ O ₂	100.00	100.00	100.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 20°C, 1 min	89.80	85.46	69.01
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 20°C, 3 min	64.83	71.85	54.75
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 20°C, 5 min	62.33	63.84	50.72
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 40°C, 1 min	79.74	77.55	66.05
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 40°C, 3 min	51.25	73.78	52.11
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 40°C, 5 min	46.06	59.14	52.57
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 60°C, 1 min	67.34	69.25	58.59
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 60°C, 3 min	44.69	63.46	42.94
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 60°C, 5 min	43.23	53.79	38.23
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 80°C, 1 min	50.30	57.02	54.89
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 80°C, 3 min	37.62	16.24	41.62
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 80°C, 5 min	31.52	0.00	0.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100 °C, 1 min	53.25	29.02	53.18
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100 °C, 3 min	27.14	16.53	0.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100°C, 5 min	13.77	0.00	0.00

ตารางที่ A.3 ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU) เมื่อเติม H₂O₂ ความเข้มข้น 3% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ

สภาวะเงื่อนไข	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU)		
	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cephalexin
STD.	733.80	941.11	437.54
STD.+ 3% H ₂ O ₂	646.70	712.89	379.70
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 20°C, 1 min	612.14	692.67	315.07
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 20°C, 3 min	607.44	731.21	308.61
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 20°C, 5 min	594.33	560.35	298.49
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 40°C, 1 min	477.83	676.76	284.24
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 40°C, 3 min	441.19	598.52	255.49
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 40°C, 5 min	403.02	535.42	239.93
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 60°C, 1 min	466.43	654.78	280.41
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 60°C, 3 min	407.24	544.25	239.15
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 60°C, 5 min	374.44	494.42	218.48
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 80°C, 1 min	496.93	367.33	219.45
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 80°C, 3 min	217.15	46.47	114.87
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 80°C, 5 min	137.71	13.67	73.17
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100 °C, 1 min	169.69	30.53	11.11
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100 °C, 3 min	27.63	17.20	13.71
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100°C, 5 min	0.64	28.91	0.00

ตารางที่ A.4 ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%) เมื่อเติม H₂O₂ ความเข้มข้น 3% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ

สภาวะเงื่อนไข	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%)		
	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cephalexin
STD.	-	-	-
STD.+ 1% H ₂ O ₂	100.00	100.00	100.00
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 20°C, 1 min	94.66	97.16	82.98
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 20°C, 3 min	93.93	95.00	81.28
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 20°C, 5 min	91.90	78.60	78.61
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 40°C, 1 min	73.89	94.93	74.86
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 40°C, 3 min	68.22	83.96	67.29
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 40°C, 5 min	62.32	75.11	63.19
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 60°C, 1 min	72.12	91.85	73.85
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 60°C, 3 min	62.97	76.34	62.99
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 60°C, 5 min	57.90	69.35	57.54
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 80°C, 1 min	76.84	51.53	57.80
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 80°C, 3 min	33.58	6.52	30.25
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 80°C, 5 min	21.30	1.92	19.27
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100 °C, 1 min	26.24	4.28	2.92
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100 °C, 3 min	4.27	4.21	3.61
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100°C, 5 min	0.10	4.06	0.00

ตารางที่ A.5 ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU) เมื่อเติม H₂O₂ ความเข้มข้น 5% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ

สภาวะเงื่อนไข	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU)		
	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cephalexin
STD.	740.32	959.79	446.08
STD.+ 5% H ₂ O ₂	559.47	650.58	276.38
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 20°C, 1 min	525.38	582.59	237.49
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 20°C, 3 min	452.00	551.77	224.28
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 20°C, 5 min	498.88	538.63	221.57
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 40°C, 1 min	462.93	470.15	166.49
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 40°C, 3 min	449.90	431.83	169.90
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 40°C, 5 min	412.01	370.75	149.17
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 60°C, 1 min	466.26	440.42	194.31
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 60°C, 3 min	417.58	330.82	161.37
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 60°C, 5 min	329.42	190.26	103.93
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 80°C, 1 min	59.25	23.33	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 80°C, 3 min	34.27	15.38	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 80°C, 5 min	18.83	18.86	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100 °C, 1 min	47.60	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100 °C, 3 min	25.40	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 5 min	13.10	0.00	0.00

ตารางที่ A.6 ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%) เมื่อเติม H₂O₂ ความเข้มข้น 5% และให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ

สภาวะเงื่อนไข	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%)		
	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cephalexin
STD.	-	-	-
STD.+ 5% H ₂ O ₂	100.00	100.00	100.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 20°C, 1 min	93.91	89.55	85.93
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 20°C, 3 min	80.79	84.81	81.15
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 20°C, 5 min	89.17	82.79	80.17
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 40°C, 1 min	82.74	72.27	60.24
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 40°C, 3 min	80.41	66.38	61.47
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 40°C, 5 min	73.64	56.99	53.97
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 60°C, 1 min	83.34	67.70	70.31
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 60°C, 3 min	74.64	50.85	58.39
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 60°C, 5 min	58.88	29.25	37.60
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 80°C, 1 min	10.59	3.59	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 80°C, 3 min	6.12	2.36	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 80°C, 5 min	3.37	2.90	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100 °C, 1 min	8.51	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100 °C, 3 min	4.54	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 5 min	2.34	0.00	0.00

ตารางที่ A.7 ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU) เมื่อเติม H₂O₂ ความเข้มข้น 1%, 3%, และ 5% และให้
ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C

สภาวะเงื่อนไข	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU)		
	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cephalexin
STD.	743.40	978.28	463.41
STD.+ 1% H ₂ O ₂	707.46	868.89	426.90
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100°C, 10 min	5.55	0.00	0.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100°C, 30 min	3.56	0.00	0.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100°C, 60 min	13.00	0.00	0.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100°C, 120 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 3% H ₂ O ₂	10.29	0.00	0.00
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100°C, 10 min	5.09	0.00	0.00
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100°C, 30 min	1.19	0.00	0.00
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100°C, 60 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100°C, 120 min	629.99	742.07	350.65
STD.+ 5% H ₂ O ₂	18.39	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 10 min	21.53	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 30 min	11.26	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100 °C, 60 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100 °C, 120 min	24.38	0.00	0.00

ตารางที่ A.8 ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%) เมื่อเติม H₂O₂ ความเข้มข้น 1%, 3%, และ 5% และให้ ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C

สภาวะเงื่อนไข	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%)		
	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cephalexin
STD.	-	-	-
STD.+ 1% H ₂ O ₂	100.00	100.00	100.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100°C, 10 min	7.19	0.00	0.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100°C, 30 min	1.49	0.00	0.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100°C, 60 min	1.39	0.00	0.00
STD.+ 1% H ₂ O ₂ , 100°C, 120 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 3% H ₂ O ₂	100.00	100.00	100.00
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100°C, 10 min	5.75	0.00	0.00
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100°C, 30 min	0.71	0.00	0.00
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100°C, 60 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 3% H ₂ O ₂ , 100°C, 120 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂	100.00	100.00	100.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 10 min	3.72	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 30 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100 °C, 60 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100 °C, 120 min	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ A.9 ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU) เมื่อเติม H₂O₂ ความเข้มข้น 5% และให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 100 ถึง 150°C

สถานะเงื่อนไข	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (mAU)		
	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cephalexin
STD.	6972.41	8893.53	4333.53
STD.+ 5% H ₂ O ₂	5440.68	6843.98	3156.82
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 1 min	167.57	202.58	73.87
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 3 min	137.65	100.61	42.30
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 5 min	188.79	33.54	19.89
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 110°C, 1 min	225.79	92.39	24.62
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 110°C, 3 min	235.58	12.32	15.15
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 110°C, 5 min	214.91	8.90	8.52
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 120°C, 1 min	305.77	51.33	6.63
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 120°C, 3 min	247.55	8.90	14.21
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 120°C, 5 min	22.31	7.53	5.37
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 130°C, 1 min	244.29	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 130°C, 3 min	92.49	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 130°C, 5 min	11.43	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 140°C, 1 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 140°C, 3 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 140°C, 5 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 150°C, 1 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 150°C, 3 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 150°C, 5 min	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ A.10 ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%) เมื่อเติม H₂O₂ ความเข้มข้น 5% และให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 100 ถึง 150°C

สถานะเงื่อนไข	ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะ (%)		
	Ceftazidime	Ceftriaxone	Cephalexin
STD.	-	-	-
STD.+ 5% H ₂ O ₂	100.00	100.00	100.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 1 min	3.08	2.96	2.34
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 3 min	2.53	1.47	1.34
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 100°C, 5 min	3.47	0.49	0.63
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 110°C, 1 min	4.15	1.35	0.78
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 110°C, 3 min	4.33	0.18	0.48
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 110°C, 5 min	3.95	0.13	0.27
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 120°C, 1 min	5.62	0.75	0.21
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 120°C, 3 min	4.55	0.13	0.45
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 120°C, 5 min	0.41	0.11	0.17
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 130°C, 1 min	4.49	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 130°C, 3 min	1.70	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 130°C, 5 min	0.21	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 140°C, 1 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 140°C, 3 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 140°C, 5 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 150°C, 1 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 150°C, 3 min	0.00	0.00	0.00
STD.+ 5% H ₂ O ₂ , 150°C, 5 min	0.00	0.00	0.00