บทที่ 3

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทดสอบคุณสมบัติทนร้อนของเชื้อรา 3 สายพันธุ์

จากการเลี้ยงเชื้อราจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Humicola insolens*, *Thermomyces lanuginosus* และ *Rhizopus* sp. ST29 ในอาหารเลี้ยงเชื้อรา Potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิห้อง (ชุดควบคุม) อุณหภูมิ 45, 55, และ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน สังเกตการเจริญของเชื้อ โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีทุกวัน (ตารางที่ 3) พบว่า เชื้อ *H. insolens* และ *T. lanuginosus* มีการเจริญได้รวดเร็วและดีที่สุด ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จากความสามารถในการเจริญของเชื้อ *H. insolens* มีการเจริญได้รวดเร็วและดีที่สุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของอัจฉรา เครือศรีสวัสดิ์ (2528) ที่ได้ศึกษาเชื้อราที่เจริญในอุณหภูมิสูงในประเทศไทย พบว่า เชื้อ *H. insolens* สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast starch, yeast glucose agar และ oatmeal agar ส่วน *T. lanuginosus* มีการเจริญได้รวดเร็วและดีที่สุด ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในอาหารเลี้ยงเชื้อรา (PDA) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของอัจฉรา เครือศรีสวัสดิ์ (2528) รวมทั้งวสันต์ เพชรรัตน์ และมานะ กาญจนมณีเสถียร (2533) ที่ได้ศึกษาเชื้อราที่เจริญในอุณหภูมิสูงและราทนความร้อนจากปุ๋ยหมักที่ทำจากไส้ฝ้ายสำหรับเพาะเห็ดฝาง พบว่า เชื้อ *H. insolens* และ*T. lanuginosus* สามารถเจริญในอาหาร yeast extract glucose agar (YGA) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสได้ และยังพบว่า *T. lanuginosus* มีความถี่ของการพบเท่ากับร้อยละ 10-33.3 ต่อมามานะ กาญจนมณีเสถียร (2537) พบเชื้อ *T. lanuginosus* จากกากปาล์ม ในอาหาร yeast glucose agar บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ส่วน *Rhizopus* sp. ST29 มีความสามารถในการเจริญได้รวดเร็วและดีที่สุด ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับมานะ กาญจนมณีเสถียร (2537) ได้ศึกษาแยกเชื้อราที่เจริญในอุณหภูมิสูงและราทนความร้อนจากดิน มูลสัตว์ และเศษเหลือจากการเกษตร พบว่า เชื้อรา *Rhizopus microsporus* และ *R. rhizopodiformis* มีความสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YG ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ในเวลา 3 วันเท่ากัน เหตุผลที่จุลินทรีย์ชอบอุณหภูมิสูงสามารถมีชีวิตรอดและเจริญในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงนั้น เนื่องจากโครงสร้างไลปิดของผนังเซลล์จุลินทรีย์ประกอบด้วยกรด

ตารางที่ 3 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA เป็นเวลา 5 วัน

Table 3 Effect of temperature on growth of the three fungal strains on PDA plates incubated for 5 days

Strains	Temperature (°C) / Days																			
	Room temperature					45					55					65				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Humicola insolens	-	-	+	+	+	-	+	++	++	++	-	+	++	++	+++	-	-	-	-	-
Thermomyces lanuginosus	-	-	+	+	+	-	-	+	++	++	-	-	+	++	+++	-	-	-	-	-
Rhizopus sp. ST29	-	-	+	+	+	-	-	++	+++	+++	-	-	+	++	++	-	-	-	-	-

Remarks +++ = very good growth (> 4 cm)

++ = medium growth (2-4 cm)

\+ = little growth (0.5-2 cm)

\- = no growth

ไขมันประเภทอิ่มตัว กรดไขมันที่มีกิ่งสาขา และกรดไขมันสายยาวในสัดส่วนที่สูง จึงทำให้ผนังเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการส่งสารต้องการไขมันที่อยู่ในสภาวะกึ่งของเหลว ซึ่งสภาวะนี้ขึ้นอยู่กับธรรมชาติทางเคมีของไลปิด และอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม ผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัวสายยาว และกรดไขมันที่มีกิ่งสาขาในสัดส่วนที่สูง เมื่อพิจารณาความแตกต่างทางธรรมชาติของโปรตีนและเอนไซม์ พบว่าคุณสมบัติหลายข้อของโปรตีนและเอนไซม์ของจุลินทรีย์ชอบอุณหภูมิสูง เช่น น้ำหนักโมเลกุล, องค์ประกอบหน่วยย่อย คล้ายคลึงกับจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง แต่กลับมีความเสถียรภาพที่อุณหภูมิสูง จึงควรเป็นผลมาจากกรดอะมิโนในสายเปปไทด์ ซึ่งมีผลต่อโครงสร้างตติยภูมิ (tertiary) และจตุรภูมิ (quarternary) ทำให้โมเลกุลของโปรตีนมีความแข็ง และยืดหยุ่นต่ำภายใต้ระดับปานกลาง แต่สามารถทำงานและเสถียรภาพภายใต้อุณหภูมิสูง (Vandermark and Bafzing, 1987)

2. การคัดเลือกเชื้อราทนร้อนที่ผลิตพอลิเมอร์ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

2.1 คุณลักษณะของน้ำทิ้งเครื่องดีแคนเตอร์

ผลการวิเคราะห์ลักษณะของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ (ตารางที่ 4) พบว่า มีค่าพีเอช 4.5, ซีโอดีทั้งหมด 143.92, ซีโอดีที่ละลายน้ำ 50.84, ของแข็งทั้งหมด 71.5, ของแข็งแขวนลอย 34.2 ,น้ำมันและกรีสมีค่า 10.00 กรัมต่อลิตร ส่วนไนโตรเจน และฟอสฟอรัสมีค่าร้อยละ 0.12 และ 0.05 โดยค่าต่างๆอยู่ช่วงของค่าที่เคยมีรายงานมาก่อน ดังปรากฏในตารางที่ 8 โดยพีเอชที่ได้เท่ากับค่าที่รายงานโดยปรีชา มุณีศรี (2539) ซึ่งรายงานไว้คือ 4.5 ค่า Total COD ใกล้เคียงกับรายงานของโสภา จันทภาโส (2541) และมณฑิชา เพชรสุทธิ์ (2544) คือช่วง 110-112.8 กรัมต่อลิตร ส่วนค่าของของแข็งทั้งหมดสอดคล้องกับรายงานมณฑิชา เพชรสุทธิ์ (2544) คือ 71.9 กรัมต่อลิตร ส่วนของของแข็งแขวนลอย สอดคล้องกับรายงานปรีชา มุณีศรี (2539) คือ 33.1 กรัมต่อลิตร ส่วนน้ำมันและกรีสจะมีค่าน้อยกว่ารายงานของปรีชา มุณีศรี (2539) โสภา จันทภาโส (2541), มณฑิชา เพชรสุทธิ์ (2544) คือ 24.9-25.6 กรัมต่อลิตร แต่มีค่าสูงกว่ารายงานของพูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ (2533) คือ 4.7 กรัมต่อลิตร ส่วนปริมาณแร่ธาตุในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ ได้แก่ ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสมีค่า 1.2 และ0.5 กรัมต่อลิตร โดยค่าไนโตรเจนจะใกล้เคียงกับรายงานของปรีชา มุณีศรี (2539) ส่วนค่าฟอสฟอรัสจะสูงกว่าค่าตามรายงานของปรีชา มุณีศรี (2539) คือ 0.25 กรัมต่อลิตร จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าลักษณะน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มในการสุ่มเก็บตัวอย่างแต่ละครั้งจะมีความแตกต่างกันในเรื่องคุณภาพของวัตถุดิบ กระบวนการผลิต ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง เป็นต้น จึงทำให้ได้ลักษณะของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4 ลักษณะของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ของโรงงานตรังน้ำมันปาล์ม จำกัด เปรียบเทียบกับโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแหล่งอื่นๆ

Table 4 Characteristics of decanter effluent from Trang Palm Oil Co., Ltd in comparison to other palm oil mills

Parameter	This study	1	2	3	4
Color	Brown	Brown	Brown	-	Brown
pH	4.50	4.61	4.50	4.50	4.50
BOD (g/l)	71.95	26.45	17.75	56.4	55
Total COD (g/l)	143.9	52.9	35.5	112.8	110
Soluble COD(g/l)	50.84	-	-	-	-
Total solids (g/l)	71.5	36.4	53	44.6	71.9
Suspended Solids (g/l)	34.2	11.6	33.1	20.5	43.23
Oil & grease (g/l)	10.0	4.7	24.9	25.5	25.6
Total nitrogen (g/l)	1.2	0.52	0.9	-	-
Total phosphorus (g/l)	0.5	-	0.25	-	-

Unit in g/l except pH and color

1 : Prasertsan *et al*., (1990)

2 : ปรีชา มุณีศรี (2539)

3 : โสภา จันทภาโส (2541)

4 : มณฑิชา เพชรสุทธิ์ (2544)

2.2 ผลของความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

เตรียมน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ให้มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในระดับความเจือจางต่างๆ ที่ 1:0, 1:1 และ 1:2 มีค่าซีโอดีที่ละลายน้ำเป็น 51.13, 22.56 และ 15.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และใช้ในการเลี้ยงเชื้อ *H. insolens*, *T. lanuginosus* และ *Rhizopus* sp. ST29 และเติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 (อารี กังแฮ, 2536) บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิที่ 55, 55 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นเวลา 5 วัน (ตารางที่ 5) พบว่า ที่ระดับความเจือจางที่ 1:1 และ 1:2 การเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 พีเอชมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 5.73 และ 5.83 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของปรีชา มุณีศรี (2539) ที่ศึกษาเชื้อใกล้เคียงกัน ส่วนค่าพีเอชของเชื้อ *H. insolens* และ *T. lanuginosus* ให้ค่าพีเอชค่อนข้างเป็นกรด โดยมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 4.17–4.34 จะเห็นได้ว่าพีเอชของน้ำทิ้งจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเจริญของเส้นใย เนื่องจากเชื้อมีการใช้สารอินทรีย์ประเภทกรดอินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดอะมิโน กรดไขมัน กรดระเหยได้ จำพวกกรดอะซิติก กรดโปรปิโอนิก กรดบิวทิริก และ isopropyl alcohol เป็นต้น (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ, 2533) ซึ่งเป็นสารประกอบในน้ำทิ้ง และทำให้น้ำทิ้งมีความเป็นกรด

สำหรับการเจริญของเชื้อโดยวัดในรูปปริมาณมวลชีวภาพ พบว่าเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 เจริญได้ดีที่สุด ให้ปริมาณมวลชีวภาพ 16.89 กรัมต่อลิตร หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน ที่ระดับความเจือจาง 1:1 ส่วนระดับความเจือจางที่ 1:0 และ 1:2 มีปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 6.44 และ 7.51 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วน *H. insolens* ที่ระดับความเจือจางที่ 1:0, 1:1, 1:2 มีปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 3.95, 4.06 และ 3.02 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วน *T. lanuginosus* ที่ระดับความเจือจางที่ 1:0, 1:1, 1:2 มีปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 5.90, 7.96 และ 7.35 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการทดลองข้างต้นพบว่า *Rhizopus* sp. ST29, *T. lanuginosus* และ *H. insolens* เจริญได้ดีที่สุดในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ระดับความเจือจางที่ 1:1 มีปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 16.89, 7.96 และ 4.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ รองลงมา คือ ที่ระดับความเจือจางที่ 1:2 และต่ำที่สุดในระดับที่ไม่เจือจาง ทั้งนี้เนื่องมาจากในน้ำทิ้งมีปริมาณสารอาหารและสารยับยั้งเช่น สารประกอบอะโรมาติ โดยเฉพาะจำพวกกลุ่ม โมโนฟีนอล สารประกอบฟีนอล และแทนนิน ซึ่งมีรายงานว่าในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก (D' Annibale *et al.,* 1998) จากการรายงานของ Ursinos และคณะ (อ้างโดย Tsonis และ Grigoropoulos, 1993) พบสารพวกแทนนินร้อยละ 1 และโพลีฟีนอลร้อยละ 1-2.4 ในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก และจากการศึกษาของ Hamdi (1991) พบว่าสารประกอบฟีนอล มีความเป็นพิษต่อเซลล์จุลินทรีย์ ซึ่งทำให้เกิดการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสาร ดังนั้นในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่ไม่มีการเจือจางอาจจะมีความเข้มข้นของสารยับยั้งเช่น ฟีนอลสูงกว่าที่มีการเจือจาง จึงทำให้มีการเจริญต่ำ

ตารางที่ 5 ผลของระดับความเข้มข้นของสารอินทรีย์ (ค่า COD) ในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มต่อการเจริญของเชื้อรา 3 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นเวลา 5 วัน

Table 5 Effect of organic matter (COD) concentration in the decanter effluent on growth of the three fungal strains after 5 days incubation on a shaker (200 rpm) at their optimum temperatures.

Fungal	1 : 0		1 : 1		1 : 2	
	Biomass (g/l)	COD removal (%)	Biomass (g/l)	COD removal (%)	Biomass (g/l)	COD removal (%)
H. insolens	3.95	5.88	4.06	20.03	3.02	0.004
T. lanuginosus	5.90	20.59	7.96	40.02	7.35	30.05
Rhizopus sp. ST29	6.44	35.30	16.89	60.00	7.51	40.00

เมื่อศึกษาประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดี พบว่าเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ให้ค่าประสิทธิภาพการบำบัดได้ดีที่สุด คือร้อยละ 60 หลังจากการเลี้ยงที่ระดับความเจือจาง1:1 ส่วนที่ระดับความเจือจางที่ 1:0 และ 1:2 ให้ค่าประสิทธิภาพการบำบัดที่ร้อยละ 35.30 และ 40 ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *H. insolens* ที่ระดับความเจือจางที่ 1:0, 1:1, 1:2 ให้ค่าประสิทธิภาพการบำบัดที่ร้อยละ 5.88, 20.03 และ 0.004 ตามลำดับ และส่วนเชื้อ *T. lanuginosus* ที่ระดับความเจือจางที่ 1:0, 1:1, 1:2 ให้ค่าประสิทธิภาพการบำบัดเท่ากับร้อยละ 20.59, 40.02 และ 30.05 ตามลำดับ การที่สารอาหารหรือสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มต่างกัน จะมีผลทำให้ความสามารถในการลดสารอินทรีย์ต่างกัน (Ho and Tan, 1985 อ้างโดยปรีชา มุณีศรี, 2539) และการเจริญของจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของน้ำทิ้ง (Wood, 1977 อ้างโดยปรีชา มุณีศรี, 2539) ดังนั้นการที่เชื้อมีความสามารถในการบำบัดค่าซีโอดีได้สูงหรือต่ำ อาจจะเนื่องจากปริมาณสารอาหารไม่พอเพียงหรือมากเกินไป และชนิดของสารอาหารไม่เหมาะสมต่อการเจริญ มีรายงานว่าที่ระดับการเจือจางน้ำทิ้งมีค่าต่ำกว่าการเจือจาง (5 เท่า) มีการเลี้ยงเชื้อรา Cf-27 ในน้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อ (Chean และ Ooi, 1986อ้างโดยเบญจวรรณ ชิตมณี, 2534)

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นว่าเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29, *T. lanuginosus* และ *H. insolens* เจริญได้ดีที่สุดในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ระดับความเจือจางที่ 1:1 ที่มีค่าซีโอดีทั้งหมด และซีโอดีที่ละลายน้ำเริ่มต้นเท่ากับ 82.92 และ 22.56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ได้มวลชีวภาพเท่ากับ 16.89, 7.96 และ 4.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีประสิทธิภาพการลดลงค่าซีโอดีได้ดีที่สุดที่ระดับความเจือจางที่ 1:1 เท่ากับร้อยละ 60, 40.02 และ20.03 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ดังนั้นจึงเลือกใช้ระดับความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ความเจือจาง1:1ซึ่งมีปริมาณสารอินทรีย์ที่เหมาะสมมีค่าซีโอดีทั้งหมด และซีโอดีที่ละลายน้ำ เริ่มต้นเท่ากับ 82.92 และ 22.56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในการศึกษาขั้นต่อไป

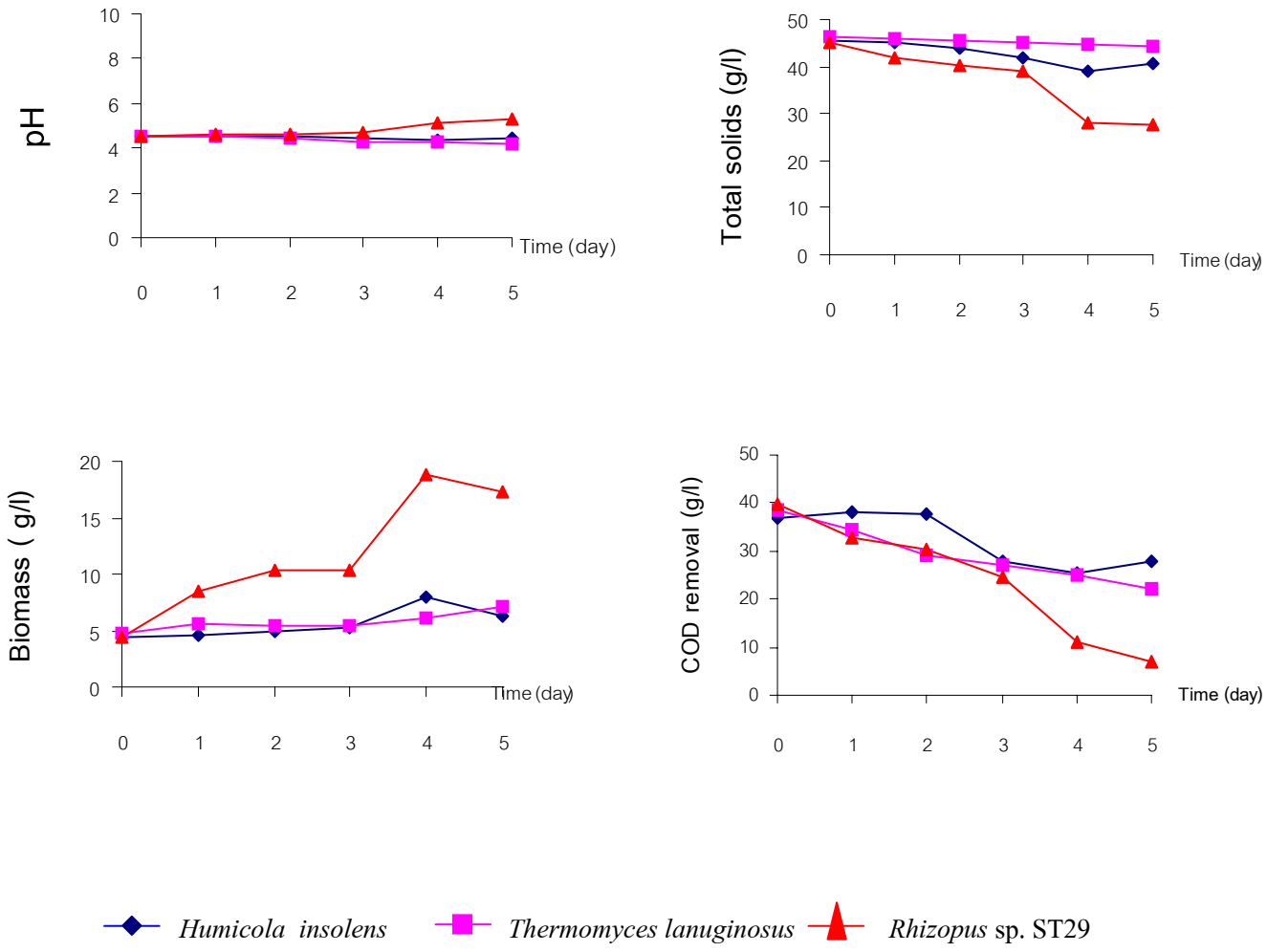
2.3 เปรียบเทียบการบำบัดน้ำทิ้ง การผลิตเอนไซม์ และพอลิเมอร์ของเชื้อราทนร้อน 3 สายพันธุ์

จากการเลี้ยงเชื้อ *H. insolens*, *T. lanuginosus* และ *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์โดยเจือจางที่ระดับ 1:1 (ค่าซีโอดีที่ละลายน้ำ เท่ากับ 24.82) และเติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิที่ 55, 55 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (ภาพที่ 3) พบว่า ในการเลี้ยง *H. insolens* และ *T. lanuginosus* พีเอชไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักอยู่ในช่วง 4.36 – 4.55 ส่วนค่าพีเอช *Rhizopus* sp. ST29 มีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 4.5 เป็นประมาณ 5.21 – 5.48 สอดคล้องกับการเจริญของเชื้อซึ่งพบว่าเชื้อ *Rhizopus* sp.ST29 สามารถเจริญได้ดีที่สุด โดยมีปริมาณมวลชีวภาพ 18.3 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 4 วัน ซึ่งตรงกับรายงาน

ของปรีชา มุณีศรี (2539) ส่วน *H. insolens* เจริญได้ดีที่สุดที่ระยะเวลา 4 วัน ให้มวลชีวภาพ 7.9 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ *T. lanuginosus* เจริญได้ดีที่สุดที่ระยะเวลา 5 วัน ให้มวลชีวภาพ 4.13 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้เมื่อมีการเจริญของเชื้อ ปริมาณของแข็งทั้งหมด (TS) จะลดลงตามไปด้วย ซึ่งลดลงดีที่สุดเมื่อวันที่เชื้อเจริญได้ดีที่สุดเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อและเลี้ยงในสภาวะเดียวกันพบว่า *Rhizopus* sp. ST29 สามารถลดค่าของแข็งทั้งหมด (TS) ได้ดีที่สุดคือ 28.24 กรัมต่อลิตร ที่วันที่ 4 ของการเจริญ *H. insolens* รองลงมา คือ ซึ่งสามารถลดค่าของแข็งทั้งหมดได้ 39 กรัมต่อลิตร ที่วันที่ 4 ของการเจริญ และ *T. lanuginosus* ลดค่าของแข็งทั้งหมด ได้ต่ำที่สุดคือ 44.2 กรัมต่อลิตร ที่วันที่ 5 ของการเจริญ จะเห็นได้ว่าผลของของแข็งทั้งหมดมีค่าแปรผกผันการเจริญของเส้นใย เนื่องจากเชื้อสามารถลดปริมาณของของแข็งทั้งหมดและการใช้สารอาหารเพื่อการเจริญ ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณซีโอดี และของแข็งทั้งหมดลดลงด้วย

เมื่อศึกษาการใช้สารอินทรีย์ในน้ำทิ้ง พบว่า *Rhizopus* sp. ST29 ที่เลี้ยงในเวลา 4 วัน สามารถลดค่าซีโอดีจากค่าซีโอดีละลายน้ำเริ่มต้น 24.82 กรัมต่อลิตร เหลือประมาณ 6.77 กรัมต่อลิตร หรือลดลงร้อยละ 72.72 ซึ่งสูงกว่าค่าที่เคยมีรายงานมาก่อนคือ ร้อยละ 66.00 (มณฑิชา เพชรสุทธิ์, 2544) สำหรับ *H. insolens* สามารถลดค่าซีโอดีจาก 35.82 กรัมต่อลิตร เหลือประมาณ 25.56 กรัมต่อลิตร หรือลดซีโอดีได้ร้อยละ 28.61 หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน ส่วน *T. lanuginosus* ที่เลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน ลดค่าซีโอดีจาก 31.96 กรัมต่อลิตร เหลือประมาณ 25.19 กรัมต่อลิตร หรือลดลงร้อยละ 30.58

เมื่อศึกษาผลการผลิตเอนไซม์ชนิดต่างๆของเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ (ภาพที่4) โดยวิธีการเลี้ยงเชื้อราทนร้อน *H. insolens*, *T. lanuginosus* และ *Rhizopus* sp.ST29 ในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคเตอร์โดยเจือจางที่ระดับ 1:1 ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม สุ่มตัวอย่าง (ทั้งฟลาสก์) ที่เวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน วิเคราะห์แอคติวิตี้ของเอนไซม์ carboxymethylcellulase (CMCase), ไซลาเนส, เพคติเนส, ไลเปส และวิเคราะห์โปรตีนที่ละลายได้ พบว่า *Rhizopus* sp.ST29 ให้แอคติวิตี้ CMCase สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับอีก 2 สายพันธุ์ มีค่า 814.66 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และเชื้อให้แอคติวิตี้จำเพาะของเอนไซม์ CMCase 92.28 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีนที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อที่ 4 วัน ซึ่งมีค่าต่ำกว่าที่ Murashima และคณะ (2002) ได้ศึกษาแอคติวิตี้ของเอนไซม์ CMCase จากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* ซึ่งได้คัดเลือกเชื้อจากดินในประเทศญี่ปุ่น พบว่ามีแอคติวิตี้จำเพาะของเอนไซม์ CMCase 272.5 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน รองลงมาพบว่าเชื้อ *T.lanuginosus* และ *H.insolens* ซึ่งให้ค่าแอคติวิตี้ CMCase 530.53 และ 429.50 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเชื้อให้แอคติวิตี้จำเพาะของเอนไซม์ CMCase 62.70 และ 50.76 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีนตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อที่ 3 และ 5 วัน



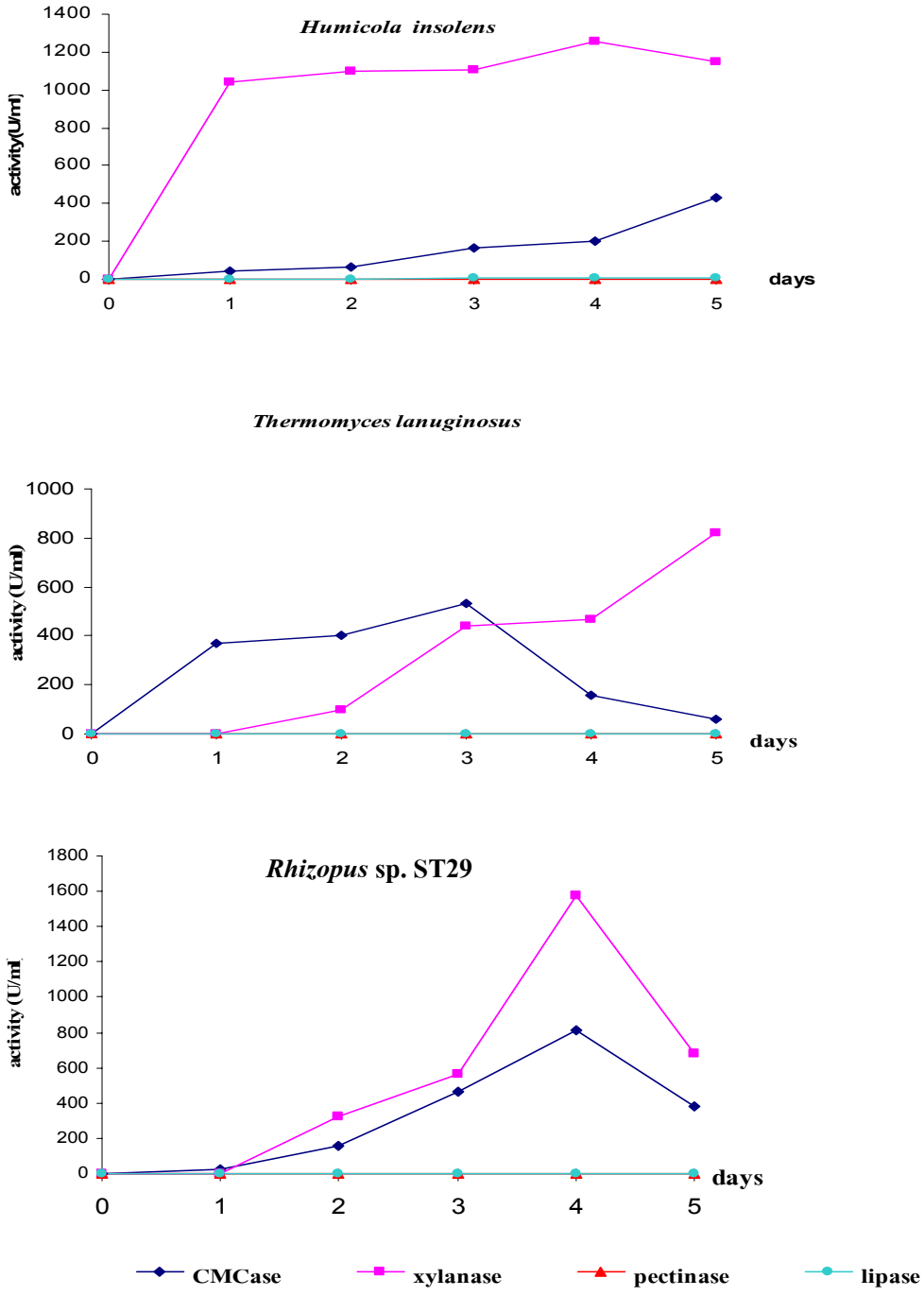
ภาพที่ 3 เปรียบเทียบผลการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ระดับความเจือจางที่ 1:1 โดยเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นเวลา 5 วัน

Fig. 3 Comparison on treatment of decanter effluent (1:1 dilution) by three fungal strains by cultivation on a shaker (200 rpm) at their optimum temperatures for 5 days.

เมื่อศึกษาการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสพบว่า เชื้อรา *Rhizopus* sp. ST29 ให้ค่าแอคติวิตี้ไซลาเนสสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อ *H. insolens* และ *T. lanuginosus* โดยให้ค่า 1574.42, 1254.7 และ 820.52 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 4 วัน การที่เชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 และ *H. insolens* สามารถผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้ก่อนเอนไซม์ CMCase เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสเป็นสารที่ย่อยได้ง่ายกว่าเซลลูโลส (Chahal, 1986 อ้างโดยจารุวรรณ มณีศรี, 2538) และไซแลนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลสจะขัดขวางการผลิตของเอนไซม์เซลลูเลส (Gamerith, *et al*, 1992 อ้างโดยจารุวรรณ มณีศรี, 2538) การที่เอนไซม์สามารถแยกสารแขวนลอยออกจากน้ำทิ้งได้ เนื่องจากการที่หีบน้ำมันแบบมาตรฐานหรือแบบบอบไอน้ำ ซึ่งมีการอบทะลายปาล์มด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 120-130 องศาเซลเซียส ทำให้ผลปาล์มอ่อนนุ่ม จึงมีผลให้เฮมิเซลลูโลสหรือไซแลนที่ละลายน้ำได้ถูกสกัดออกมา (Saddler, *et al*, 1983 อ้างโดยจารุวรรณ มณีศรี , 2538) ส่วนเชื้อ *T. lanuginosus* ผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้น้อยที่สุดมีค่า 820.52 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Puchart และคณะ (1999) ได้ศึกษาการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจากเชื้อรา *T. lanuginosus* ATCC28083 ซึ่งมีไซแลนเป็บสับสเทรต มีแอคติวิตี้ 780 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และยังสามารถผลิตเอนไซม์เพคติเนสได้เช่นเดียวกัน

ส่วนเอนไซม์เพคติเนส เชื้อรา *T.lanuginosus* ผลิตได้สูงสุดให้ค่าแอคติวิตี้เพคติเนส 0.963 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 3 วัน รองลงไป คือ *Rhizopus* sp. ST29 และ *H .insolens* ให้ค่าของแอคติวิตี้เพคติเนส 0.889 และ 0.679 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วน *T .lanuginosus* ให้ค่าแอคติวิตี้เพคติเนสสูงสุดเท่ากับ 0.963 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าที่ได้จากเชื้อ *A. niger* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (ประกอบด้วย $(NH_4)_2SO_4$, KH_2PO_4, $FeSO_4$, $MgSO_4$-7H $_2O$ และโปรตีน) พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *A. niger* ในอาหารดังกล่าวจะให้แอคติวิตี้ของเอนไซม์แพคติเนสประมาณ 16-18 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (Pereira, *et al*., 1993) Puchart และคณะ 1999 รายงานว่า สายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เพคติเนสได้ดีในอาหารที่เติมเพคตินและ sugar beet pulp คือ *T. lanuginusus* IMI 158749 พบว่ามีแอคติวิตี้ของเอนไซม์เพคติเนสเท่ากับ 0.10 และ 0.113 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

จากผลการเจริญของเชื้อ พบว่า *Rhizopus* sp. ST29 สามารถเจริญได้ดีที่สุด ที่เวลา 4 วัน เนื่องจากเชื้อเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิสูงที่สามารถละลายน้ำมัน ที่เป็นแหล่งอาหารและพลังงานในการเจริญของเชื้อราละลายได้ดีขึ้น จึงส่งผลทำให้เชื้อสามารถใช้ได้ง่ายขึ้น ทำให้เจริญได้ดีตามมา ซึ่งตรงกับรายงานของปรีชา มุณีศรี (2539) ซึ่งศึกษาเชื้อเดียวกันและจากการสังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่า เส้นใยของเชื้อราเกิดการรวมตัวกันเป็นก้อนและมีสีดำ เนื่องจากเชื้อผลิตพอลิเมอร์



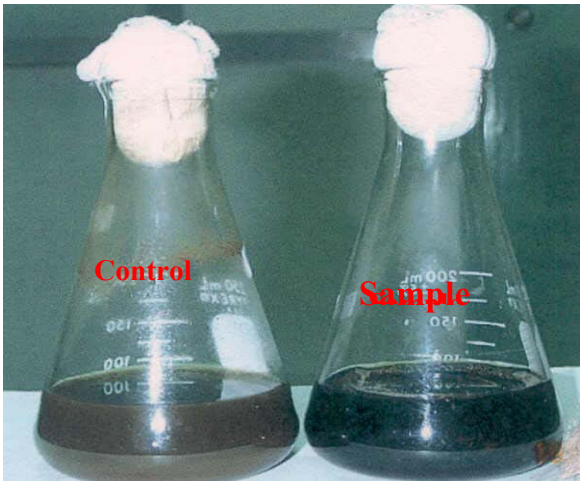
ภาพที่ 4 เปรียบเทียบการผลิตเอนไซม์ในการเลี้ยงเชื้อรา 3 ชนิดในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ระดับความเจือจางที่ 1:1 บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็น เวลา 5 วัน

Fig. 4 Comparison on production of enzymes in decanter effluent (1 : 1 dilution) by three fungal strains cultivated on a shaker (200 rpm) at their optimum temperatures for 5 days.

เป็นเมือก (ภาพที่ 5) เมื่อนำก้อนเส้นใยและพอลิเมอร์ดังกล่าว ไปวิเคราะห์หาปริมาณของพอลิเมอร์และศึกษาคุณสมบัติบางประการของพอลิเมอร์ชีวภาพที่ได้จากการสกัด โดยใช้วิธีของ Leal และคณะ (2001) พบว่า สามารถสกัดได้พอลิเมอร์ 26.88 มิลลิกรัม (ภาพที่ 6) ปริมาณมวลชีวภาพ (เส้นใยและพอลิเมอร์) 1 กรัมหรือคิดเป็นร้อยละ 0.026 (w/w) เมื่อนำพอลิเมอร์ชีวภาพที่ได้มาหาน้ำหนักโมเลกุล ด้วยเครื่อง Gel premeation chromatography (GPC) พบว่า พอลิเมอร์มีน้ำหนักโมเลกุล 17,657 ดาลตัน จากการศึกษาคุณสมบัติบางประการ คือ ประจุและขนาดอนุภาค ด้วยเครื่อง zetapotential พบว่า พอลิเมอร์มีประจุเป็นลบ และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 1234.3 นาโนเมตร

เมื่อทดสอบการตกตะกอนของของแข็งทั้งหมดและสารแขวนลอยโดยการนำน้ำหมัก มาตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง สังเกตและบันทึกการตกตะกอนของของแข็ง พบว่า *Rhizopus* sp. ST29 สามารถลดตะกอนหลังจากการเจริญได้ดีที่สุด เนื่องจากจากเกิดพอลิเมอร์ซึ่งช่วยในการเก็บเกี่ยวรวบรวมของแข็งและสารแขวนลอยในน้ำทิ้ง ส่วน *H. insolens* และ *T. lanuginosus* ลดตะกอนของของแข็งได้เพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมดังตารางที่ 6 และภาพที่ 7 น้ำทิ้งดีแคนเตอร์ปีนของเหลวที่ข้นหนืดสูงเพราะมีปริมาณของของแข็งทั้งหมดในน้ำทิ้งสูง ส่วนน้ำทิ้งหลังการบำบัดมีลักษณะใสมากกว่าน้ำทิ้งก่อนบำบัด เนื่องจากเชื้อสามารถลดปริมาณของของแข็งทั้งหมด ซึ่งความใสของน้ำทิ้งที่ได้จะแปรผกผันกับของของแข็งทั้งหมด และการเจริญของเส้นใยซึ่งมาจากการใช้สารอาหารเพื่อการเจริญ ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณซีโอดี และของแข็งทั้งหมดลดลงด้วย ทำให้เกิดความใสมากขึ้น การที่เชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถผลิตเอนไซม์ชนิดต่างๆได้

เนื่องจากในน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีปริมาณของสารอินทรีย์สูงและประกอบไปด้วยสารอาหารหลายชนิดที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ จึงมีการศึกษาที่จะใช้น้ำทิ้งเป็นแหล่งสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ เพื่อผลิตเอนไซม์และสามารถนำเอนไซม์มาประยุกต์ใช้สำหรับการบำบัดน้ำเสียได้อีกทางหนึ่ง จารุวรรณ มณีศรี (2538) รายงานว่า ผลของการใช้สารละลายเอนไซม์จากเชื้อ *A. niger* ATCC 6275 เจือจาง 1 เท่า และเอนไซม์ทางการค้า ได้แก่ Meicellase และ sumyzyme ที่มีแอคติวิตี้



ภาพที่ 5 ลักษณะเส้นใยที่รวมกันเป็นก้อนจากการผลิตพอลิเมอร์ของ *Rhizopus* sp. ST29 ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์

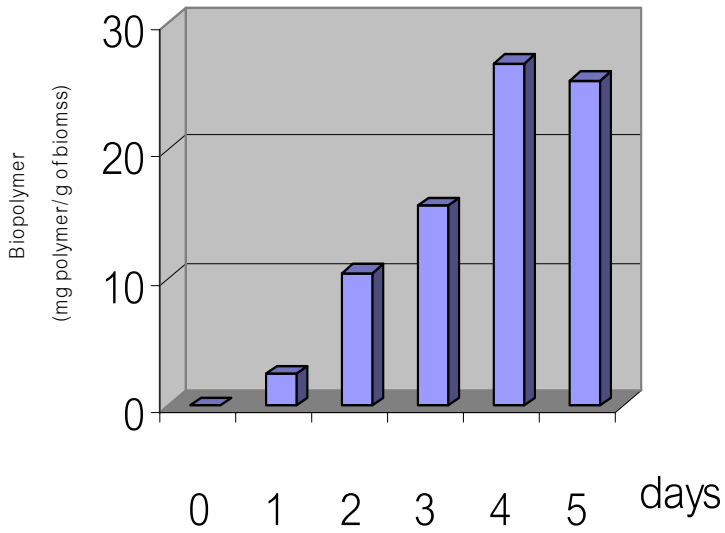
บน ; การเจริญของ *Rhizopus* sp. ST29 ที่ เลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ (ขวา) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ซ้าย)

ล่าง; มวลชีวภาพพร้อมพอลิเมอร์ของ *Rhizopus* sp. ST29 ภายหลังการเก็บเกี่ยว

Fig. 5 Ball formation of mycelium from cultivation of polymer-producing fungi *Rhizopus* sp. ST29 in the decanter effluent.

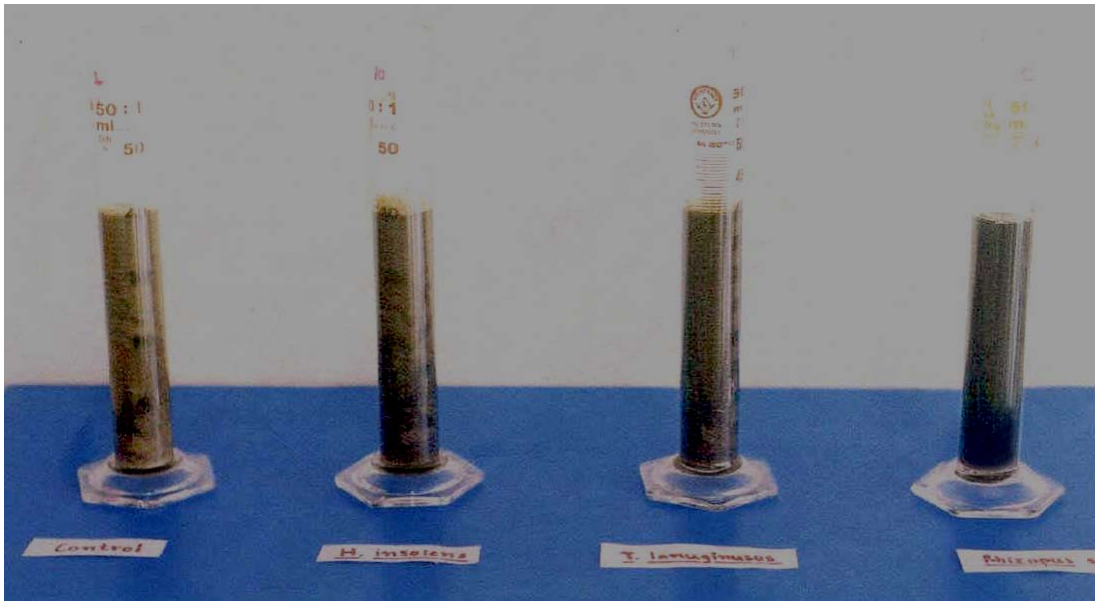
Above ; Mycelium growth of *Rhizopus* sp. ST29 in cultivation in decanter effluent. (right) in comparison with the control (left).

Below; Biomass and polymer produced from *Rhizopus* sp. ST29 after recovery.



ภาพที่ 6 ผลของปริมาณพอลิเมอร์จากเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 เมื่อเลี้ยงได้ในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ โดยเจือจางที่ระดับ 1:1 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Fig. 6 Production of biopolymer in decanter effluent (1:1 dilution) by *Rhizopus* sp. ST29 cultivated on a shaker (200 rpm) at their optimum temperature for 5 days.



1 **2** **3** **4**

ภาพที่ 7 ผลการตกตะกอนของของแข็งในน้ำทิ้งจากการเจริญของเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์

(1) ชุดควบคุม (2) *H. insolens* (3) *T. lanuginosus* (4) *Rhizopus* sp. ST29

Fig. 7 Effect of three fungai strains in decanter effluent on the separation of suspended solids.

(1) Control (2) *H. insolens* (3) *T. lanuginosus* (4) *Rhizopus* sp. ST29

ของเอนไซม์ไซลาเนส และ CMCase ทำให้แยกสารแขวนลอยในน้ำทิ้ง โดยเริ่มรวมกันเป็นกลุ่มๆ เล็กๆและส่วนกลางของปริมาตรน้ำทิ้งในกระบอกตวงเริ่มมีส่วนที่เป็นของเหลวสีน้ำตาลใสเกิดขึ้น ซึ่งจะสอดคล้องกับผลที่ได้จากการทดลองนี้ ซึ่งเมื่อนำน้ำหมักปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จะเกิดการแยกส่วนของสารแขวนลอยในน้ำทิ้งและส่วนกลางของปริมาตรน้ำทิ้งในกระบอกตวงเริ่มมีส่วนที่เป็นของเหลวสีน้ำตาลใสเกิดขึ้นเช่นกัน ลักษณะของน้ำทิ้งที่ปรากฏเป็น 3 ส่วนคือ ตะกอนเบา, ตะกอนหนัก และของเหลวสีน้ำตาล ดังตารางที่ 6, 7 (และภาพที่ 7) ส่วนของเศษเส้นใยปนอยู่ในน้ำทิ้งหลังการแยกสกัดในลักษณะสารแขวนลอย ส่วนไซแลนที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งเกิดจาก side-chain ส่วนใหญ่ถูกตัดออกจากโครงสร้างหลัก (back-bone) ของไซแลนจะเกาะอยู่บนผิวของเส้นใย จึงทำให้เอนไซม์สามารถย่อยได้ทั้งไซแลนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ แต่การย่อยไซแลนติดอยู่กับเส้นใยจะไม่เกินร้อยละ 20 เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ถูกจำกัดในการเข้าไปย่อยสลายไซแลนในเส้นใย (Ratto, *et al*., 1994) เมื่อเอนไซม์ย่อยไซแลนที่ละลายน้ำและไซแลนที่เกาะอยู่กับเศษเส้นใย ทำให้สารแขวนลอยในน้ำทิ้งมีน้ำหนักลดลงน้ำมันจึงถูกแยกออกจากน้ำทิ้ง ทั้งสารแขวนลอยที่เหลือจากการย่อยด้วยเอนไซม์และน้ำมัน จึงลอยเป็นตะกอนเบาอยู่ด้านบน ดังนั้นการใช้เอนไซม์จึงเป็นแนวทางหนึ่งของการบำบัดน้ำเสียขั้นต้นที่จะกำจัดสารแขวนลอยและน้ำมันออกโดยการตักหรือกวาด เอาตะกอนเบาออกไป ซึ่งเป็นการลดปริมาณสารอินทรีย์ของน้ำทิ้งที่จะเข้าสู่ระบบบำบัดในขั้นที่สอง (secondary treatment) ต่อไป และเป็นการป้องกันปัญหาที่เกิดจากการมีน้ำมันปะปนอยู่ในน้ำเสีย (จารุวรรณ มณีศรี, 2538)

เมื่อนำสารละลายที่เหลือ (หลังการตกตะกอนพอลิเมอร์) มาวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด, ค่าน้ำมันและกรีส, ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดลดลงร้อยละ 52.97 และสามารถกำจัดน้ำมันและกรีสร้อยละ 98.66 นอกจากนั้นยังสามารถลดไนโตรเจนและฟอสฟอรัสได้ร้อยละ 61.54, 50 ตามลำดับ ดังตารางที่ 7 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของปรีชา มณีศรี (2539) พบว่าหลังการเลี้ยงเชื้อรา *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 4 วัน สามารถลดปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 52.59 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองนี้ คือร้อยละ 52.97 และสามารถกำจัดน้ำมันและกรีสได้ร้อยละ 99.65 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับผลการทดลองนี้เช่นกัน คือร้อยละ 98.66 แต่มีค่าการลดลงของไนโตรเจนหลังการบำบัดน้อยกว่า คือ 39.22 ซึ่งผลการทดลองครั้งนี้ คือร้อยละ 61.54 ส่วนการลดฟอสฟอรัสหลังการบำบัดมากกว่า คือ ร้อยละ 75 ส่วนผลการทดลองครั้งนี้ คือ ร้อยละ 50 จากผลการทดลองข้างต้นข้อมูล จะเห็นได้ว่ามีความแตกต่างกัน เนื่องจากในการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งแต่ละครั้งจะมีความแตกต่างกันในเรื่องคุณภาพของวัตถุดิบ กระบวนการผลิต และช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง ทำให้ได้ผลคุณลักษณะของน้ำทิ้งจากดีแคนเตอร์หลังการบำบัดแตกต่างกัน

ตารางที่ 6 สีและลักษณะการแยกสารแขวนลอยของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่ระดับความเจือจางที่1:1 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มหลังการเลี้ยงเชื้อรา 3 สายพันธุ์ บนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นเวลา 5 วัน

Table 6 Color and separation of suspended solids and color of 1:1 diluted decanter effluent after Treatment by three fungal strains by cultivation on a shaker (200 rpm) at their optimum temperatures for 5 day

Days	Control	*Rhizopus* sp.ST29	*H. insolens*	*T. lanuginosus*
	Appearance	Appearance	Appearance	Appearance
0	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)
Separation appearance into 3 parts as above but were different				
1	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer, brown color - (T) : (5 ml.) - (M) : (28 ml.) - (B) : (7 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)
2	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer, brown color - (T) : (3 ml.) - (M) : (32 ml.) - (B) : (5 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)
3	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer, brown color - (T) : (1 ml.) - (M) : (36 ml.) - (B) : (3 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (20 ml.) - (M) : (20 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

Table 6 (Conntinue)

Days	Control	*Rhizopus* sp.ST29	***H. insolens***	***T. lanugiuosus***
	Appearance	Appearance	Appearance	Appearance
4	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer, brown color - (M) : (39 ml.) - (B) : (1ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (20 ml.) - (M) : (20 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (20 ml.) - (M) : (20 ml.)
5	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer, brown color - (T) : (3 ml.) - (M) : (37 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (25 ml.) - (B) : (15 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (20 ml.) - (M) : (20 ml.)

หมายเหตุ : ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ 40 มล.

ตารางที่ 7 ลักษณะของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่ระดับความเจือจางที่ระดับ 1:1 ก่อนและหลังการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp.ST29 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

Table 7 Characteristics of decanter effluent (1:1 dilution) before and after treatment by *Rhizopus* sp. ST29 for 4 days incubation on a shaker (200 rpm) at 45 °C

Parameter	Before treatment	After treatment	Removal (%)
Color	Brown	Dark-brown	-
pH	4.5	5.4	-
Soluble COD (g/l)	26.88	7.39	72.50
Total solids (g/l)	62.79	29.53	52.97
Oil & grease (g/l)	1.2	0.01	98.66
Total nitrogen (g/l)	0.13	0.05	61.54
Total phosphorus (g/l)	0.02	0.01	50.00

Unit in g/l except pH and color

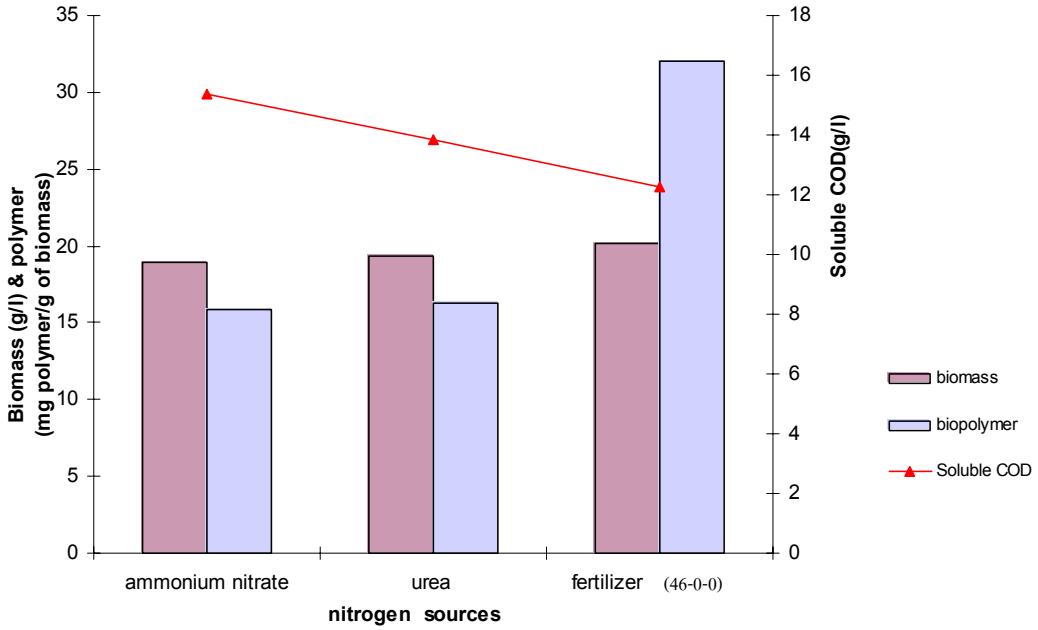
3. การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตพอลิเมอร์ของเชื้อราคัดเลือกไว้

จากการคัดเลือกได้เชื้อราทนร้อนที่และและสามารถผลิตพอลิเมอร์มีประสิทธิภาพการเก็บเกี่ยวของแข็งและสารแขวนลอย จากน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มได้สูงสุด คือ เชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 บนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จึงทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตพอลิเมอร์ โดยศึกษาปัจจัยต่อไปนี้

3.1 ชนิดของแหล่งไนโตรเจน

เลี้ยง *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เติมแหล่งไนโตรเจนได้แก่ NH_4NO_3, ยูเรีย และปุ๋ย (46-0-0)ในปริมาณ 2.85, 2.14 และ2.17 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยมีปริมาณไนโตรเจนร้อยละ 0.1 เท่ากัน ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 8 จะเห็นว่าการเติมปุ๋ย (46-0-0) และยูเรีย พีเอชมีการเปลี่ยนแปลงในทิศทางเดียวกัน โดยเพิ่มขึ้นจาก 4.5 เป็น 6.04 และ 6.42 ตามลำดับ สำหรับการเติม NH_4NO_3 พบว่าระดับพีเอชไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงโดยเพิ่มขึ้นจาก 4.5 เป็น 4.83 ส่วนน้ำทิ้งที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนมีค่าพีเอชสุดท้ายเท่ากับ 4.69 จุลินทรีย์ต้องการไนโตรเจนในการเจริญเนื่องจากเซลล์จุลินทรีย์มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 8-10 ของน้ำหนักแห้ง แหล่งไนโตรเจนของจุลินทรีย์มีทั้งในรูปอนินทรีย์ไนโตรเจนและอินทรีย์ไนโตรเจน แหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน สำหรับแอมโมเนียมไนเตรต เนื่องจากแอมโมเนียสามารถยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์ไนเตรตรีดักเทส ดังนั้นในระยะแรก แอมโมเนียจะถูกนำไปใช้ก่อนทำให้เกิดสภาวะที่เป็นกรด (เมื่อเวลา 1 วันของการเจริญ) จนกระทั่งแอมโมเนียหมด จุลินทรีย์จึงเปลี่ยนไปใช้ไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนแทน ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีพีเอชสูงขึ้น (สมใจ ศิริโภค, 2537)

สำหรับการเจริญและการผลิตพอลิเมอร์ของเชื้อพบว่า เมื่อมีการเติมปุ๋ย เชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 สามารถเจริญและผลิตพอลิเมอร์ได้สูงสุด คือ 18.06 กรัมต่อลิตร และ 32 มิลลิกรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมมวลชีวภาพ ตามลำดับ หรือสามารถผลิตพอลิเมอร์ 5779.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่เชื้อสามารถเจริญในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เติม ยูเรีย และ NH_4NO_3 และมีปริมาณมวลชีวภาพมากกว่าเท่ากับ 18.97, 18.53 กรัม แต่ผลิตพอลิเมอร์ได้ต่ำกว่ามากเท่ากับ 16.30 และ 15.82 มิลลิกรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมมวลชีวภาพ ตามลำดับ หรือสามารถผลิตพอลิเมอร์ 3092.1 และ 2931.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยทั่วไปจุลินทรีย์จะใช้ไนโตรเจนในรูปของสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนหรือสารประกอบอนินทรีย์ สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนใช้ในรูปของกรดอะมิโน โปรตีน หรือยูเรีย ส่วนสารประกอบพวกอนินทรีย์ไนโตรเจนซึ่งใช้ในรูปของแอมโมเนีย เกลือแอมโมเนียมหรือไนเตรต จุลินทรีย์ส่วนใหญ่เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนจะเจริญได้เร็วกว่าเลี้ยงในสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจน ดังนั้นการที่เจริญและผลิตพอลิเมอร์ได้ดีและสูง



ภาพที่ 8 ผลของแหล่งไนโตรเจน (ความเข้มข้นร้อยละ 0.1) ต่อการเจริญและการผลิตพอลิเมอร์ของเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์(ที่ระดับเจือจาง 1:1) บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

Fig. 8 Effect of nitrogen sources (0.1%) on growth and polymer production from *Rhizopus* sp. ST29 cultivated in decanter effluent (1:1 dilution) after 4 days incubation on a shaker (200 rpm) at 45 °C

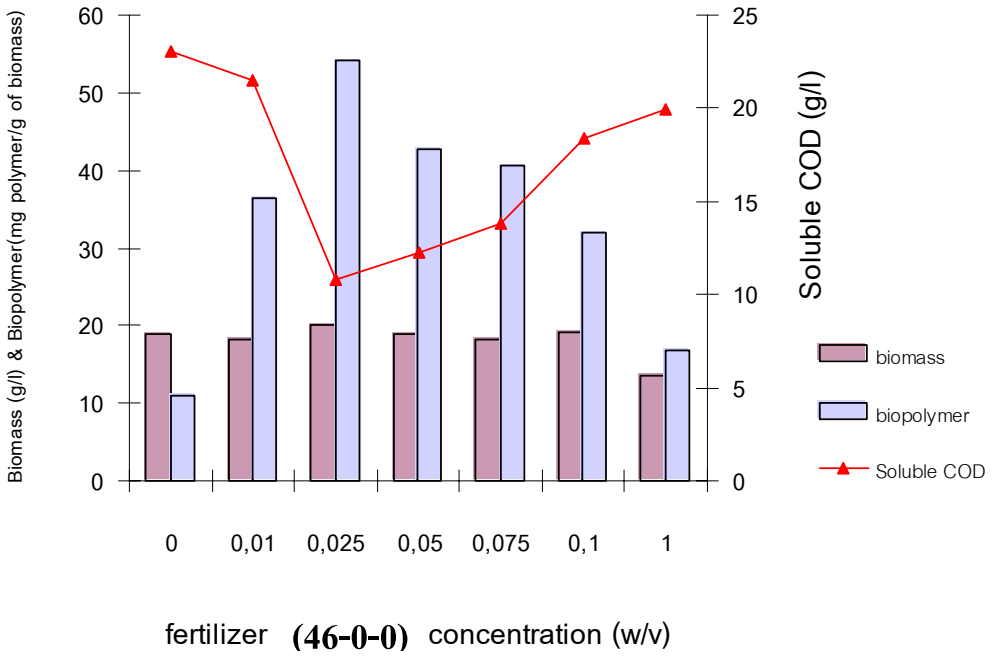
ในปุ๋ยเนื่องจากเชื้อมีความสามารถใช้สารอาหารที่มีอินทรีย์ไนโตรเจน(ปุ๋ย) เพื่อใช้ในการเจริญและผลิตพอลิเมอร์ได้เร็วกว่าพวกอนินทรีย์ไนโตรเจนซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญของไมซิเลียมและการผลิต exo-biopolymer จากเชื้อรา *Auricularia polytricha* โดยทำการเลี้ยงในอาหารที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนต่างกัน ได้แก่ corn-steep power, malt extract, meat peptone, polypeptone, yeast extract, ammonium phosphate และ sodium nitrate ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 พบว่า ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้การเจริญและผลิต exo-biopolymer ได้สูงสุด และพบว่า เมื่อใช้สารอนินทรีย์ไนโตรเจนความสามารถเจริญและผลิต exo-biopolymer ได้ต่ำ (Xu *et al.,* 2003) Takagi และ Kadowaki (1985 อ้างโดยวีระพันธุ์ เดิมหลิ่ม และพูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2540) ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตโพลีแซคคาไรด์จากเชื้อรา *Paecilomyces* sp. I-1 พบว่า อาหารที่เติมสารพวกโพลีเปปโตน และกรดคาซามิโนหลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วัน ซึ่งเป็นจำพวกอินทรีย์ไนโตรเจนเช่นกัน (เข้มข้นร้อยละ3) ให้ผลผลิตพอลิเมอร์ถึง 564 และ398 มิลลิลิตรต่อลิตร

เมื่อพิจารณาจากการลดค่าซีโอดี พบว่าเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 สามารถลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เติมปุ๋ย เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด โดยลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 60.02 รองลงไปคือ ยูเรีย และ NH_4NO_3 ซึ่งมีความสามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 55.01 และ 50 ตามลำดับ ซึ่งการย่อยสลายสารอินทรีย์นั้นเชื้อราต้องอาศัยไนโตรเจนเพื่อการเจริญด้วย การใช้ปุ๋ย (46-0-0) เป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อการเจริญของเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 สอดคล้องกับการใช้ปุ๋ยชนิดเดียวกันนี้สำหรับการเลี้ยงสาหร่าย *Polycavernosa chagii* (สมศักดิ์ แสนสุข และคณะ, 2533)

เมื่อพิจารณาจากประสิทธิภาพการเจริญของเชื้อ, ปริมาณการผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพ และประสิทธิภาพการลดลงของซีโอดี จึงเลือกปุ๋ย (46-0-0) เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการทดลองต่อไป

3.2 ผลของความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่คัดเลือกได้

เนื่องจากปริมาณไนโตรเจนมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และการผลิตพอลิเมอร์ จึงศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของปุ๋ย (46-0-0) โดยการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (ระดับความเจือจางที่ 1 : 1) ที่มีการเติมปุ๋ยยูเรียที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.01, 0.025, 0.050, 0.075, 0.1 และ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน (ภาพที่ 9) พบว่า เชื้อสามารถเจริญได้ดีที่สุดในน้ำทิ้งที่มีการเติมปุ๋ย ที่ร้อยละ 0.025 การเติมปุ๋ย พีเอชเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของไนโตรเจน (ปุ๋ย) ที่เพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นจาก 5.02 เป็น 8.62 ส่วนน้ำทิ้งที่ไม่เติมแหล่ง



ภาพที่ 9 ผลของความเข้มข้นของปุ๋ย (46-0-0) ต่อการเจริญและการผลิตพอลิเมอร์ของเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์(ที่ระดับเจือจาง 1:1) บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

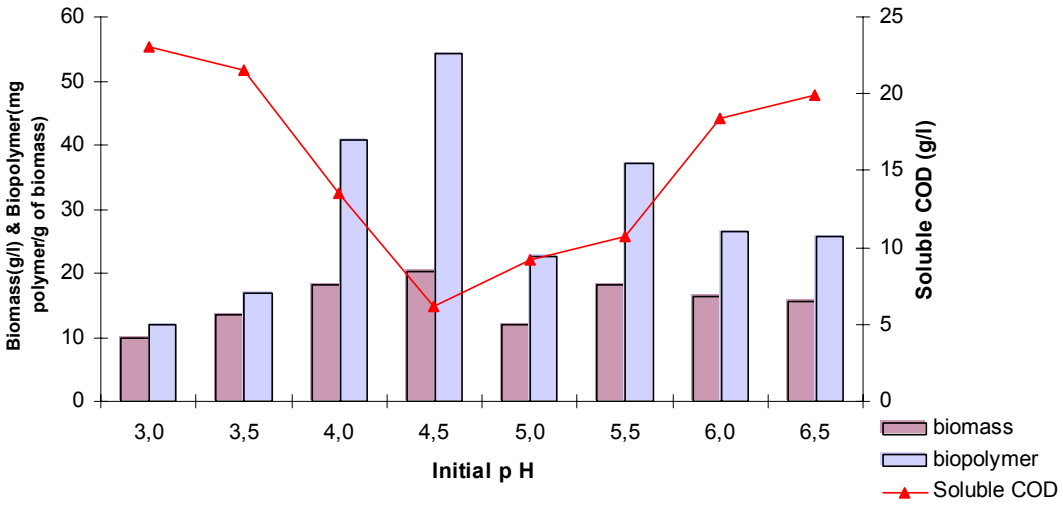
Fig. 9 Effect of fertilizer (46-0-0) concentration on growth and polymer production from *Rhizopus* sp. ST29 cultivated in decanter effluent (1:1 dilution) after 4 days incubation on a shaker (200 rpm) at 45 °C

ไนโตรเจน (ชุดควบคุม) มีค่าพีเอชสุดท้ายเท่ากับ 4.97 สำหรับการเจริญและการผลิตพอลิเมอร์ของเชื้อ พบว่า เมื่อมีการเติมปุ๋ยร้อยละ 0.025 พบว่า เชื้อสามารถเจริญได้สูงสุด และสามารถผลิตพอลิเมอร์ได้มากที่สุด โดยให้ปริมาณมวลชีวภาพ 19.28 กรัมต่อลิตร และ 52.19 มิลลิกรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมมวลชีวภาพ ตามลำดับ ในขณะที่น้ำทิ้งที่มีการเติมปุ๋ย ร้อยละ 0, 0.01, 0.050, 0.075, 0.1 และ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ให้ปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 18.83, 18.27, 18.95, 18.33, 19.18 และ13.43 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และให้ปริมาณพอลิเมอร์ชีวภาพ 10.90, 36.46, 42.75, 40.68, 32 และ16.82 มิลลิกรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมมวลชีวภาพ ตามลำดับ แหล่งไนโตรเจนที่เติมลงไปจะใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนและกรดนิวคลีกอิก ถ้ามีไนโตรเจนในตัวกลางไม่เพียงพอ กลุ่มจุลินทรีย์จะไม่สามารถกำจัดสารอินทรีย์ได้ทั้งหมด เพราะไม่สามารถสังเคราะห์เซลล์หลังจากที่ไนโตรเจนหมด ซึ่งสำคัญมากในการบำบัดน้ำเสีย (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2525) แต่ไนโตรเจนที่มากเกินไปอาจมีผลยับยั้งการเจริญได้ โดย Hill และThommel (1982) พบว่า การเติมแอมโนเนียที่มากเกินพอ ทำให้โปรตีนในเซลล์ยีสต์ลดลง เนื่องจากแอมโมเนียยับยั้งการใช้กรดอะมิโนของยีสต์

เมื่อพิจารณาจากการลดค่าซีโอดี พบว่าเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 สามารถลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งเครื่องดีแคนเตอร์ที่เติมปุ๋ย ที่ร้อยละ 0.025 จะลดค่าซีโอดีร้อยละ 65 รองลงไป คือ สภาวะที่เติมปุ๋ยยูเรีย ที่ร้อยละ 0.050, 0.075, 0.1, 1 , 0.1 และไม่เติมปุ๋ย (ชุดควบคุม) ซึ่งมีความสามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 60.02, 55.01, 40, 35.02, 30,01 และ 25 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากประสิทธิภาพการเจริญของเชื้อและปริมาณการผลิตพอลิเมอร์ จึงเลือกปุ๋ย (46-0-0) เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.025 สำหรับการทดลองต่อไป

3.3 ผลของพีเอชเริ่มต้น

จากการเลี้ยง เชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่มีการเติมปุ๋ย (46-0-0) ร้อยละ 0.025 ที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นที่ระดับต่างๆ ได้แก่ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 และ6.5 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน (ภาพที่ 10) พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีในพีเอชช่วงกว้าง คือ พีเอช 3.19-6.2 โดยพีเอช 3.0 และ 3.5 ซึ่งมีความเป็นกรด มีผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อมากกว่าในน้ำทิ้งที่มีพีเอชเริ่มต้นอื่นๆ เนื่องจากการทำงานเอนไซม์จะทำงานได้ดีหรือไม่ต้องอาศัยพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานโดยที่เอนไซม์เป็นตัวควบคุมกระบวนการของเมตาบอลิซึมต่างๆ (Walker, 1998) ในการศึกษาผลของพีเอชมีผลต่อจลนพลศาสตร์ ในกรณีที่สารประกอบอินทรีย์สามารถทำให้แตกตัวเป็นไอออน ซึ่งเซลล์ใช้เฉพาะรูปที่ไม่แตกตัวเท่านั้นเป็นสารอาหาร ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชจะเปลี่ยนตามความเข้มข้นของสารอาหารที่นำมาใช้



ภาพที่ 10 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเจริญและการผลิตพอลิเมอร์ของเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์(ที่ระดับเจือจาง 1:1) ที่มีการเติมปุ๋ย (46-0-0) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.025 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

Fig. 10 Effect of initial pH on growth and polymer production from *Rhizopus* sp. ST29 cultivation in decanter effluent (1:1 dilution) after 4 days incubation on a shaker (200 rpm) at 45 °C

แม้ว่าความเข้มข้นของ สารอินทรีย์จะไม่เปลี่ยนแปลง ในกรณีเช่นนี้ค่าพีเอชจะมีอิทธิพลต่อทั้งเซลล์และรูปของสารอาหารในขณะเดียวกัน ค่าพีเอชของตัวกลางมีผลต่อค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (μ_m) โดยกลุ่มจุลินทรีย์ส่วนมากอยู่ที่ค่า μ_m ไม่ไวต่อพีเอช ซึ่งจะอยู่ในช่วง 2-3 หน่วยของพีเอช แต่เมื่อพีเอชเปลี่ยนแปลงค่า μ_m จะลดลงมากทันที เชื้อราหลายชนิดเหมาะสมกับพีเอชต่างๆ ส่วนแบคทีเรียส่วนใหญ่มีพีเอชที่เหมาะสมอยู่ประมาณ 7 (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2525) สำหรับการเจริญน้ำหนักมวลชีวภาพและการผลิตพอลิเมอร์ พบว่า เชื้อ สามารถเจริญได้สูงสุด เท่ากับ 20.18 กรัมต่อลิตร และผลิตพอลิเมอร์ได้มากที่สุด คือ 54.09 มิลลิกรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมมวลชีวภาพ ที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 4.5 ส่วนที่พีเอชในระดับต่างๆ รองลงมา คือ 5.5, 4.0, 6.0, 6.5, 3.5, 5.0 และ 3.0 ซึ่งให้มวลชีวภาพ เท่ากับ 18.27, 18.13, 16.30, 15.64, 13.43, 12.00 และ 9.83 กรัมต่อลิตร และขณะที่การผลิตพอลิเมอร์ของพีเอชในระดับต่างๆ รองลงมา คือ 4.0, 5.5, 6.0, 6.5, 5.0, 3.5 และ 3.0 ซึ่งให้มวลชีวภาพ เท่ากับ 40.9, 37.2, 26.6, 25.75, 22.65, 16.82 และ 7.9 มิลลิกรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมมวลชีวภาพ จะเห็นได้ว่า พีเอชที่เหมาะสมในการเจริญไม่จำเป็นต้องเป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพเสมอไป เช่น การผลิตโพลีแซคคาไรด์ โดยเชื้อรา *Aureobasidium pullulan* พบว่า การเจริญของเชื้อจะดีที่พีเอช 2.0 แต่จะให้โพลีแซคคาไรด์สูงสุดที่พีเอช 6.5 ซึ่งจุลินทรีย์บางชนิด ก็มีพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญกับพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์ที่พีเอชเดียวกัน (Badr-Eldin และคณะ, 1994 อ้างโดยวีระพันธุ์ เดิมหลิ่มและพูนสุข ประเสริฐสรรพ์, 2540)

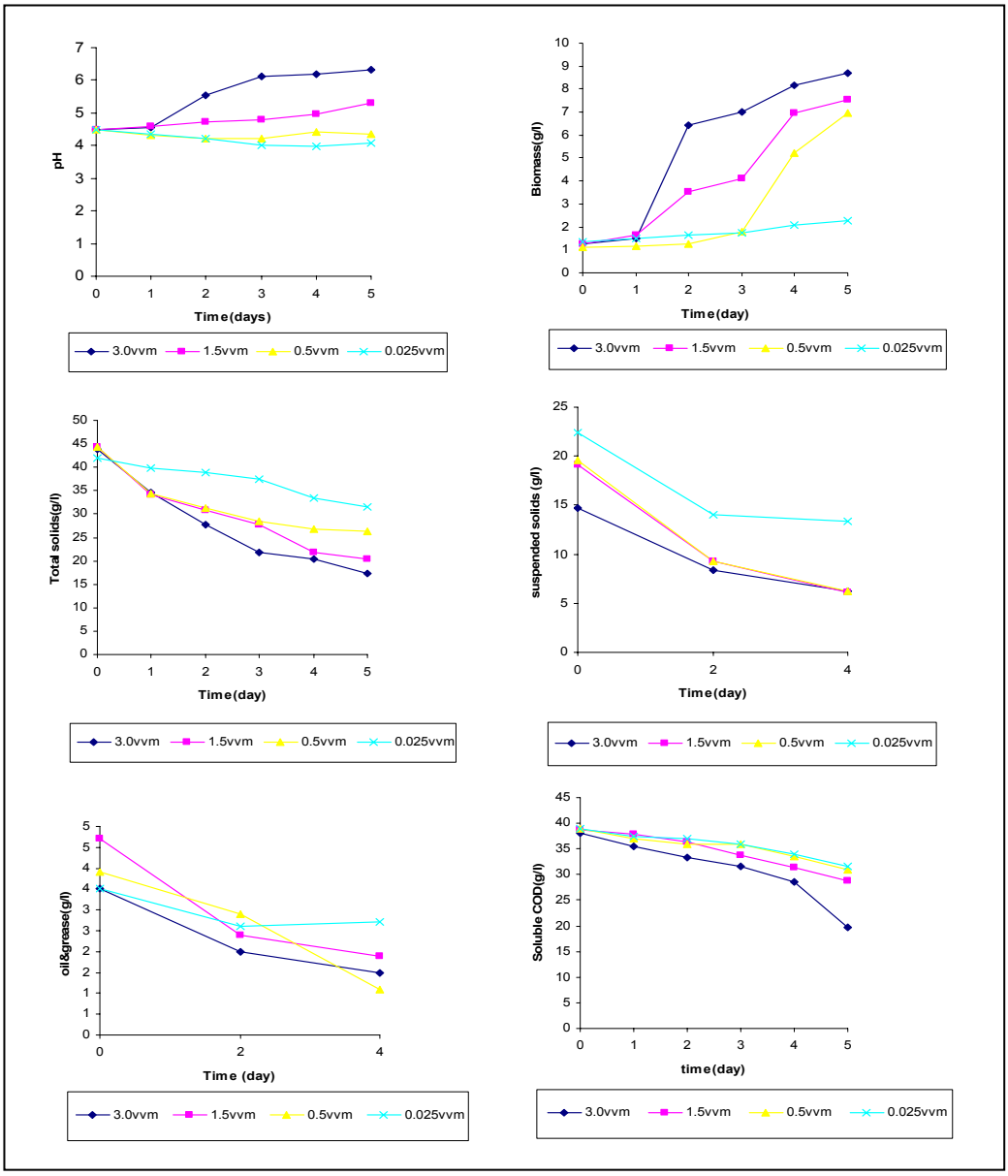
อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจากการลดค่าซีโอดี พบว่าเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 สามารถลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เติมปุ๋ย ที่ร้อยละ 0.025 และปรับพีเอชเริ่มต้นที่ 4.5 จะลดค่าซีโอดี ร้อยละ 80

4. ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งโดยเชื้อราทนร้อนในถังหมัก

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตพอลิเมอร์ของเชื้อราที่คัดเลือกไว้ (ตามสภาวะข้อ 3) ทำการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp.ST29 ในสภาวะดังกล่าว ในถังหมักชนิดต่างๆ เป็นเวลา 5 วัน สุ่มตัวอย่างและวิเคราะห์ผลตามที่ระบุในข้อ 2.3 และศึกษาปัจจัยดังนี้

4.1 ผลของอัตราการให้อากาศในถังหมักแอร์ลิฟท์

จากการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่เจือจางที่ระดับ 1:1 (ค่าซีโอดีที่ละลายน้ำเริ่มต้น 38 กรัมต่อลิตร, พีเอช 4.5) และเติมปุ๋ย (46-0-0) ร้อยละ 0.025 และให้อัตราการให้อากาศในถังหมักแอร์ลิฟท์ คือ 3.0, 1.5, 0.5 และ 0.025 vvm ที่อุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 11) พบว่า *Rhizopus* sp. ST29 ที่อัตราการให้อากาศในถังหมักแอร์ลิฟท์ 3.0, 1.5, 0.5 และ 0.025 vvm มีค่าพีเอชเปลี่ยนแปลงจาก 4.5 เป็นประมาณ 6.32, 5.30, 4.3, 4.07 ตามลำดับ



ภาพที่ 11 ผลของอัตราการให้อากาศในถังหมักแอร์ลิฟท์ต่อค่าพีเอช การเจริญ และปริมาณของของแข็ง (ทั้งหมดและแขวนลอย) ระหว่างการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เจือจาง (1:1) และเติมปุ๋ย (46-0-0) ร้อยละ 0.025 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Fig. 11 Effect of aeration rate in air lift fermentor on pH, growth and solids (total solids and suspended solids) during treatment of decanter effluent (1:1 dilution) by *Rhizopus* sp. ST29 after 5 days incubation on a air lift reactor at 45 °C.

สอดคล้องกับการเจริญของเชื้อซึ่งพบว่าเชื้อ *Rhizopus* sp.ST29 สามารถเจริญได้ดีที่สุด หลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วัน โดยมีปริมาณมวลชีวภาพ 8.673, 7.56, 6.98 และ 2.25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่เวลา 5 วัน จะเห็นได้ว่าที่อัตราการให้อากาศในถังหมักแอร์ลิฟท์ 3.0 vvm ให้ค่าพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 4.5 เป็น 6.32 และมีปริมาณมวลชีวภาพสูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากในอาหารที่มีออกซิเจนละลายอยู่สูง จุลินทรีย์จะมีอัตราจำเพาะของการดูดซึมออกซิเจนได้สูงสุด และสามารถผลิตเซลล์ได้สูงสุด แต่หากความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในอาหารต่ำ จะทำให้จุลินทรีย์ผลิตเซลล์ได้น้อยและเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์จะเปลี่ยนแปลงไป (Stanbury and Whitaker, 1986) ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชได้เช่นกัน นอกจากนี้พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดลดลงตามการเจริญของเชื้อ ซึ่งจะลดลงดีที่สุด เมื่อวันที่เชื้อเจริญได้ดีที่สุดเช่นกัน โดยลดลงได้ 17.62, 20.48, 26.26 และ 31.54 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อและเลี้ยงในสภาวะเดียวกัน พบว่า *Rhizopus* sp.ST29 สามารถลดค่าของแข็งทั้งหมด และของแข็งแขวนลอยทั้งหมดได้ดีที่สุดเท่ากับ 17.26 และ 6.2 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่วันที่ 5 ของการเจริญ ที่อัตราการให้อากาศในถังหมักแอร์ลิฟท์ 3.0 vvm รองลงมาคือที่อัตราการให้อากาศในถังหมักแอร์ลิฟท์ 1.5 vvm สามารถลดค่าของแข็งทั้งหมดและของแข็งแขวนลอยทั้งหมดได้ 20.48 และ 6.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่วันที่ 5 *Rhizopus* sp. ST29 สามารถลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุดร้อยละ 50 หลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วัน ที่อัตราการให้อากาศ 3.0 vvm ในทำนองเดียวกัน Cereti และ คณะ (2004) พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *A.niger* NB2 ในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันมะกอกในถังหมักแอร์ลิฟท์ที่อัตราการให้อากาศ 2.0 vvm สามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 35 โดยมีค่าเริ่มต้น 36 กรัมต่อลิตร เหลือ 23.3 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อทดสอบการตกตะกอนของของแข็งทั้งหมดและสารแขวนลอยโดยตั้งทิ้งน้ำหมัก ไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า น้ำหมักที่ให้อัตราการให้อากาศในถังหมักแอร์ลิฟท์ 3.0 vvm สามารถตกตะกอนของของแข็งทั้งหมดและสารแขวนลอยทำให้น้ำหมักใสขึ้นมากที่สุด ดังตารางที่ 8

เมื่อศึกษาการผลิตเอนไซม์ พบว่าหลังการเลี้ยง 5 วันเชื้อ *Rhizopus* sp.ST29 ที่อัตราการให้อากาศในถังหมักแอร์ลิฟท์ คือ 3.0, 1.5, 0.5 และ 0.025 vvm พบว่าที่อัตราการให้อากาศ 3.0 vvm เชื้อใช้แอคติวิตี้ของเอนไซม์ carboxymethylcellulase (CMCase), ไซลาเนส, เพคติเนส สูงสุดมีค่า 89.88, 1655.15 และ 0.557 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยพบแอคติวิตี้ไลเปสได้น้อย ส่วนแอคติวิตี้จำเพาะของเอนไซม์ มีค่าเท่ากับ 65.931, 10.62 และ 0.786 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีนตามลำดับ (ภาพที่ 12) Kim และคณะ(1997) ศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนส จากเชื้อรา *A.niger* KKS ในถังหมักชนิดต่างๆ ได้แก่ shaker-flask, stirred-tank, bubble-column และ air lift พบว่า เชื้อให้แอคติวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสได้ดีที่สุดใน air lift เท่ากับ 823

ตารางที่ 8 ผลของอัตราการให้อากาศในถังหมักแอร์ลิฟท์ต่อลักษณะการแยกสารแขวนลอยและสีของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่เจือจาง (1 : 1) และเติมปุ๋ย (4 6 - 0 - 0) ในการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียลเป็นเวลา 5 วัน

Table 8 Effect of aeration rate in air lift fermenttor on characteristic on the separation of suspended solids and color of 1:1 dilution decanter effluent from treatment by *Rhizopus* sp. ST29 after 5 days at 45 °C.

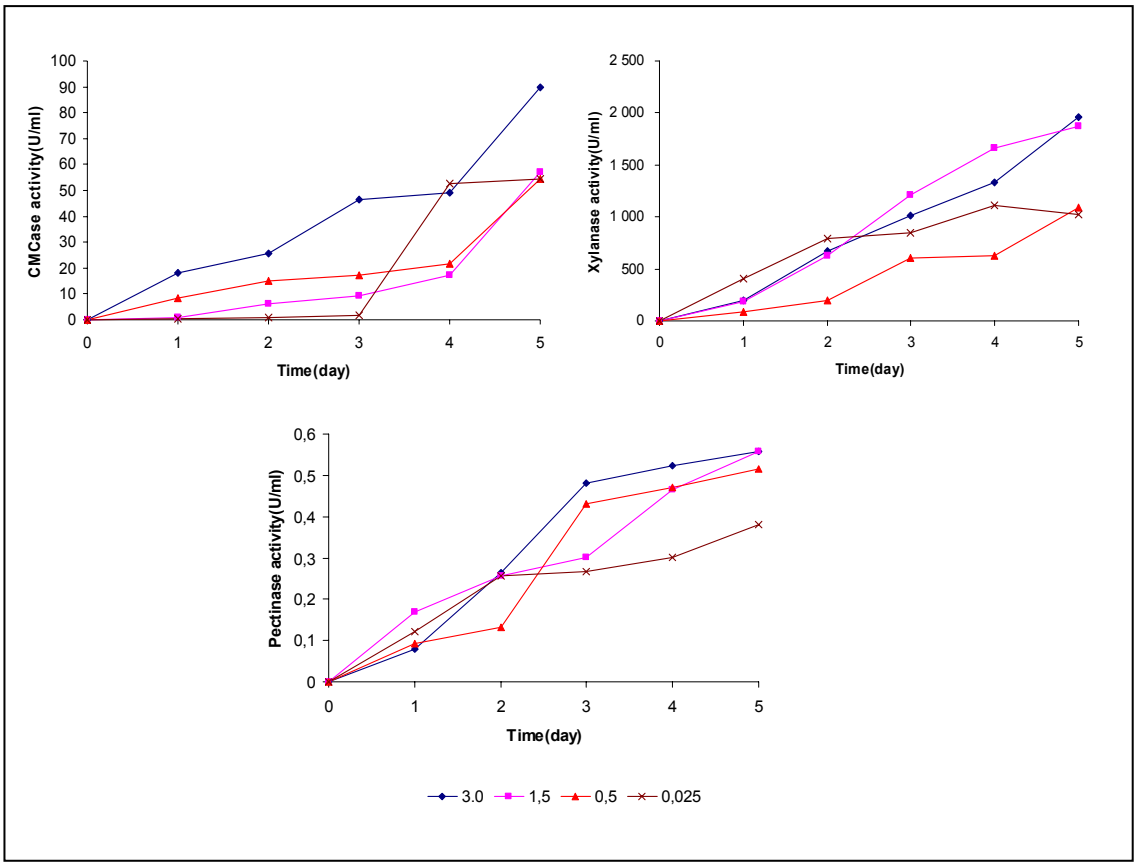
Days	3.0 vvm	1.5 vvm	**0.5 vvm**	**0.025 vvm**
	Characteristic	Characteristic	Characteristic	Characteristic
0	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)
Separation appearance into 3 parts as above but were different				
1	- Clearer, brown color - (T) : (5 ml.) - (M) : (16 ml.) - (B) : (19 ml.)	- Cloudt, brown color - (T) : (24 ml.) - (M) : (15 ml.) - (B) : (1 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (24 ml.) - (M) : (25 ml.) - (B) : (1 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (6 ml.) - (M) : (15 ml.) - (B) : (19 ml.)
2	- Clearer, brown color - (T) : (6 ml.) - (M) : (24 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (22 ml.) - (M) : (13 ml.) - (B) : (5 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (22 ml.) - (M) : (11 ml.) - (B) : (17 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (23 ml.) - (M) : (10 ml.) - (B) : (7 ml.)
3	- Clearer, brown color - (T) : (5 ml.) - (M) : (34 ml.) - (B) : (1 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (20 ml.) - (M) : (13 ml.) - (B) : (7 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (20 ml.) - (M) : (20 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (15 ml.) - (M) : (10 ml.) - (B) : (15 ml.)

ตารางที่ 8 (ต่อ)

Table 8 (Conntinue)

Days	3.0 vvm	1.5 vvm	**0.5 vvm**	**0.025 vvm**
	Characteristic	Characteristic	Characteristic	Characteristic
4	- Clearer, brown color - (T) : (2 ml.) - (M) : (35 ml.) - (B) : (3 ml.)	- Cloudt, brown color - (T) : (6 ml.) - (M) : (15 ml.) - (B) : (19 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (20 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (19 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (6 ml.) - (M) : (25 ml.) - (B) : (4 ml.)
5	- Clearer, brown color - (M) : (38 ml.) - (B) : (2 ml.)	- Cloudy brown color - (T) : (5 ml.) - (M) : (16 ml.) - (B) : (19 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (25 ml.) - (B) : (15 ml.)	- Cloudy, brown color - (T) : (20 ml.) - (M) : (20 ml.)

หมายเหตุ : ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ 40 มล.



ภาพที่ 12 ผลของอัตราการให้อากาศในถังหมักแอร์ลิฟท์ต่อการผลิตเอนไซม์ระหว่างการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เจือจาง (1:1) และเติมปุ๋ย(46-0-0) ร้อยละ 0.025 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Fig. 12 Effect of aeration rate in air lift fermenttor on production of enzyme during treatment of decanter effluent (1:1 dilution) by *Rhizopus* sp. ST29 after 5 days incubation on a air lift reactor at 45 °C.

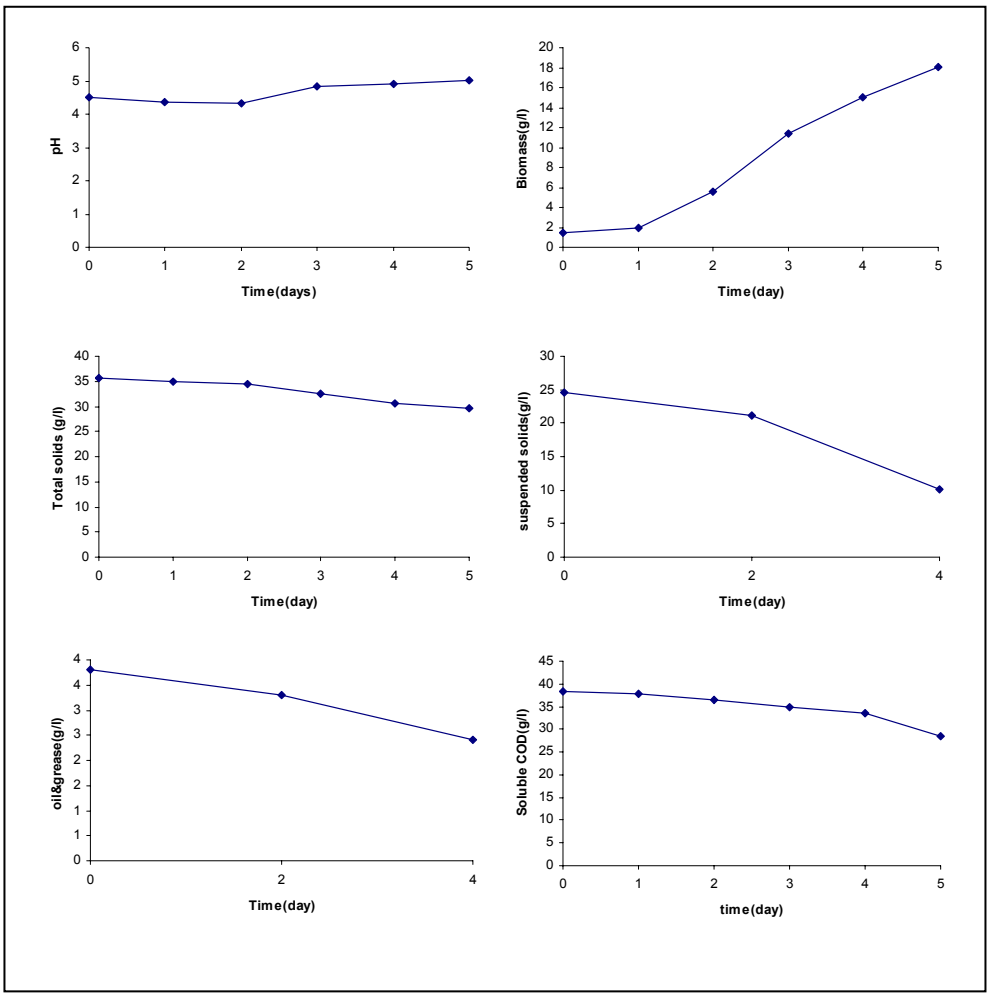
ยูนิตมิลลิลิตร การที่เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ไซลาเนสได้ก่อนเอนไซม์ CMCase ทั้งนี้เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสเป็นสารที่ย่อยได้ง่ายกว่าเซลลูโลส (Chahal, 1986 อ้างโดยจารุวรรณ มณีศรี, 2538) และอาจเป็นผลของการกระตุ้นโดยสับสเตรต หรือ ผลของการยับยั้งของผลิตภัณฑ์น้ำตาลในน้ำทิ้ง ซึ่งเปลี่ยนแปลงระหว่างการบำบัดในแต่ละระดับการให้อากาศ

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าที่อัตราการให้อากาศที่ต่ำเกินไป ทำให้เชื้อราเจริญเติบโตไม่ดีนัก เนื่องจากปริมาณการนำออกซิเจนเข้าระบบไม่เพียงพอ จึงทำให้ค่าต่างๆได้ต่ำกว่าการให้อากาศสูงๆ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของเชิดพงษ์ ธนารักษ์ และคณะ (2546) ศึกษาผลการให้อากาศที่มีต่อการหมักเชื้อรา *R . oligosporus* ในถังหมักแบบ packed bed bioreactor พบว่าที่อัตราการให้อากาศชั้นที่ 2.4 ลิตรต่อนาที เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราที่สุด

ในด้านการผลิตพอลิเมอร์ พบว่าเชื้อไม่มีการจับตัวเกิดเป็นพอลิเมอร์ในทุกสภาวะของการเจริญในถังหมักแอร์ลิฟท์ อาจเนื่องจากการให้อากาศแก่จุลินทรีย์เป็นการให้ออกซิเจนซึ่งเป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อการเจริญ โดยเฉพาะเมื่อต้องการผลิตมวลชีวภาพ การให้อากาศเข้าสู่อาหารเลี้ยงเชื้อกระทำได้ 2 วิธี คือ การใช้เครื่องเขย่า (shaker) ซึ่งมี 2 แบบ คือ เครื่องเขย่าแบบ reciprocal shaker เป็นเครื่องเขย่าที่มีลักษณะการเคลื่อนที่แบบกลับไปกลับมาตามแนวราบ และเครื่องเขย่าแบบrotary shaker เป็นเครื่องเขย่าที่ให้อากาศโดยการหมุนเป็นวงกลม อีกวิธีคือ การใช้เครื่องอัดอากาศเข้าไปในถังหมัก (Stanbury and Whitaker, 1986) เนื่องจากกระบวนการผลิตเซลล์เพื่อการเจริญต้องการอากาศที่เหมาะสม ดังนั้นวิธีข้างต้นยังไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตพอลิเมอร์เช่นกัน และ Ziegler และคณะ (1980 อ้างโดยสุธา เกลาฉีด, 2541) พบว่า แรงเฉือนที่เกิดขึ้นในถังหมักแบบอากาศยก หรือแอร์ลิฟท์ ทำให้แนวโน้มในการจับกันเป็นก้อนของเชื้อราลดลง

4.2 ผลของการกวนในถังหมักที่มีการกวนอย่างต่อเนื่อง (CSTR)

จากการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp.ST29 ในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์โดยเจือจางที่ระดับ 1:1 (ค่า soluble COD เริ่มต้น 38.25 กรัมต่อลิตร, พีเอช 4.5) และเติมปุ๋ย (46-0-0) ร้อยละ 0.025 ที่อุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส โดยมีการกวนอย่างเดียวที่ 200 รอบต่อนาที ไม่มีการเติมอากาศ (ภาพที่ 13) พบว่าพีเอชมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 4.5 เป็นประมาณ 5.02 หลังการเลี้ยงเชื้อ 5 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญของเชื้อซึ่งพบว่า *Rhizopus* sp. ST29 สามารถเจริญได้ดีที่สุด ให้ปริมาณมวลชีวภาพ 18.11 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 5 วัน การที่ถังหมักมีใบพัดกวนให้อากาศจะทำให้เชื้อ อากาศ และสารอาหารในน้ำเสียผสมกันอย่างทั่วถึงและช่วยให้ฟองอากาศมีขนาดเล็กลง และสามรถกระจายได้ดีสม่ำเสมอทั่วทั้งถัง (Stanbury and Whitaker, 1986) Vananuvat และKinsella (1975 อ้างโดย



ภาพที่ 13 ผลของการกวนในถังหมักที่มีการกวนอย่างต่อเนื่อง (CSTR) ต่อค่าพีเอช การเจริญ และปริมาณของของแข็ง (ทั้งหมดและแขวนลอย) ระหว่างการบำบัดด้วยเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เจือจาง (1:1) และเติมปุ๋ย(46-0-0) ร้อยละ 0.025 ที่อุณหภูมิ45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Fig. 13 Effect of agitation in continuous stirred-tank reactor (CSTR) fermentor on pH, growth and solids (total solids and suspended solids) during cultivation of *Rhizopus* sp. ST29 in decanter effluent (1:1 dilution) with the addition of fertilizer 0.025% (46-0-0) after 5 days incubation on a CSTR reactor at 45 °C.

ขนิษฐา ณัฐนนท์วรกานต์, 2543) ในเลี้ยงเชื้อ *Saccharomyces fragilis* พบว่า ความเร็วรอบของการกวนมีผลต่อส่วนประกอบภายในเซลล์ของเชื้อ โดยการเพิ่มความเร็วรอบของการกวนทำให้เชื้อผลิตกรดนิวคลีอิกเพื่อมาสร้างในการแบ่งเซลล์มากขึ้น ทำให้มีการเจริญ เพิ่มปริมาณขึ้น ขณะที่ปริมาณโปรตีนในเซลล์ลดลงเมื่อความเร็วรอบของการกวนเพิ่มขึ้น แต่ Erckson และคณะ (1983 อ้างโดยสุธา เกลาฉีด, 2541) รายงานว่า การเลี้ยงเชื้อ *Steptomyces niveus* ในถังหมักแอร์ลิฟท์ขนาด 100 และ 200 ลิตร ให้ผลการผลิตที่ดีกว่าการเลี้ยงในถังหมักแบบกวน และกล่าวว่า ถังหมักแบบแอร์ลิฟท์เหมาะสมที่สุดในการหมักที่มีการให้อากาศโดยเฉพาะในแง่ของการถ่ายโอนออกซิเจน ซึ่งมีการถ่ายโอนออกซิเจนได้ดีกว่าที่ระดับอัตราให้อากาศเดียวกัน

การเจริญของเชื้อที่เพิ่มขึ้นมีผลให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ลดลงเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งลดลงดีที่สุดเมื่อวันที่เชื้อเจริญได้ดีที่สุดเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อและเลี้ยงในสภาวะเดียวกัน พบว่า *Rhizopus* sp. ST29 สามารถลดค่าของแข็งทั้งหมดและของแข็งแขวนลอยทั้งหมด ได้ดีที่สุดเท่ากับ 29.66 และ 13.4 กรัมต่อลิตร ที่วันที่ 5 ของการเลี้ยงเชื้อ และทำให้ค่าซีโอดีลดลงจาก 38.27 กรัมต่อลิตร เหลือประมาณ 28.54 กรัมต่อลิตร หรือลดลงร้อยละ 25 เมื่อทดสอบการตกตะกอนของของแข็งทั้งหมดและสารแขวนลอยโดยตั้งทิ้งน้ำหมัก และไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า น้ำหมักที่ให้อัตราการให้อากาศในถังหมักธรรมดา (CSTR) สามารถตกตะกอนของของแข็งทั้งหมดและสารแขวนลอยทำให้น้ำหมักใสขึ้นมากที่สุด ดังตารางที่ 9

เมื่อศึกษาการผลิตเอนไซม์ พบว่าหลังการเลี้ยง 5 วันเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ที่อัตราการให้อากาศในถังหมักธรรมดา (CSTR) พบว่า ที่ในถังหมักที่มีการกวนอย่างเดียวเชื้อใช้แอคติวิตี้ของเอนไซม์ carboxymethylcellulase (CMCase), ไซนาเนส, เพคติเนสสูงสุดมีค่า 44.77, 1663.78 และ 1.117 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 14) ตามลำดับ โดยพบแอคติวิตี้ไลเปสได้น้อย ส่วนแอคติวิตี้จำเพาะของเอนไซม์ มีค่าเท่ากับ 5.92, 196.64 และ 0.132 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ตามลำดับ

4.3 ผลของการให้อากาศแบบเครื่องเขย่า

จากการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp.ST29 ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter เจือจางที่ระดับ 1:1 (ค่าซีโอดีที่ละลายน้ำเริ่มต้น 38.25 กรัมต่อลิตร, พีเอช 4.5) และเติมปุ๋ย (46-0-0) ร้อยละ 0.025 การให้อากาศแบบเครื่องเขย่า โดยใช้ฟลาสก์ ขนาด 1000 มิลลิลิตร ปริมาตรที่ใช้ คือ 500 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน (ภาพที่ 15) พบว่า พีเอชมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 4.5 เป็น 6.57 ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญของเชื้อและพบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีที่สุด โดยให้ปริมาณมวลชีวภาพสูงสุด 20.493 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 4 วัน ซึ่งจะพบว่ามีมวลชีวภาพมากที่สุดเมื่อเทียบกับการให้อากาศทั้ง 3 วิธี (แบบแอร์ลิฟท์, แบบ CSTR และ แบบเครื่องเขย่า) อาจเนื่องจากการให้อากาศแบบเครื่องเขย่าเป็นการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการผลิต รวมทั้งการกวนก็มีผลเช่นกัน Tan และ Gill

ตารางที่ 9 ผลของการกวนในถังหมักที่มีการกวนอย่างต่อเนื่อง (CSTR) ต่อลักษณะการแยกสารแขวนลอยและสี ของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่เจือจาง (1:1) และเติมปุ๋ย (46-0-0) ในการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียลเป็นเวลา 5 วัน

Table 9 Effect in continuous stirred-tank reactor (CSTR) fermentor (agitation only) on characteristic on the separation of suspended solids and color of 1:1 dilution decanter effluent from treatment by *Rhizopus* sp. ST29 after 5 days at 45 °C.

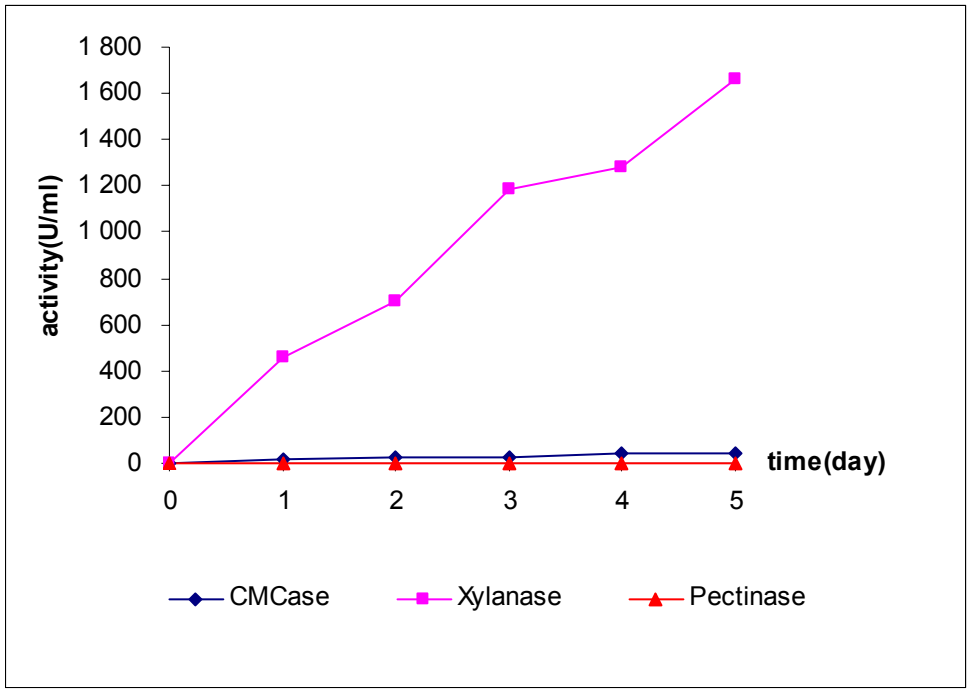
Days	Control	Countinuous stirred-tank reactor (CSTR) fermentor (agitation only)
	Appearance	Appearance
0	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)
Separation appearance into 3 parts as above but were different		
1	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Cloudy - brown color - T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)
2	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer - brown color - T) : (10 ml.) - (M) : (22 ml.) - (B) : (8 ml.)
3	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer - brown color - T) : (1 ml.) - (M) : (19 ml.) - (B) : (20 ml.)

ตารางที่ 9 (ต่อ)

Table 9 (Conntinue)

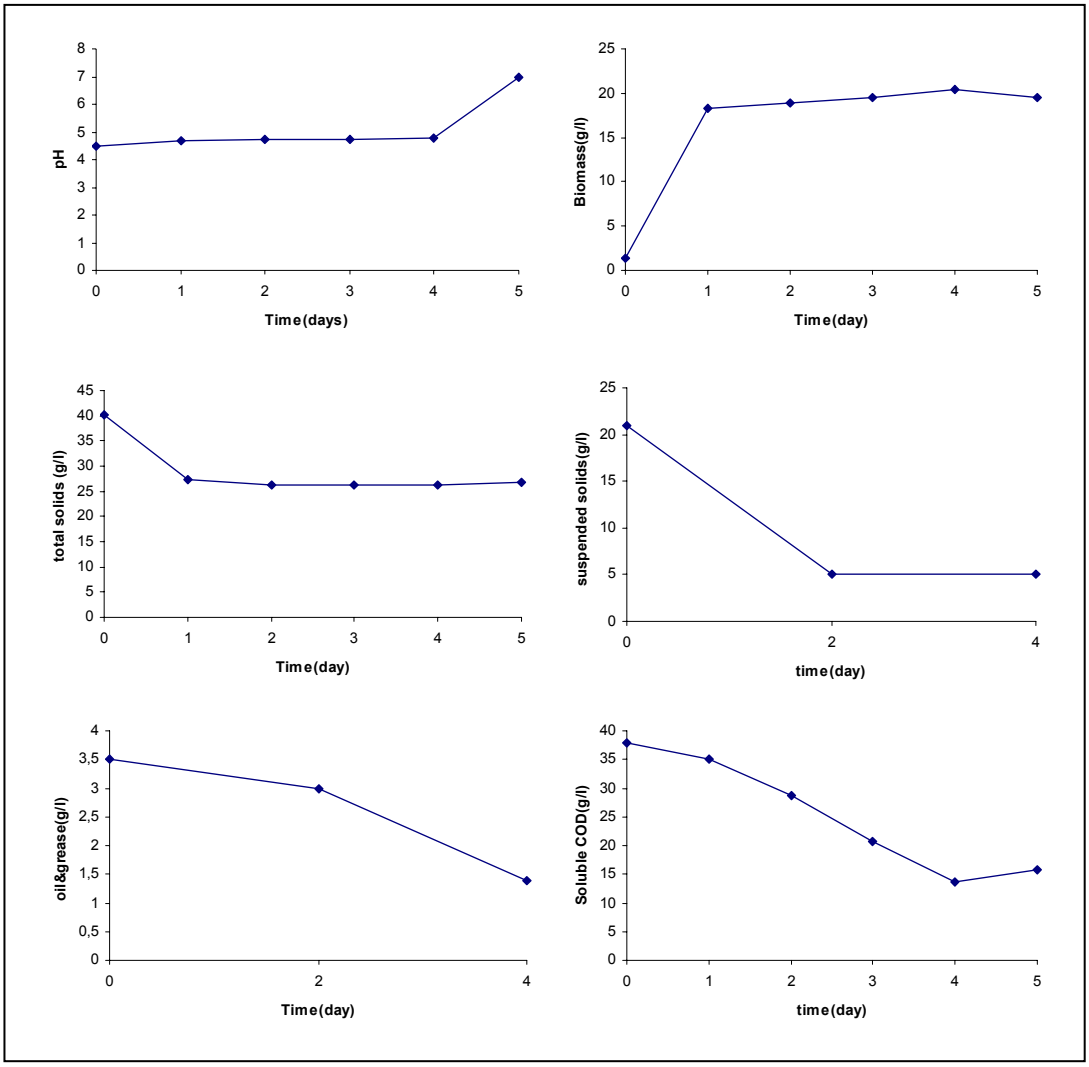
Days	Control	Countinuous stirred-tank reactor (CSTR) fermentor (agitation only)
	Appearance	Appearance
4	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer - brown color - T) : (3 ml.) - (M) : (21 ml.) - (B) : (8 ml.)
5	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer - brown color - T) : (5 ml.) - (M) : (25 ml.) - (B) : (5 ml.)

หมายเหตุ : ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ 40 มล.



ภาพที่ 14 ผลของการกวนในถังหมักที่มีการกวนอย่างต่อเนื่อง (CSTR) ต่อการผลิตเอนไซม์ระหว่างการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เจือจาง (1:1) และเติมปุ๋ย (46-0-0) ร้อยละ 0.025 ที่อุณหภูมิ45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Fig. 14 Effect of agitation in continuous stirred-tank reactor (CSTR) fermentor on production of enzyme during cultivation of *Rhizopus* sp. ST29 in decanter effluent (1:1 dilution) with the addition of fertilizer 0.025% (46-0-0) in a CSTR reactor after 5 days incubation at 45 °C.



ภาพที่ 15 ผลของการให้อากาศแบบใช้เครื่องเขย่าต่อค่าพีเอช การเจริญ และปริมาณของของแข็ง (ทั้งหมดและแขวนลอย) ระหว่างการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เจือจาง (1:1) และเติมปุ๋ย (46-0-0) ร้อยละ 0.025 บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Fig. 15 Effect of aeration by using a shaker on pH, growth and solids (total solids and suspended solids) during cultivation of *Rhizopus* sp. ST29 in decanter effluent (1:1 dilution) with the addition of fertilizer 0.025% (46-0-0) after 5 days incubation at 45 °C

(1985อ้างโดย ขนิษฐา ณัฐนนท์วรกานต์, 2543) ได้ศึกษาการเจริญของ *Sacharomycopsis lipolytica* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไขมันสัตว์เป็นแหล่งคาร์บอน โดยเลี้ยงให้ฟลาส์กขนาด 1.5 ลิตร และมีการให้อากาศโดยการกวนด้วยแท่งแม่เหล็ก พบว่า เมื่ออัตราการกวนเพิ่มขึ้นจะสามารถทำให้น้ำมันกระจายตัวในอาหารได้ดีและเร็วขึ้น เป็นเหตุให้อัตราการเจริญเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งมีผลให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดลดลงตามไปด้วย ซึ่งลดลงดีที่สุดเมื่อวันที่เชื้อเจริญได้ดีที่สุดเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อและเลี้ยงในสภาวะเดียวกัน พบว่า *Rhizopus* sp. ST29 สามารถลดค่าของแข็งทั้งหมดและของแข็งแขวนลอยทั้งหมดได้ดีที่สุดคือ 26.18 และ 5.4 กรัมต่อลิตร ที่วันที่ 4 ของการเจริญ นอกจากนี้ พบว่า *Rhizopus* sp. ST29 สามารถลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุดจากค่าซีโอดีเริ่มต้น 37.90 กรัมต่อลิตร เหลือประมาณ 13.54 กรัมต่อลิตร หรือลดลงร้อยละ 64 เมื่อทดสอบการตกตะกอนของของแข็งทั้งหมดและสารแขวนลอยโดยตั้งทิ้งน้ำหมัก และไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า น้ำหมักที่ให้การให้อากาศแบบเครื่องเขย่า สามารถตกตะกอนของของแข็งทั้งหมดและสารแขวนลอยทำให้น้ำหมักใสขึ้นมากที่สุด ดังตารางที่ 10

เมื่อศึกษาการผลิตเอนไซม์ พบว่าหลังการเลี้ยง 5 วันเชื้อ *Rhizopus* sp.ST29 ที่การให้อากาศในถังหมักแบบเครื่องเขย่า พบว่าเชื้อใช้แอคติวิตี้ของเอนไซม์ carboxymethylcellulase (CMCase), ไซนาเนส, เพคติเนส สูงสุดมีค่า 92.911, 2441.183 และ 0.922 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 16) โดยพบแอคติวิตี้ไลเปสได้น้อย ส่วนแอคติวิตี้จำเพาะของเอนไซม์ มีค่าเท่ากับ 10.98, 288.52 และ 0.109 ยูนิตต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ตามลำดับ

จะเห็นได้ว่าในการเลี้ยงแบบเครื่องเขย่าให้ค่าต่างๆที่สูงกว่า เมื่อเทียบกับการให้อากาศทั้ง 3 วิธี (การให้อากาศแบบแอร์ลิฟท์, แบบ CSTR และ แบบเครื่องเขย่า) อาจเนื่องจากเชื้อรา *Rhizopus* sp.ST29 นี้ต้องการอากาศแบบเครื่องเขย่า และเป็นการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการผลิตและยังสามารถเกาะตัวเป็นพอลิเมอร์ได้ ซึ่งทั้ง 2 วิธีแรกไม่เกิดการเกาะตัวของพอลิเมอร์ การให้อากาศเข้าสู่อาหารเลี้ยงเชื้อนั้น ก็คือการให้ออกซิเจนต่อเชื้อ การให้อากาศที่เหมาะสมจึงเป็นการส่งเสริมกระบวนการผลิตเซลล์เช่นกัน

ตารางที่ 10 ผลของการให้อากาศแบบใช้เครื่องเขย่าต่อลักษณะการแยกสารแขวนลอยและสีของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่เจือจาง (1:1) และเติมปุ๋ย (46-0-0) ในการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Table 10 Effect in shaker fermentor of aeration on characteristic on the separation of suspended solids and color of 1:1 dilution decanter effluent from treatment by *Rhizopus* sp. ST29 after 5 days on a shaker (1000ml) at 45 °C.

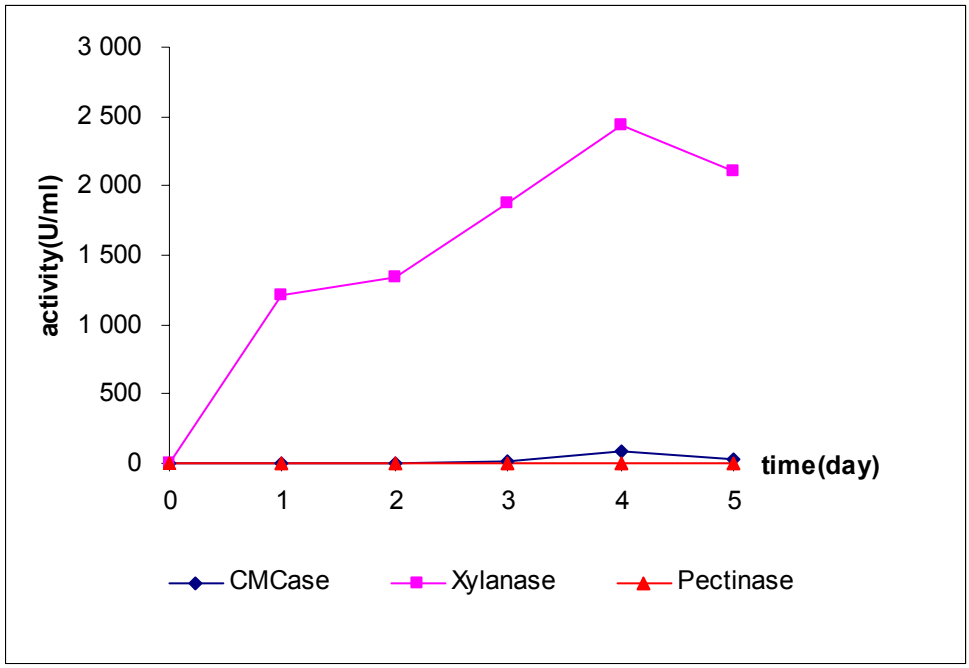
Days	Control	Shaker fermentor of aeration
	Appearance	Appearance
0	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)	- cloudy, brown color - Top layer (T):bulking suspended solids (ss) (10 ml.) - Middle layer (M) :clearer (20 ml.) - Bottom layer (B) :sediment (10 ml.)
Separation appearance into 3 parts as above but were different		
1	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Cloudy - brown color - T) : (5 ml.) - (M) : (28 ml.) - (B) : (7 ml.)
2	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer - brown color - T) : (3 ml.) - (M) : (32 ml.) - (B) : (5 ml.)
3	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer - brown color - T) : (1 ml.) - (M) : (36 ml.) - (B) : (3 ml.)

ตารางที่ 10 (ต่อ)

Table 10 (Conntinue)

Days	Control	Shaker fermentor of aeration
	Appearance	Appearance
4	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer - brown color - T) : (3 ml.) - (M) : (37 ml.)
5	- Cloudy, brown color - (T) : (10 ml.) - (M) : (20 ml.) - (B) : (10 ml.)	- Clearer - brown color - T) : (5 ml.) - (M) : (35 ml.)

หมายเหตุ : ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ 40 มล.



ภาพที่ 16 ผลของการให้อากาศแบบใช้เครื่องเขย่าต่อการผลิตเอนไซม์ระหว่างการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เจือจาง (1:1) และเติมปุ๋ย (46-0-0) ร้อยละ 0.025 บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

Fig. 16 Effect of aeration by using a shaker on production of enzyme during cultivation of *Rhizopus* sp. ST29 in decanter effluent (1:1 dilution) with the addition of fertilizer 0.025% (46-0-0) after 5 days incubation at 45 °C.

5. การบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มในสภาวะไม่ปลอดเชื้อ

5.1 ศึกษาผลของการฆ่าเชื้อและไม่ฆ่าเชื้อน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ใช้เลี้ยงเชื้อราทนร้อน

เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่ระดับความเจือจางที่ 1:1 (ซีโอดีที่ละลายน้ำ 22.4 กรัมต่อลิตร) (ตามสภาวะข้อที่ 3.3) ในอ่างแก้ว ในสภาวะที่ฆ่าเชื้อและไม่ฆ่าเชื้อ และเติมปุ๋ย (46-0-0) ร้อยละ 0.025 โดยมีน้ำทิ้งที่ไม่ฆ่าเชื้อและไม่เติมเชื้อเริ่มต้นแต่เติมปุ๋ย (46-0-0) ร้อยละ 0.025 เป็นชุดควบคุม เป็นเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 11 และภาพที่ 17) พบว่า พีเอชเริ่มต้นของน้ำทิ้งที่ผ่านและไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ มีค่าพีเอชที่ไม่แตกต่างกันมากนัก น้ำทิ้งที่ไม่มีการฆ่าเชื้อให้ค่ามวลชีวภาพสูงกว่าน้ำทิ้งที่มีการฆ่าเชื้อโดยมีค่าเท่ากับ 0.723 และ 0.191 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม 0.043 กรัมต่อลิตร และมีการลดลงของไนโตรเจนร้อยละ 24.93 และ 16.55 ตามลำดับ ค่าซีโอดีที่ละลายน้ำลดลงร้อยละ 36.7, ของแข็งทั้งหมดลดลงร้อยละ 77.24, ของแข็งแขวนลอยลดลงร้อยละ 50.59 น้ำมันและกรีสลดลงร้อยละ 76.19 ซึ่งสอดคล้องกับรายงายของปรีชา มุณีศรี (2539) ที่ได้ศึกษาการบำบัดด้วยเชื้อรา *Rhizopus* sp. ST29 ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อและไม่ปลอดเชื้อของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่า น้ำทิ้งที่ไม่มีการฆ่าเชื้อมีประสิทธิภาพในการลดซีโอดีสูงกว่าน้ำทิ้งที่มีการฆ่าเชื้อร้อยละ 72.73 หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน ซึ่งสามารถลดค่าซีโอดีได้สูงกว่าผลการทดลองนี้ เนื่องจากเลี้ยงบนเครื่องเขย่า แต่ในการทดลองครั้งนี้เลี้ยงในสภาวะที่ตั้งทิ้งไว้ ทำให้ลดซีโอดีได้น้อยกว่า นอกจากนี้ประสิทธิภาพการลดลงค่าซีโอดีของน้ำทิ้งจากเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ต่ำกว่าค่ามีรายงานของ งามเนตร โอสถ และธีรพร โมรา (2647) ศึกษาการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ไม่ฆ่าเชื้อ โดยใช้เชื้อ *A. niger* ATCC 6275 เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ซึ่งสามารถลดค่าซีโอดีละลายน้ำได้ร้อยละ 83.25 และลดปริมาณของของแข็งทั้งหมดได้ร้อยละ 86.5 แต่เชื้อทั้งสองสายพันธุ์ลดของแข็งทั้งหมดใกล้เคียงกัน เนื่องจากเชื้อราบางชนิดสามารถจับพวกตะกอนที่ลอยตัวไว้ในไมซีเลียมและยังสามารถเป็นเหมือนตัวกรองหรือที่ดักพวกตะกอนได้อีกด้วย (Karim และ Kamill, 1989) ดังนั้น จึงเลือกใช้น้ำทิ้งที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อในการทดลองต่อไป

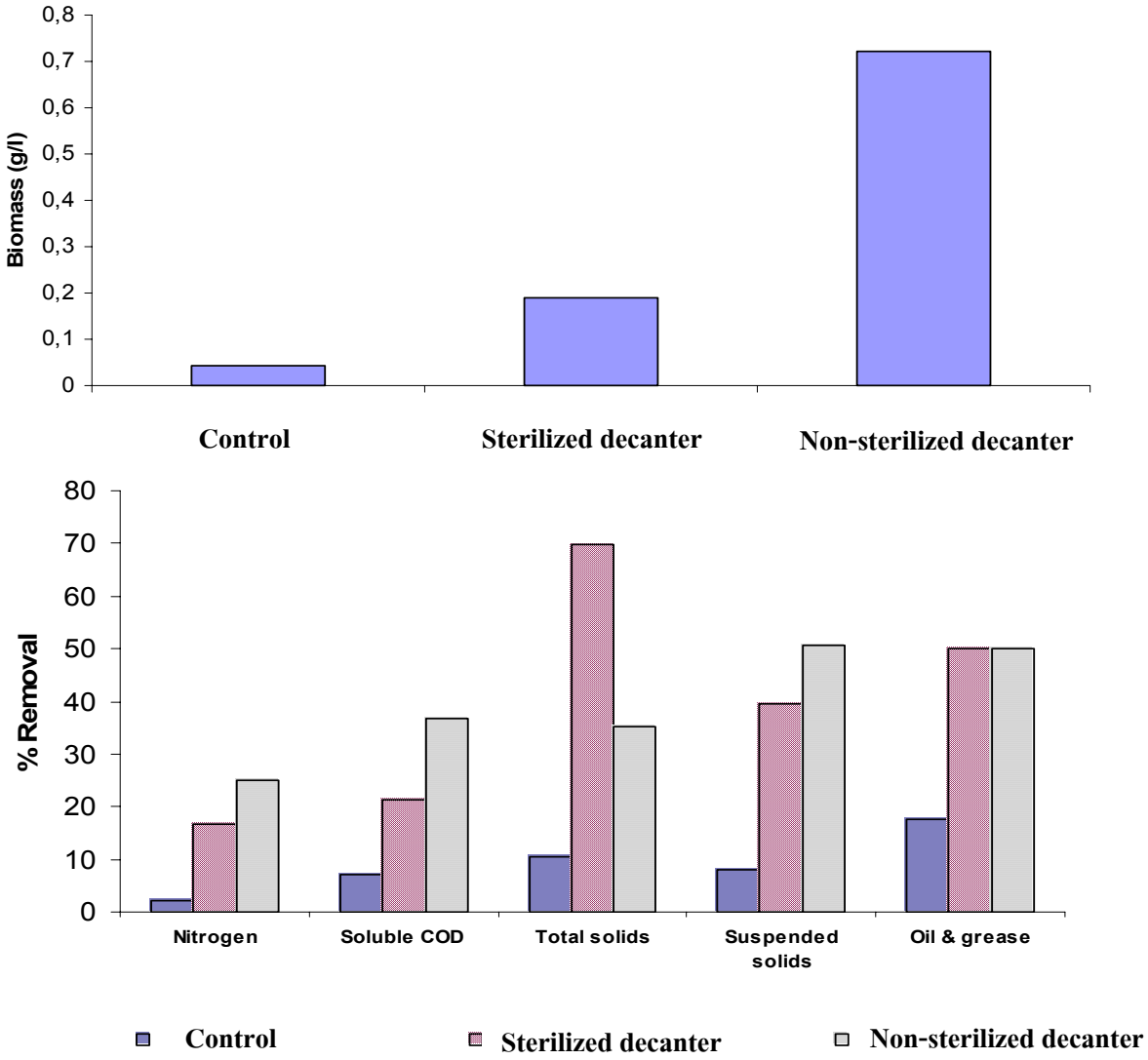
5.2 เปรียบเทียบการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยเชื้อราทนร้อนที่ผลิตพอลิเมอร์ในรูปอิสระและรูปที่ตรึงเซลล์ในอ่างแก้ว

เลี้ยงเชื้อราทนร้อน *Rhizopus* sp. ST29 ที่ตรึงและไม่ตรึงเซลล์ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ ที่ระดับความเจือจางที่ 1:1 (ซีโอดีที่ละลายน้ำ22.4-24 กรัมต่อลิตร) โดยตรึงเซลล์ด้วยวัสดุตรึงทางการค้า (Bio stage) และฟองน้ำที่ทรงลูกบาศก์ (ขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) เปรียบเทียบกับการ

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบผลการบำบัดน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่ฆ่าเชื้อและไม่ฆ่าเชื้อน้ำทิ้งก่อนการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 (ระดับความเจือจาง 1:1, soluble COD 22.4 กรัมต่อลิตร) ในสภาวะไม่ปลอดเชื้อ และน้ำทิ้งที่มีการฆ่าเชื้อ (สภาวะปลอดเชื้อ) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ที่เวลา 4 วัน

Table 11 Comparition on treatment of decanter effect sterilized and non- sterilized before cultivation *Rhizopus* sp. ST29 (1:1 dilution, 22.4 g/l soluble COD) at 45 °C under aseptic and septic conditions after 4 days.

***Rhizopus* sp. ST29**	**pH**	**Soluble COD (g/l)**	**Total solid (g/l)**	**Oil & grease (g/l)**
Control (under septic conditions)				
before	4.5	22.40	25.20	1.7
after	5.34	20.80	22.52	1.4
% removal	-	7.11	10.63	17.65
Sterilized decanter (under septic conditions)				
before	4.5	22.40	25.90	1.4
after	5.36	17.60	7.82	0.7
% removal	-	21.40	69.81	50
Non-sterilized decanter (under septic conditions)				
before	4.5	22.40	19.16	2.1
after	5.5	11.46	4.46	0.5
% removal	-	36.70	77.24	76.19
Control (under aseptic conditions)				
before	4.5	24.81	25.90	1.25
after	4.5	24.81	25.90	1.25
% removal	-	-	-	-
Sterilized decanter (under aseptic conditions)				
before	4.5	26.00	26.42	1.2
after	5.45	1.14	6.3	0.01
% removal	-	80	75.93	98.66



ภาพที่ 17 การเปรียบเทียบผลการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ฆ่าเชื้อและไม่ฆ่าเชื้อเพื่อใช้เลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 (ระดับความเจือจาง 1:1, ซีโอดีที่ละลายน้ำ 22.4 กรัมต่อลิตร) ในอ่างแก้ว ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

Fig. 17 Comparison on treatment of sterilized and non- sterilized decanter effluent by cultivation of *Rhizopus* sp. ST29 (1:1 dilution, 22.4 g/l soluble COD) at 45 °C after 4 days cultivation.

บำบัดน้ำทิ้งที่ใช้เซลล์ในรูปอิสระที่สภาวะเดียวกัน (ตารางที่ 12 และภาพที่ 18) พบว่า เชื้อที่ตรึงด้วย Bio stage มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารอินทรีย์สูงสุด (ซีโอดีที่ละลายน้ำ) เท่ากับร้อยละ 66.6 รองลงมาคือ เชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำร้อยละ 53.3 และเชื้อในรูปอิสระลดลงร้อยละ 36. และสูงกว่า มีค่าประสิทธิภาพในการลดลงของปริมาณสารอินทรีย์ของเส้นใยที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำเห็ดสายพันธุ์ *Lentinus squarrosulus* SQ-B-4 และ *L. polychrous* LP-WR-13 (ร้อยละ 54.35-56.92) (โสภาวรรณ รัตนพันธุ์, 2547) เชื้อที่ตรึงด้วย Bio stage มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารอินทรีย์สูงสุดซึ่งสอดคล้องกับปริมาณมวลมวลชีวภาพที่ได้สูงสุดเช่นกันเท่ากับ 1.412 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ เชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำ และเชื้อในรูปอิสระลดลงเท่ากับ 1.2623 และ 0.7230 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีผลทำให้ค่าการลดลงของของแข็งแขวนลอยและน้ำมันและกรีสเท่ากับร้อยละ 77.84 และ 56.25 ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำร้อยละ 50.59 และ 50 และเชื้อในรูปอิสระลดลงร้อยละ 20.08 และ 42.25 ตามลำดับ การที่เชื้อที่อยู่ในรูปตรึงเซลล์ด้วย Bio stage มีประสิทธิภาพในการลดค่าพารามิเตอร์ต่างๆสูงกว่าเชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำ เนื่องจากฟองน้ำดูดซับน้ำมากกว่า Bio stage จึงทำให้พื้นที่ในการตรึงเซลล์ลดลง เนื่องจากพื้นที่ส่วนหนึ่งจะเสียไปกับการที่น้ำเข้าไปแทรกอยู่ และซึ่งอาจทำให้การตรึงเซลล์เกิดขึ้นได้ยากกว่า ถึงแม้ว่าฟองน้ำจะมีรูพรุนมากกว่าก็ตาม จึงทำให้การบำบัดน้ำทิ้งของเชื้อที่อยู่ในรูปตรึงเซลล์ด้วย Bio stage มีประสิทธิภาพสูงกว่าเชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำ

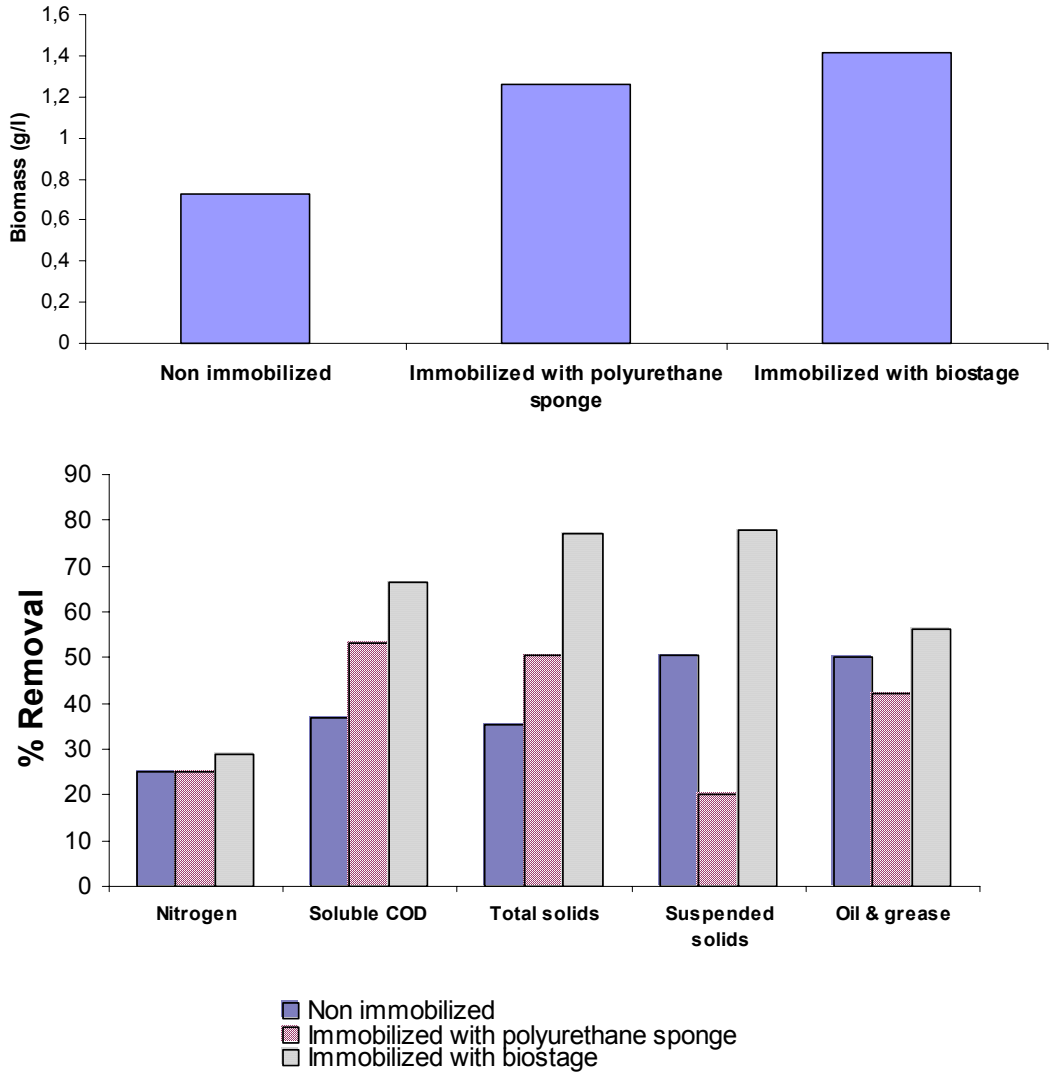
5.3 เปรียบเทียบการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยเชื้อราทนร้อนที่ผลิตพอลิเมอร์ในรูปอิสระและรูปที่ตรึงเซลล์แบบกึ่งต่อเนื่อง

เมื่อเลี้ยงเชื้อราทนร้อน *Rhizopus* sp. ST29 ในรูปอิสระและรูปที่ตรึงเซลล์ด้วย Bio Stage และฟองน้ำ ในอ่างแก้ว แบบกึ่งต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน พบว่า เชื้อที่อยู่ในรูปตรึงเซลล์ด้วย Bio stage มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารอินทรีย์สูงสุด ลดลงซีโอดีที่ละลายน้ำได้ เท่ากับร้อยละ 66.6 และให้ปริมาณมวลชีวภาพ 1.412 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ เชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำร้อยละ 53.3 และ 1.2623 กรัมต่อลิตร และเชื้อในรูปอิสระลดลงร้อยละ 36.7 และ 0.7230 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้เชื้อที่ตรึงเซลล์ด้วย Bio stage มีประสิทธิภาพในการลดค่าพารามิเตอร์ต่างๆ (ของแข็งทั้งหมด, ของแข็งแขวนลอยและน้ำมันและกรีส) สูงกว่าเชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำและในรูปอิสระเท่ากับ 77.24, 77.84 และ 56.25 ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำเท่ากับ 50.45, 50.59 และ 50 ตามลำดับ และเชื้อในรูปอิสระลดลงเท่ากับ 35.36, 20.08 และ 42.11 ตามลำดับ ในการทดลองช่วงที่ 1 คือ 4 วันแรก

ตารางที่ 12 การบำบัดน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่ไม่ฆ่าเชื้อจากการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp ST29 ในรูปอิสระและรูปที่ตรึงเซลล์ (ระดับความเจือจาง 1:1, ซีโอดีที่ละลายน้ำ 22.4-24 กรัมต่อลิตร) ในอ่างแก้ว ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

Table 12 Treatment of non- sterilized decanter for cultivation of *Rhizopus* sp. ST29 in free and immobilized mycelium with commercial supporter biostage, polyurethane sponge and non immobilized (1:1 dilution, 22.4-24 g/l soluble COD) at 45 °C after 4 days.

Treatment	pH	Soluble COD removal (%)	Total solid removal (%)	Oil & grease removal (%)
Control	5.34	20.80	22.52	1.40
Not immobilized	5.50	36.70	35.36	42.11
Immobilized with polyurethane sponge	6.04	53.30	50.45	50.00
Immobilized with biostage	6.23	66.60	77.24	56.25



ภาพที่ 18 เปรียบเทียบผลการบำบัดน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่ไม่ฆ่าเชื้อต่อการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในรูปอิสระและรูปที่ตรึงเซลล์ (ระดับความเจือจาง 1:1, ซีโอดีที่ละลายน้ำ 22.4-24 กรัมต่อลิตรในอ่างแก้ว ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

Fig. 18 Comparition on treatment of decanter effect non-sterilized before cultivation *Rhizopus* sp. ST29 immobilized mycelium with commercial supporter biostage, polyurethane sponge and not immobilized (1:1 dilution, 22.4-24 g/l soluble COD) at 45 °C after 4 days.

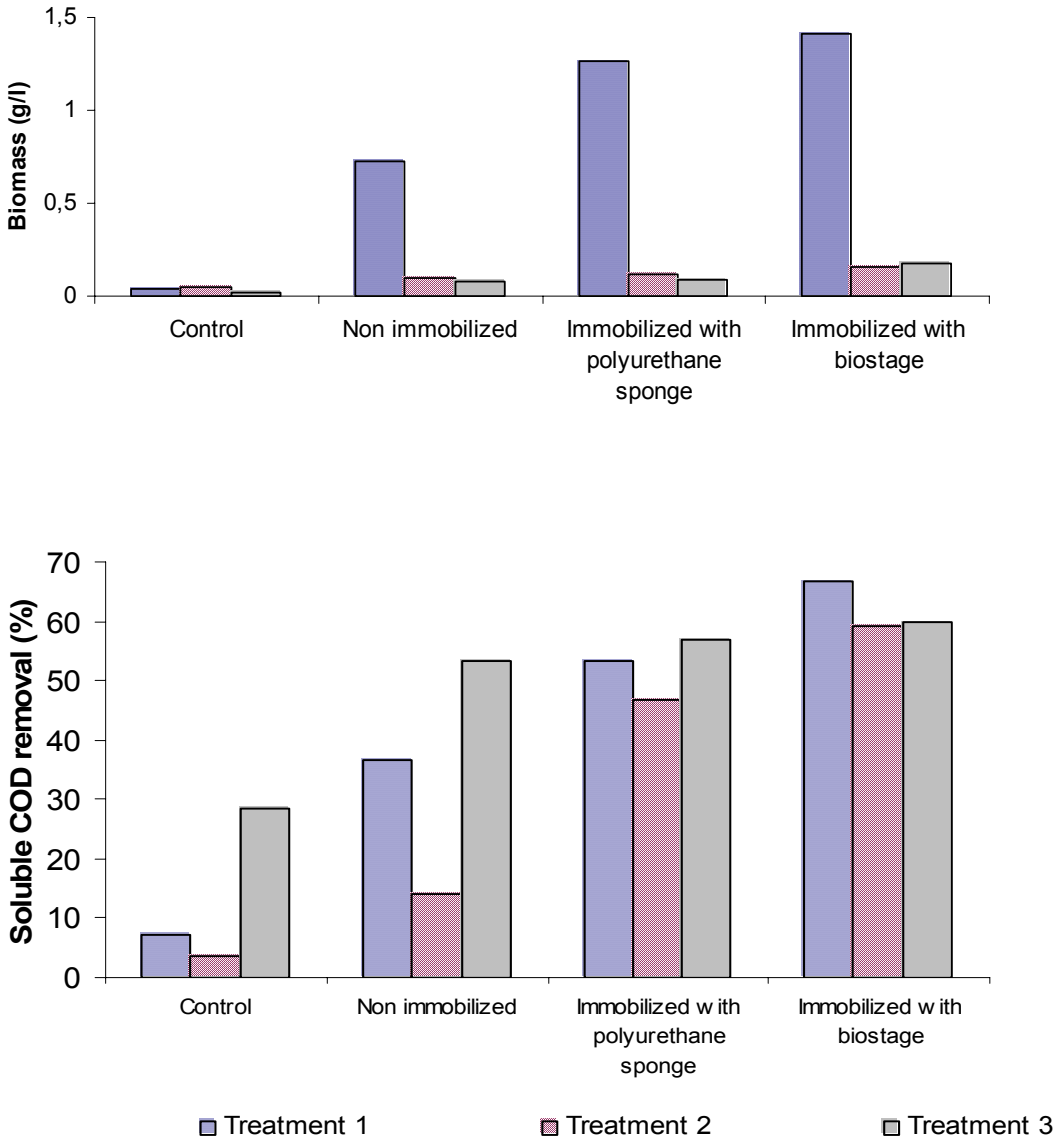
เมื่อมีการป้อนสารอาหารใหม่เข้าไปในการทดลองช่วงที่ 2 พบว่าเชื้อมีประสิทธิภาพลดค่าต่างๆได้น้อยลง ในช่วง 4 วันหลังการทดลองช่วงที่ 2 คือเชื้อตรึงเซลล์ด้วย Bio stage มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารอินทรีย์สูงสุด (ซีโอดีที่ละลายน้ำ) เท่ากับร้อยละ 59.16 และให้ปริมาณมวลชีวภาพ 0.1533 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ เชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำร้อยละ 46.66 และ 0.118 กรัมต่อลิตร และเชื้อในรูปอิสระลดลงร้อยละ 14.2 และ 0.1027 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการลดลงของของแข็งทั้งหมด, ของแข็งแขวนลอยและน้ำมันและกรีส พบว่าเชื้อที่อยู่ในรูปตรึงเซลล์ด้วย Bio stage มีประสิทธิภาพสูงกว่าเชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำและในรูปอิสระเช่นกัน มีค่าร้อยละ 37.53, 52.58 และ 45.05 ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำเท่ากับร้อยละ 42.44, 25.31 และ 47.83 ตามลำดับ และเชื้อในรูปอิสระลดลงร้อยละ 19.93, 42.77 และ 47.83 ตามลำดับในการทดลองช่วงที่2

ส่วนในการทดลองช่วงที่ 3 เชื้อสามารถลดค่าพารามิเตอร์ต่างๆได้สูงกว่าการทดลองช่วงที่ 2 เมื่อมีการป้อนสารอาหารหลังจากเลี้ยงช่วงที่ 2 และมีการถ่ายน้ำทิ้งออกปริมาตรครึ่งหนึ่งของการเลี้ยง แต่ไม่มีการเติมเชื้อใหม่ลงไป ทำให้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (*Rhizopus* sp. ST29) ลดลง เกิดการแข่งขันระหว่างการเจริญ ซึ่งเชื้ออื่นในธรรมชาติที่มีอยู่มากกว่าสามารถเจริญได้ดีกว่า ซึ่งสังเกตได้จากการลดลงของค่าซีโอดีที่ละลายน้ำของชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อเริ่มต้น มีค่าซีโอดีที่ละลายน้ำเพิ่มขึ้นเช่นกันและให้ปริมาณมวลชีวภาพของชุดควบคุมเพิ่มขึ้นเท่ากับ 0.0636 กรัมต่อลิตร และมีค่าซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 3.5 เป็นร้อยละ 28.57 นอกจากนี้ยังสังเกตได้จากลักษณะเชื้อที่เจริญการเปลี่ยนแปลงลักษณะสี รวมทั้งการรวมตัวของเชื้อราในการทดลองช่วงที่ 1 และ 2 เปลี่ยนไปด้วย ซึ่งในการทดลองช่วงที่ 3 เชื้อที่ตรึงเซลล์ด้วย Bio stage มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารอินทรีย์สูงสุด (ซีโอดีที่ละลายน้ำ) เท่ากับร้อยละ 60 และให้ปริมาณมวลชีวภาพ 0.1789 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ เชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำร้อยละ 57 และ 0.0925 กรัมต่อลิตร และเชื้อในรูปอิสระลดลงร้อยละ 53.33 และ 0.0821 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเชื้อที่อยู่ในรูปตรึงเซลล์ด้วย Bio stage การลดลงของของแข็งทั้งหมด, ของแข็งแขวนลอยและน้ำมันและกรีสมีประสิทธิภาพสูงกว่าเชื้อที่ถูกตรึงด้วยฟองน้ำและในรูปอิสระเช่นกัน เท่ากับร้อยละ 75.93, 77.24 และ 52.38 ตามลำดับ (ตารางที่ 13 และภาพที่ 19)

ตารางที่ 13 การบำบัดน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่ไม่ฆ่าเชื้อน้ำทิ้งก่อนของการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในรูปอิสระและรูปที่ตรึงเซลล์ต่อการป้อนสารอาหาร (ระดับความเจือจาง 1:1 ,ซีโอดีที่ละลายน้ำ 22.4-24 กรัมต่อลิตร) ในอ่างแก้ว ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ที่เวลา 4 วัน

Table 13 Treatment of non- sterilized decanter effluent for cultivation of *Rhizopus* sp. ST29 in free and immobilized mycelium with commercial supporter biostage, polyurethane sponge and non immobilized (1:1 dilution, 22.4-24 g/l soluble COD) at 45 °C after 4 days.

Treatment	Days	pH	Soluble COD removal (%)	Total solid removal (%)	Oil & grease removal (%)
Control					
Treatment 1	0-4	5.34	7.11	10.63	17.65
Treatment 2	5-8	4.9	3.5	15.94	11.39
Treatment 3	9-12	5.0	28.57	17.96	16.67
Not immobilized					
Treatment 1	0-4	5.5	36.7	35.36	50
Treatment 2	5-8	5.0	14.2	19.93	20
Treatment 3	9-12	5.0	53.33	31.06	31.25
Immobilized with polyurethane sponge					
Treatment 1	0-4	6.04	53.3	50.45	42.11
Treatment 2	5-8	5.1	46.66	23.44	30.10
Treatment 3	9-12	5.2	57	42.44	47.83
Immobilized with biostage					
Treatment 1	0-4	6.23	66.6	77.24	56.25
Treatment 2	5-8	5.2	59.16	37.53	45.05
Treatment 3	9-12	5.2	60	75.93	52.38



ภาพที่ 19 การเปรียบเทียบผลของค่าซีโอดีที่ลดลงและมวลชีวภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่ไม่ฆ่าเชื้อน้ำทิ้งก่อนการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ในรูปอิสระและรูปที่ตรึงเซลล์ แบบกึ่งต่อเนื่อง (ระดับความเจือจาง 1:1, ซีโอดีที่ละลายน้ำ22.4-24 กรัมต่อลิตร)ในอ่างแก้ว ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ที่เวลา 4 วันของการเจริญ

Fig. 19 Comparition on treatment of non-sterilized decanter effluent before cultivation of *Rhizopus* sp. ST29 in immobilized with biostage, polyurethane sponge and not immobilized (1:1 dilution, soluble COD 22.4-24 g/l) at 45 °C after 4 days incubation.