# บทที่ 3
# ผลการทดลองและวิจารณ์

## 1. การคัดเลือกสายพันธุ์เห็ด *Lentinus* spp. ที่สามารถบำบัดและกำจัดสีของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

### 1.1 คุณลักษณะน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์

ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 2 โรงงาน โดยวัดค่าซีโอดี หน่วยสี ของแข็งทั้งหมด ปริมาณฟีนอล ปริมาณธาตุอาหารได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโลหะ เหล็ก ทองแดง และแมงกานีส (ตารางที่ 6) พบว่าน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์มีสีน้ำตาล และ พีเอช 4.5 น้ำทิ้งจากบริษัท ตรังน้ำมันปาล์ม จำกัด มีลักษณะเป็นของเหลวที่มีความข้นหนืดสูงกว่าน้ำทิ้งของบริษัท ศรีเจริญปาล์ม จำกัด โดยมีค่าของแข็งทั้งหมด 113,370 และ 67,460 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณสารอินทรีย์ในรูป ค่าซีโอดี 87,000 และ 55,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จะเห็นว่าทั้งปริมาณสารอินทรีย์และของแข็งในน้ำทิ้งจากทั้ง 2 โรงงานมีค่าต่างกันประมาณ 1 เท่า กระบวนการผลิตของทั้ง 2 บริษัทใช้เครื่องดีแคนเตอร์เหมือนกัน แต่บริษัท ศรีเจริญปาล์ม จำกัด ใช้เครื่องดีแคนเตอร์ในกระบวนการ 2 เครื่อง ขณะที่ บริษัท ตรังน้ำมันปาล์ม จำกัด ใช้เครื่องดีเคนเตอร์เพียง 1 เครื่อง และในกระบวนการผลิตของบริษัท ตรังน้ำมันปาล์ม จำกัด มีการวางแผนงานเพื่อลดปริมาณน้ำทิ้งที่จะออกจากโรงงานน้ำทิ้งจึงมีลักษณะเข้มข้นกว่าของบริษัท ศรีเจริญปาล์ม จำกัด

### 1.2 ผลของความเข้มข้นสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์

#### 1.2.1 การคัดเลือกระดับความเข้มข้นน้ำทิ้งในอาหารแข็งน้ำทิ้งดีแคนเตอร์

เตรียมน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ระดับต่างๆ โดยการเจือจางน้ำทิ้งดีแคนเตอร์จากบริษัท ตรังน้ำมันปาล์ม จำกัด ซึ่งมีค่าซีโอดีเริ่มต้น 87,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับความเจือจาง 1:0, 1:1, 1:2 และ 1:3 จะได้น้ำทิ้งดิแคนเตอร์ที่มีค่าซีโอดีเป็น 87,000, 43,500, 29,000 และ 21,750 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ วางเลี้ยงเส้นใยเห็ดบนอาหารแข็งและบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน (ตารางที่ 7) พบว่าในน้ำทิ้งที่ไม่เจือจาง ทุกสายพันธุ์สามารถเจริญได้ มีขนาดโคโลนีระหว่าง 2 - 3 เซนติเมตร ที่ระดับความเจือจาง 1:1 ขนาดโคโลนีอยู่ระหว่าง 4-6 เซนติเมตร ที่ระดับความเจือจาง 1:2 ขนาดโคโลนีอยู่ระหว่าง 4.5 - 7.0 เซนติเมตร และที่ระดับความเจือจาง 1:3 ขนาดโคโลนีอยู่ระหว่าง 6 - 8 เซนติเมตร การที่ขนาดโคโลนีมีขนาดไม่เท่ากัน ณ วันเดียวกันอาจเป็นเพราะเส้นใยเริ่มเจริญบนจานอาหารน้ำทิ้งไม่พร้อมกัน ในน้ำทิ้งไม่เจือจางเส้นใยมีการเจริญหลังจากวันที่ 3 ของการเลี้ยงเชื้อ ขนาดของ

ตารางที่ 6 คุณลักษณะน้ำทิ้งดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 2 โรงงาน

Table 6 Charateristics of decanter effluent from two palm oil mills

| Parameter | Decanter effluent | |
|---|---|---|
| | Trang Palm Oil Co., Ltd. | Sricharurn Palm Co., Ltd |
| pH | 4.5 | 4.5 |
| Appear color | Dark-brown | Dark-brown |
| Color ($OD_{475}$) | 24,000 | 20,000 |
| Total phenol (mg/l) | 3.60 | 1.80 |
| Soluble COD (mg/l) | 87,000 | 55,000 |
| Total solid (mg/l) | 113,370 | 67,460 |
| Kjeldahl nitrogen (mg/l) | 1043 | 957 |
| P (mg/l) | 324 | 238 |
| Cu (mg/l) | 0.20 | 0.09 |
| Fe (mg/l) | 114 | 66.42 |
| Mn (mg/l) | 9.19 | 10.88 |

Analysis from 1 sampling of each palm oil mill

ตารางที่ 7 ผลของความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มต่อการเจริญและการกำจัดสีในการเลี้ยง *Lentinus* spp. และ *P. chrysosporium* บนอาหารแข็งที่ 30 ± 2°ซ เป็นเวลา 5วัน

Table 7 Effect of organic matter concentration in palm oil mill effluent on growth and decolorization during cultivation of *Lentinus* spp. and *P. chrysosporium* on agar plate at 30 ± 2 °C for 5 days.

| **Dilution rate** | **1:0** | | | **1:1** | | | **1:2** | | | **1:3** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Microorganisms** | Colony size (cm) | Mycelia density | Decolori - zation | Colony size (cm) | Mycelia density | Decolori- zation | Colony size (cm) | Mycelia density | Decolori - zation | Colony size (cm) | Mycelia density | Decolori - zation |
| *L. polychrous* LP-P-1 | 2.5 | 4 | - | 5.5 | 3 | - | 5.5 | 2 | + | 6.5 | 1 | + |
| *L. polychrous* LP-P-2 | 2.5 | 4 | - | 6 | 3 | - | 6 | 2 | - | 7 | 1 | - |
| *L. polychrous* LP-PT-1 | 2.5 | 4 | - | 5 | 3 | - | 6.5 | 2 | + | 6.5 | 1 | + |
| *L. polychrous* LP-BR-11 | 2.0 | 4 | - | 4.5 | 3 | - | 7 | 2 | - | 6 | 1 | + |
| *L. polychrous* LP-SW-3 | 2.5 | 4 | - | 4 | 3 | - | 7 | 2 | + | 6 | 1 | + |
| *L. polychrous* LP-WR13 | 2.0 | 4 | - | 4 | 3 | - | 7 | 2 | + | 6.5 | 1 | + |
| *L. squarrosulus* SQ-B-3 | 3.5 | 4 | - | 5.5 | 3 | - | 7 | 2 | - | 7 | 1 | + |
| *L. squarrosulus* SQ-B-4 | 3.5 | 4 | - | 7 | 3 | - | 7 | 2 | + | 8 | 1 | + |
| *L. strigosus* ST-B-1 | 2.5 | 4 | - | 5 | 3 | + | 7 | 2 | + | 8 | 1 | + |
| *L. strigosus* ST-K-2 | 2.0 | 4 | - | 4.5 | 3 | - | 4.5 | 2 | - | 6 | 1 | + |
| *L. strigosus* ST-S-3 | 3.0 | 4 | - | 5.5 | 3 | + | 6.5 | 2 | + | 7 | 1 | + |
| *L. strigosus* ST-Y-4 | 2.0 | 4 | - | 6 | 3 | + | 6 | 2 | + | 7 | 1 | + |
| *P. chrysosporium* | 2.5 | 4 | - | 5.5 | 3 | - | 5.5 | 2 | + | 7 | 1 | + |

(+) -Positive result, (-) -Negative result; (1-4) –Increasing mycelia density level; Results from 5 duplications

โคโลนีเพิ่มขึ้นช้ากว่าที่ระดับความเจือจางสูงขึ้น ขณะที่ระดับความเจือจางอื่นๆ เส้นใยเริ่มเจริญ ณ วันที่ 1-2 สำหรับความหนาแน่นของเส้นใยมีแนวโน้มตรงกันข้ามกับขนาดโคโลนี ซึ่งพบว่าในน้ำทิ้งไม่เจือจางมีความหนาแน่นของเส้นใยสูงสุด และต่ำที่สุดในระดับความเจือจาง 1: 3 ทั้งนี้เป็นเพราะปริมาณสารอาหารและสารยับยั้งที่มีในน้ำทิ้ง เช่น สารประกอบอะโรมาติก โดยเฉพาะสารในกลุ่ม โมโนฟีนอล สารประกอบฟีนอล และแทนนิน ซึ่งมักพบในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก (D'Annibale *et al*., 1998 ; D'Annibale *et al*., 1999 ; Dias *et al*., 2004 และ Fadil *et al*., 2003) และมีรายงานว่ามีคุณสมบัติยับยั้งจุลินทรีย์ ที่ระดับความเข้มข้นของสารประกอบอะโรมาติกสูงๆ ซึ่งอ้างอิงด้วยระดับซีโอดีในน้ำทิ้ง ผลการยับยั้งจุลินทรีย์พบในแบคทีเรียกลุ่ม methanogenic (Boari *et al*., 1984 อ้างโดย D'Annibale *et al*., 1998) และพบการยับยั้งกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระบวนการย่อยสลายสาร ซึ่งเป็นผลจากความเป็นพิษของสารประกอบฟีนอลต่อจุลินทรีย์ (Hamdi, 1992 อ้างโดย Ayed and Hamdi, 2003 ; Fadil *et al*., 2003) ดังนั้นในจานอาหารน้ำทิ้งไม่เจือจางอาจมีความเข้มข้นของสารยับยั้ง เช่น ฟีนอลสูงกว่า จึงทำให้การเจริญเพื่อขยายขนาดของโคโลนีเกิดขึ้นได้ช้า ทั้งนี้เพราะเส้นใยบริเวณขอบโคโลนี (อายุเชื้อจะน้อยกว่าเส้นใยบริเวณกลางโคโลนี) ต้องการการปรับตัวกับความเข้มข้นของสารอินทรีย์ และสารยับยั้งที่สูงกว่าบริเวณที่เส้นใยมีการเจริญแล้ว และสามารถผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยสลายสารเหล่านั้นไปบางส่วน แต่เมื่อเส้นใยเจริญแล้ว พบว่าเส้นใยของน้ำทิ้งไม่เจือจางมีความหนาแน่นสูงสุด เนื่องจากเมื่อเส้นใยเจริญผ่านระยะการเจริญขั้นที่ 1 เส้นใยมีการสร้างสารบางชนิดในการเจริญจนถึงขั้นที่ 2 เช่น oxidative mediator ที่ทำให้เชื้อสามารถย่อยสลายสารในน้ำทิ้งได้มากขึ้น ซึ่ง D'Annibale (1998) บำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอกโดย *L. edodes* ที่ถูกตรึง พบว่าการใช้เส้นใยในรอบที่ 1 เชื้อสามารถย่อยสลายโครงสร้างของ *o* - diphenolic ได้ง่ายกว่าโมโนฟีนอล และโมโนฟีฟอลบางตัวจะถูกกำจัดหลังจากการใช้เส้นใยที่ถูกตรึงซ้ำครั้งที่ 2 และ 3 ดังนั้นเมื่อเชื้อสามารถผลิตสารในการเจริญขั้นที่ 2 เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างสารในองค์ประกอบของน้ำทิ้ง ทำให้เชื้อสามารถย่อยสลายสารอาหารในน้ำทิ้งแล้วนำมาใช้ได้ดีขึ้น ดังนั้นการที่เส้นใยในจานน้ำทิ้งไม่เจือจางมีขนาดโคโลนีเล็กที่สุด เพราะว่าเชื้อขยายขนาดโคโลนีได้ช้า ซึ่งเป็นผลจากสารยับยั้งในน้ำทิ้ง แต่เชื้อสามารถใช้สารอาหารที่มีมากที่สุดในจานอาหารน้ำทิ้งไม่เจือจางเส้นใยจึงมีหนาแน่นมากกว่าในจานอาหารน้ำทิ้งที่มีการเจือจาง

เมื่อสังเกตการกำจัดสีของน้ำทิ้งในจานอาหาร ณ วันที่ 5 ที่ระดับความเจือจางต่ำสุด (1:3) พบว่าทุกสายพันธุ์ ยกเว้น *L. polychrous* L-P-2 เกิดการจางสีอาหารบริเวณกึ่งกลางโคโลนี ซึ่งเป็นบริเวณมีสีของน้ำทิ้งจางกว่าในจานน้ำทิ้งที่ใช้เป็นชุดควบคุม ณ วันและระดับความเจือจางเดียวกัน ขณะที่ระดับความเจือจาง 1:2 และ 1:1 พบการจางสีของน้ำทิ้งในบางสายพันธุ์ ส่วนระดับความเจือจาง 1:1 สายพันธุ์ที่พบการจางสีของน้ำทิ้ง ได้แก่ *L. strigosus* ST-B-1, *L. strigosus* ST-S-3 และ

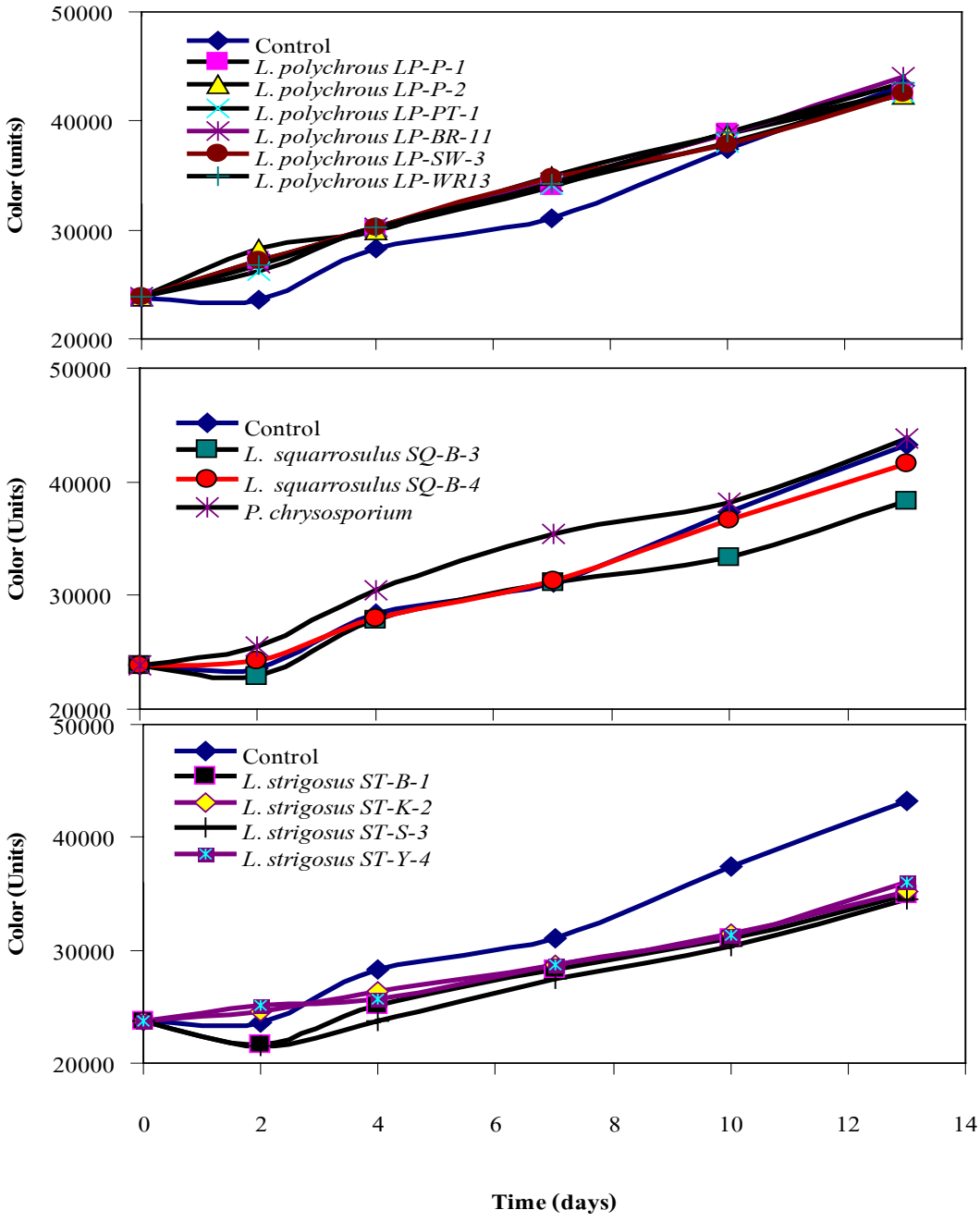
*L. strigosus* ST-Y-4 สำหรับน้ำทิ้งที่ไม่เจือจางไม่พบการจางสีของน้ำทิ้งในวันที่ 5 แต่เมื่อเลี้ยงเชื้อต่อจนถึงวันที่ 10 พบการจางสีของน้ำทิ้งบางซ้ำการทดลองของสายพันธุ์ *L. squarrosulus* SQ-B-4, *L. polychrous* LP-PT-1 และ *L. polychrous* LP-WR13 (แต่เมื่อทำซ้ำไม่พบการจางสี) สังเกตได้ว่าการจางสีของน้ำทิ้งเกิดบริเวณกึ่งกลางโคโลนีหลังจากเชื้อเจริญ อาจเกิดจากการใช้สารที่เป็นองค์ประกอบในน้ำทิ้งไปบางส่วน ซึ่งสารที่เชื้อใช้ไปนี้ ส่วนหนึ่งเป็นองค์ประกอบที่ทำให้เกิดสีในน้ำทิ้ง ดังนั้นบริเวณที่เชื้อเจริญและมีการใช้สารอาหาร จึงพบการจางสีของน้ำทิ้ง

จากผลการทดลองในจานอาหารน้ำทิ้งแข็ง เชื้อสามารถเจริญได้ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มซึ่งมีค่าซีโอดี 87,000 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่จากรายงานของ Dias และคณะ (2004) พบว่าเชื้อ *P. chrysosporium* และ Basidiomycete Euc 1 สามารถเจริญได้น้อยในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันมะกอกความเข้มข้นน้ำทิ้งร้อยละ 60 และ 80 (จากซีโอดีเริ่มต้น 130,500 มิลลิกรัมต่อลิตร) และที่ความเข้มข้นน้ำทิ้งร้อยละ 20 (ซีโอดี 26,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) Basidiomycete Euc 1 จางสีได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 40 นั่นคือที่ความเจือจางสูงเชื้อสามารถจางสีได้ดีกว่า สอดคล้องกับผลการทดลองนี้ที่พบการจากสีในจานเพาะเชื้อที่มีน้ำทิ้งเจือจางสูงมากสายพันธุ์กว่าในจานเพาะเชื้อที่มีน้ำทิ้งความเจือจางต่ำ

**1.2.2 การคัดเลือกระดับความเข้มข้นน้ำทิ้งในอาหารน้ำทิ้งดีแคนเตอร์**

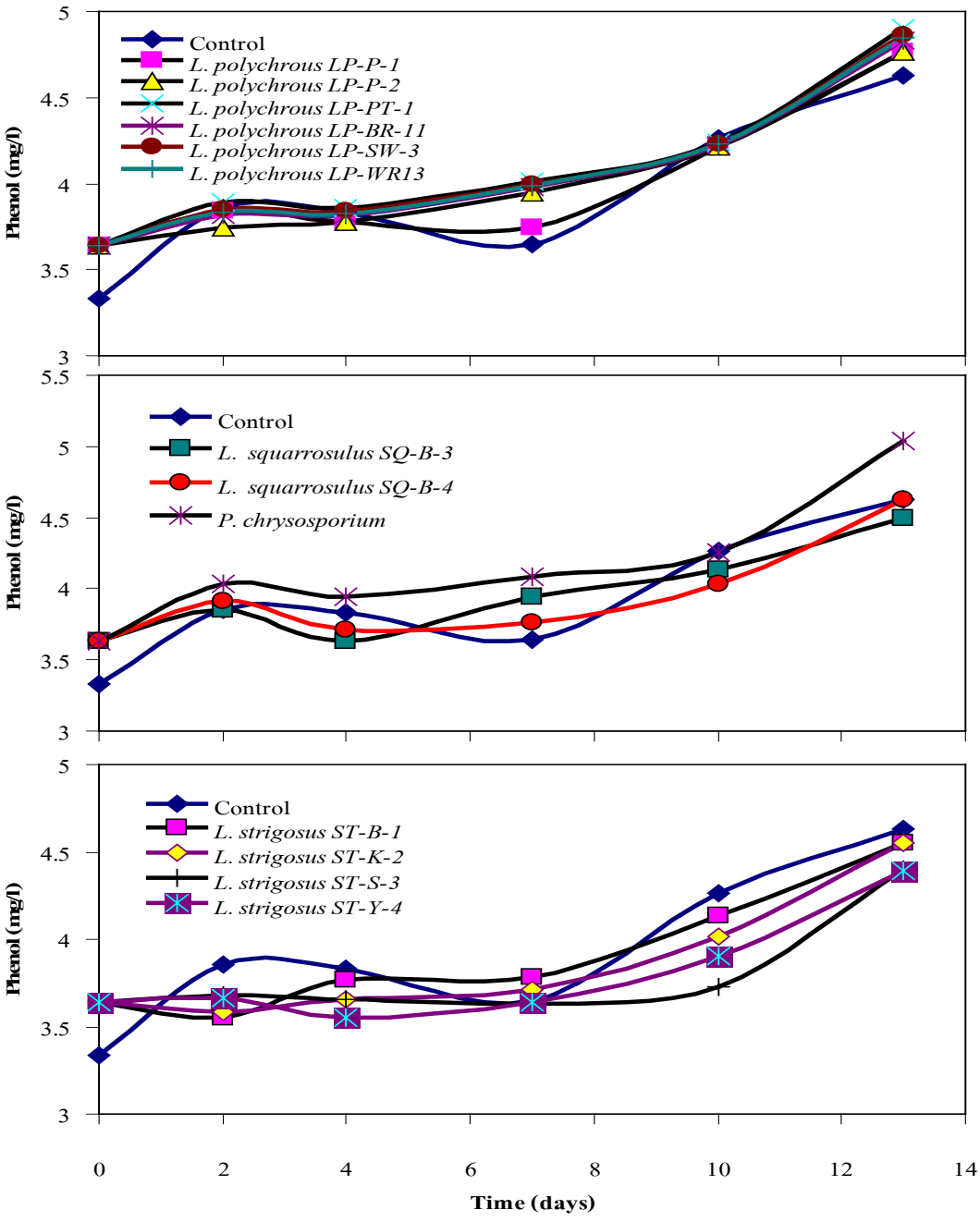
การทดลองเบื้องต้นโดยการเลี้ยงเส้นใยเห็ดในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์จากบริษัทตรังน้ำมันปาล์ม จำกัด เจือจางด้วยน้ำกลั่น ที่ระดับความเจือจาง 1:0, 1:1, 1:2 และ 1:3 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ตัดเส้นใยเห็ดที่กำลังเจริญบนอาหารพีดีเอ อายุ 5 วัน บริเวณขอบโคโลนีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จำนวน 3 ชิ้น ลงในฟลาสก์ที่บรรจุน้ำทิ้งดีแคนเตอร์แต่ละความเจือจาง บ่มเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที พบว่าระดับการเจือจางน้ำทิ้งต่ำที่สุดที่เส้นใยมีการเจริญ คือ ที่ระดับการเจือจาง 1: 1 จึงทดลองบำบัดน้ำทิ้งไม่เจือจางกับน้ำทิ้งที่ระดับการเจือจาง 1: 1

ในน้ำทิ้งไม่เจือจาง (พีเอชเริ่มต้นของน้ำทิ้งเท่ากับ 4.5) ไม่พบการเจริญของเชื้อทั้งหมด น้ำทิ้งมีสีเข้มขึ้นแปรผันตามระยะเวลาที่เลี้ยงเชื้อ (ภาพที่ 2) และมีแนวโน้มเดียวกับการเพิ่มขึ้นของฟีนอล (ภาพที่ 3) ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อ ($p< 0.05$) การที่น้ำทิ้งมีความเข้มสีเพิ่มขึ้นอาจเป็นผลจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นแบบ auto-oxidation ขององค์ประกอบในน้ำทิ้ง เช่นเดียวกับที่เกิดในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันมะกอกซึ่งมีรายงานว่า องค์ประกอบในน้ำทิ้งซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟีนอล และสารประกอบอะโรมาติกที่มีความไม่คงตัวสูง และถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายในสภาวะที่มีอากาศ เกิดเป็นสารสีซึ่งเป็นสารโพลิเมอร์ของฟีนอลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงทำให้น้ำทิ้งมีสีดำคล้ำขึ้น (Ayed and Hamdi, 2003 ; D'Annibale *et al*., 1999) แต่ D'Annibale และคณะ (1999)




ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงค่าหน่วยสีระหว่างการเลี้ยงเส้นใยเห็ดสกุล *Lentinus* spp. และ *P. chrysosporium* ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ (ซีโอดี 87,000 มิลลิลิกรัมต่อลิตร) บนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30°ซ

Figure 2 Time course of color changes during cultivation of *Lentinus* spp. and *P. chrysosporium* in decanter (87,000 mg/l) effluent on a shaker (200 rpm) at 30°C




ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงค่าฟีนอลระหว่างการเลี้ยงเส้นใยเห็ดสกุล *Lentinus* spp. และ *P. chrysosporium* ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ (ซีโอดี 87,000 มิลลิลิกรัมต่อลิตร) บนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30°ซ

Figure 3 Time course of phenol changes during cultivation of *Lentinus* spp. and *P. chrysosporium* in decanter (COD 87,000 mg/l) effluent on a shaker (200 rpm) at 30°C

กลับพบว่าในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอกด้วย *L. edodes* ที่ถูกตรึงไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการลดลงของสีในน้ำทิ้งกับการตัดสายโพลิเมอร์ของสารประกอบฟีนอล ซึ่งในการทดลองที่พบการลดสีสูง (ในการใช้เส้นใยที่ถูกตรึงครั้งที่ 1) การลดลงของโพลีฟีนอลน้ำหนักโมเลกุลสูงไม่มีความสัมพันธ์กับการลดสีในน้ำทิ้ง ส่วนการใช้เส้นใยซ้ำครั้งที่ 2 และ 3 ซึ่งตรวจสอบพบการเปลี่ยนโพลีฟีนอลน้ำหนักโมเลกุลสูงเป็นโพลิเมอร์สายสั้นลง แต่ประสิทธิภาพการลดสีในน้ำทิ้งกลับลดลงด้วย สำหรับการทดลองนี้ใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการสกัดน้ำมันพืชซึ่งมีน้ำมันในองค์ประกอบน้ำทิ้งและมีการให้อากาศระหว่างการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกัน การที่เชื้อไม่เจริญอาจเกิดจากผลการยับยั้งจากสารประกอบอะโรมาติก เช่น ฟีนอล และแทนนินในความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูง สอดคล้องกับผลการทดลองของ Fadil และคณะ (2003) ซึ่งพบว่าน้ำทิ้งที่มีค่าซีโอดีสูงจะมีความเข้มข้นของสารยับยั้งในน้ำทิ้งสูงด้วยจึงมีผลยับยั้งกิจกรรมการบำบัดของเชื้อรา

ในน้ำทิ้งที่ระดับการเจือจาง 1 เท่า เส้นใยเจริญตั้งแต่วันที่ 3 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยเส้นใยเจริญรอบชิ้นพีดีเอ และค่อยๆ แผ่ขยายออกไป เส้นใยบางส่วนเกาะเป็นก้อนขนาดใหญ่ ขณะที่บางส่วนเป็นก้อนเล็กๆ กระจายทั่วน้ำทิ้ง การเจริญของเส้นใยในกลุ่ม *L. polychrous* สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ (ตารางที่ 8) พีเอชของน้ำทิ้งหลังการบำบัดของทุกสายพันธุ์เพิ่มขึ้น อยู่ในช่วง 4.9 - 6.3 (พีเอชเริ่มต้น 4.5) ประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดีของกลุ่ม *L. polychrous* มีค่าร้อยละ 44.18 - 51.49 กลุ่ม *L. strigosus* ร้อยละ 37.88 - 68.94 และ *L. squarrosulus* SQ-B-4, *L. strigosus* ST-K-2 ให้ค่าสูงสุดร้อยละ 69.52 และ 68.94 ตามลำดับ (ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่าสีในน้ำทิ้งชุดควบคุมน้ำทิ้งมีค่าสีเพิ่มขึ้นตามเวลา (ภาพที่ 4) แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำทิ้งที่บำบัดโดยเส้นใยสายพันธุ์ *L. polychrous* ทั้ง 6 ไอโซเลท มีแนวโน้มเดียวกันคือ ค่าสีสูงกว่าชุดควบคุมจนถึงวันที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นสีของ น้ำทิ้งเริ่มลดลงมาเท่าๆ กับชุดควบคุม ส่วนสายพันธุ์ *L. squarrosulus* ทั้ง 2 ไอโซเลท รวมทั้ง *P. chrysosporium* มีค่าสีเพิ่มขึ้นในวันแรกๆ เช่นกันและค่าสีสูงสุดวันที่ 6 หลังจากนั้นค่าสีเริ่มลดลงกระทั่งค่าสีต่ำกว่าชุดควบคุม สำหรับ *L. strigosus* ทั้ง 4 ไอโซเลทค่าสีของน้ำทิ้งเพิ่มขึ้นตามเวลาและสูงกว่าชุดควบคุม แล้วเริ่มลดลงวันที่ 13 ของการเลี้ยงเชื้อ

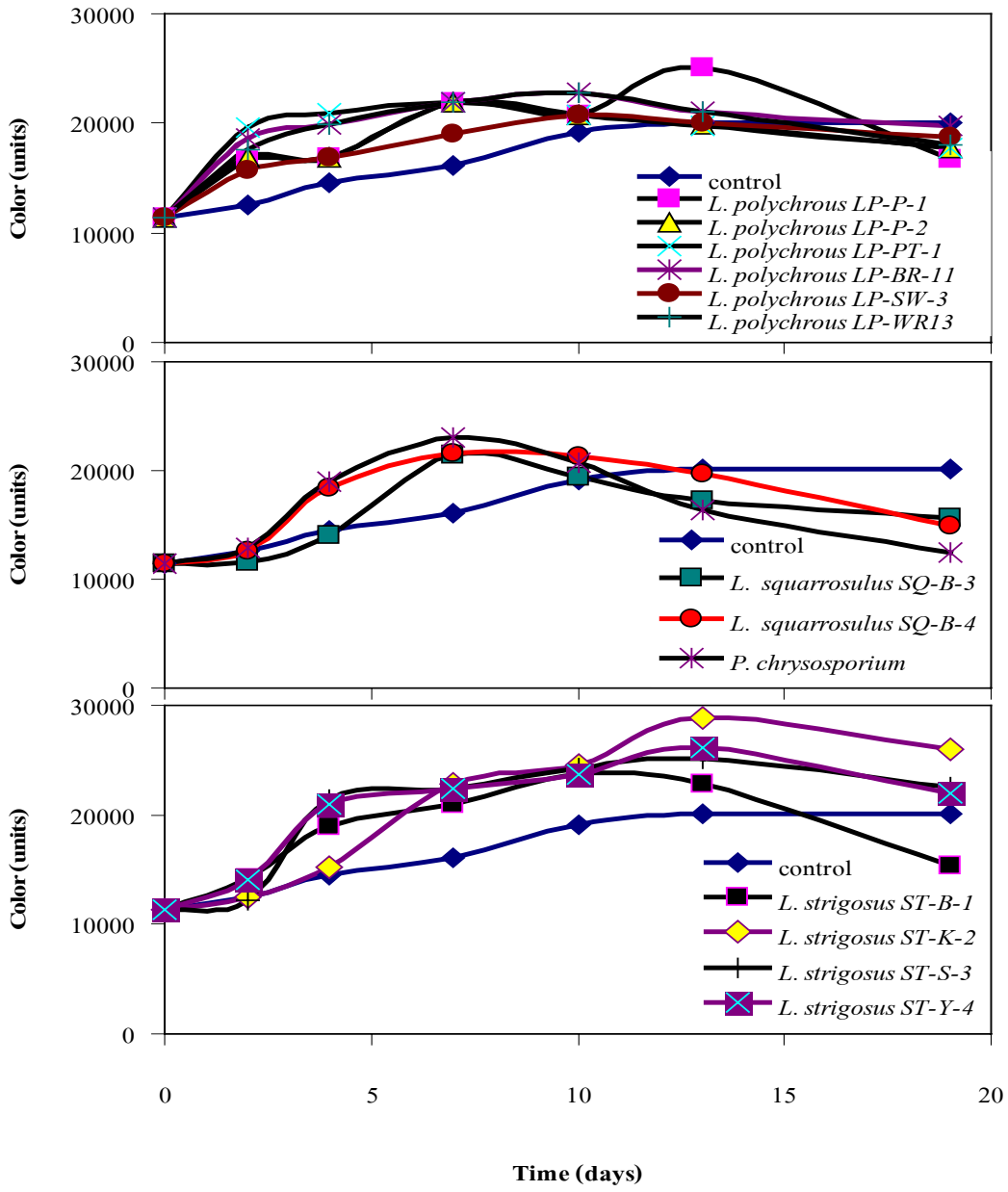
เชื้อทั้งหมดสามารถลดปริมาณฟีนอลในน้ำทิ้งตามเวลาที่เพิ่มขึ้น ปริมาณฟีนอลลดลงอย่างรวดเร็วระหว่างวันที่ 3- 10 หลังจากนั้นการลดลงค่อยๆ คงที่ (ภาพที่ 5) การลดลงของฟีนอลเกิดจากเชื้อใช้สารอาหารในน้ำทิ้ง ฟีนอลส่วนหนึ่งจึงถูกใช้ไป และบางส่วนถูกย่อยสลายและเปลี่ยนรูป ซึ่งสอดคล้องกับผลการลดสารประกอบฟีนอลโดยเชื้อราไวท์รอทและจุลินทรีย์อื่นๆ (Ayed and Hamdi, 2003 ; Dias *et al*., 2004 ; D'Annibale *et al*., 1999) ในชุดควบคุมของน้ำทิ้งที่เจือจางและไม่เจือจางค่าฟีนอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามเวลาที่เพิ่มขึ้นในลักษณะเดียวกัน

ตารางที่ 8 การเจริญของเส้นใย ค่าพีเอช และ ประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดีของการเลี้ยง *Lentinus* spp. และ *P. chrysosporium* ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์เจือจาง 1 เท่า (ซีโอดีเท่ากับ 43,500 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ 30°ซ บนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) หลังการเลี้ยงเชื้อ 12 วัน

Table 8 Growth, pH and COD removal of *Lentinus* spp. and *P. chrysosporium* after 12 days cultivation in 1 fold diluted decanter effluent (COD 43,500 mg/l) on shaker (200 rpm) at 30°C.

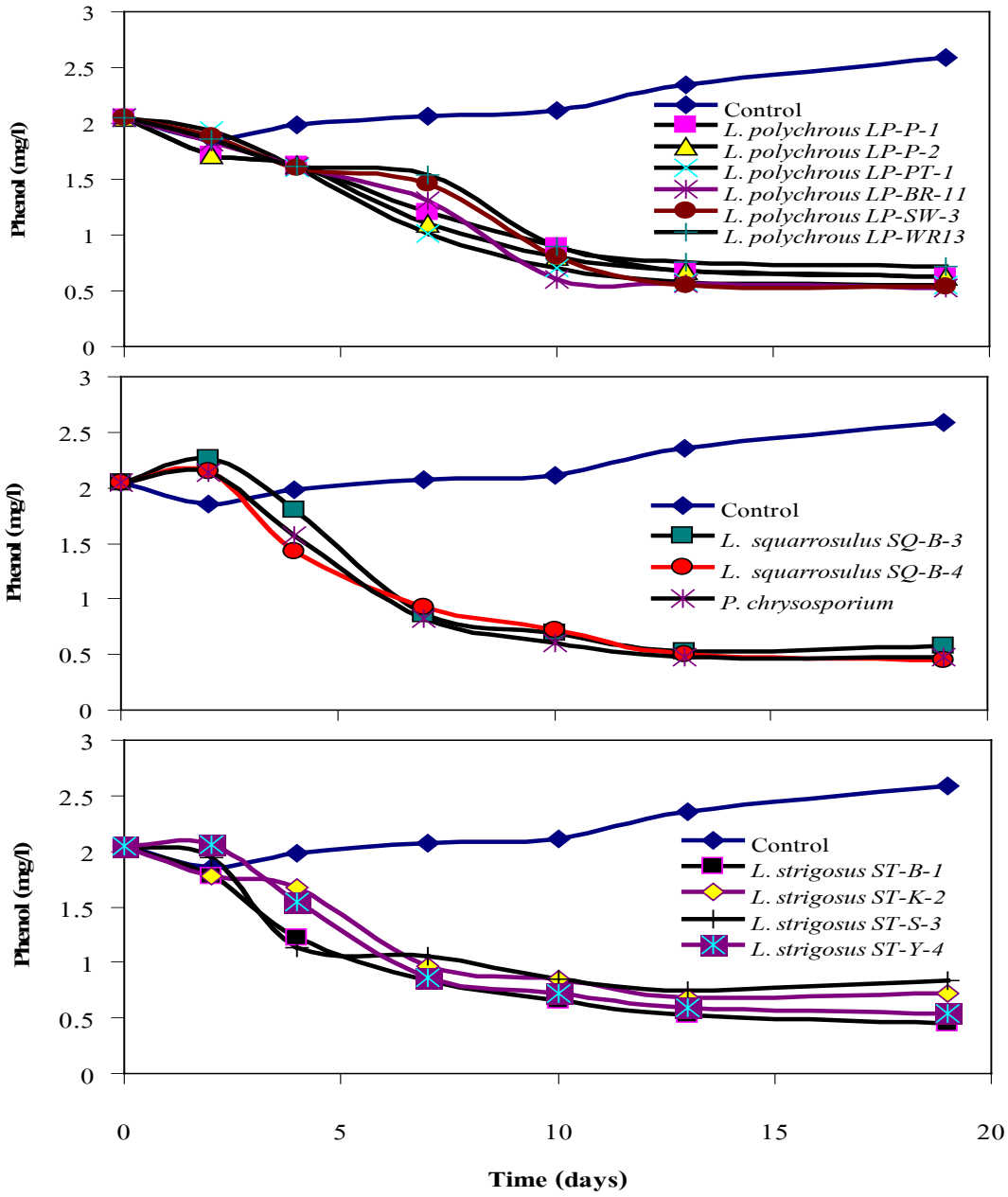
| **Microorganisms** | **pH** | **Growth (g/l/day)** | **COD removal (%)** |
|---|---|---|---|
| *L. polychrous* LP-P-1 | 5.6 | 1.77 | $51.49^{D}$ |
| *L. polychrous* LP-P-2 | 5.5 | 1.64 | $49.21^{D}$ |
| *L. polychrous* LP-PT-1 | 6.3 | 1.79 | $51.32^{D}$ |
| *L. polychrous* LP-BR-11 | 5.4 | 1.81 | $48.90^{D}$ |
| *L. polychrous* LP-SW-3 | 5.7 | 1.69 | $44.62^{C}$ |
| *L. polychrous* LP-WR13 | 5.6 | 1.74 | $44.18^{C}$ |
| *L. squarrosulus* SQ-B-3 | 5.1 | 1.35 | $33.44^{A}$ |
| *L. squarrosulus* SQ-B-4 | 5.3 | 1.48 | $69.52^{F}$ |
| *L. strigosus* ST-B-1 | 5.3 | 1.24 | $57.85^{E}$ |
| *L. strigosus* ST-K-2 | 5.5 | 1.55 | $68.94^{F}$ |
| *L. strigosus* ST-S-3 | 5.4 | 1.59 | $48.42^{D}$ |
| *L. strigosus* ST-Y-4 | 5.1 | 1.23 | $37.88^{B}$ |
| *P. chrysosporium* | 4.9 | 1.31 | $41.41^{C}$ |

Means within each row sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)




ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงค่าหน่วยสีระหว่างการเลี้ยงเส้นใยเห็ดสกุล *Lentinus* spp. และ *P. chrysosporium* ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์เจือจาง 1 เท่า (ซีโอดี 43,500 มิลลิลิกรัมต่อลิตร) บนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30°ซ

Figure 4 Time course of color changes during cultivation of *Lentinus* spp. and *P. chrysosporium* in 1 fold diluted decanter (COD 43,500 mg/l) effluent on a shaker (200 rpm) at 30°C




ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงค่าฟีนอลระหว่างการเลี้ยงเส้นใยเห็ดสกุล *Lentinus* spp. และ *P. chrysosporium* ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์เจือจาง 1 เท่า (ซีโอดี 43,500 มิลลิลิกรัมต่อลิตร) บนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30°ซ

Figure 5 Time course of phenol changes during cultivation of *Lentinus* spp. and *P. chrysosporium* in 1 fold diluted decanter (COD 43,500 mg/l) effluent on a shaker (200 rpm) at 30°C

จากผลการทดลองการกำจัดสีน้ำทิ้งของทั้ง 4 สายพันธุ์มีลักษณะที่เหมือนกันคือ ค่าสีในน้ำทิ้งเพิ่มสูงในวันแรกๆ จนสูงสุดก่อนที่จะลดลงนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Dias และคณะ (2004) ซึ่งพบว่าการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันสกัดมะกอกโดย Basidiomycete Euc-1 ค่าสีลดลงในวันที่ 3 จากนั้นจึงเพิ่มขึ้นกระทั่งสูงสุดในวันที่ 12 หลังจากนั้นค่าสีลดลงอย่างรวดเร็ว แตกต่างกับการลดลงของฟีนอล คือ ช่วงแรกฟีนอลลดลงอย่างรวดเร็วจากนั้นจึงมีแนวโน้มคงที่ ซึ่งพบลักษณะเดียวกันนี้จากการศึกษาครั้งนี้ แต่ผลการทดลองที่แตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้คือ ระยะเวลาก่อนปริมาณฟีนอลเข้าสู่ระยะคงที่ซึ่งไม่เท่ากัน แม้ว่าจากการทดลองนี้การเปลี่ยนแปลงของฟีนอลและสีในน้ำทิ้งของแต่ละช่วงเวลาจะไม่สอดคล้องกัน

ในชุดควบคุมฟีนอลเพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้นเป็นแนวโน้มเดียวกับค่าสีที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากเหตุผลเดียวกับที่ได้กล่าวแล้วในการทดลองที่ไม่เจือจางน้ำทิ้ง เมื่อเปรียบเทียบที่เวลาเดียวกัน การเพิ่มขึ้นของสีในน้ำทิ้งที่เจือจาง สีของน้ำทิ้งมีค่าเพิ่มขึ้นน้อยกว่าในน้ำทิ้งที่ไม่เจือจาง (ความชันกราฟของชุดควบคุมของน้ำทิ้งไม่เจือจางในภาพที่ 2 สูงกว่าความชันของกราฟของ ชุดควบคุมของน้ำทิ้งเจือจาง 1 เท่าในภาพที่ 4) ดังนั้นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้สีของน้ำทิ้งเพิ่มขึ้นนอกจากการออกซิไดซ์ระหว่างองค์ประกอบในน้ำทิ้งกับอากาศแล้ว ความเข้มข้นสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งมีผลต่ออัตราเร็วในการทำให้สีของน้ำทิ้งเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ D'Annibale และคณะ (1998) ที่ใช้เส้นใย *L. edodes* ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก พบว่าประสิทธิภาพการลดสีขึ้นกับปริมาณสีที่คงอยู่ในน้ำทิ้ง

เชื้อ *Lentinus* spp. และ *P. chrysosporium* สามารถเจริญในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่มีค่าซีโอดี 43,500 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีกิจกรรมการบำบัดและกำจัดสี การพิจารณาเลือกใช้น้ำทิ้งในการทดลอง พิจารณาจากค่าซีโอดีของน้ำทิ้งเป็นหลัก เมื่อพิจารณาคุณลักษณะของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์จากทั้ง 2 บริษัท เลือกใช้น้ำทิ้งดีแคนเตอร์จาก บริษัท ตรังน้ำมันปาล์ม จำกัด ซึ่งมีค่าซีโอดีสูง (87,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในการทดสอบหาระดับความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งใช้ในการทดลอง (การทดลองข้อ 1.2) จากนั้นเลือกใช้น้ำทิ้งจากบริษัท ศรีเจริญปาล์ม จำกัด ในการทดสอบการบำบัดและกำจัดสีของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ เนื่องจากมีค่าซีโอดี 55,000 มิลลิกรัมต่อลิตรใกล้เคียงกับค่าซีโอดีของน้ำทิ้งที่เชื้อสามารถเจริญและบำบัดน้ำทิ้ง

**1.3 การคัดเลือกสายพันธุ์เห็ดที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ**

เชื้อ *Lentinus* spp. และ *P. chrysosporium* สามารถเจริญในน้ำทิ้งจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มแล้วเกิดการบำบัดและกำจัดสีได้ในน้ำทิ้งที่มีค่าซีโอดี 43,500 มิลลิกรัมต่อลิตร (คำนวณจากความเจือจาง 1 เท่าจากซีโอดีเริ่มต้น 87,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (จากผลการทดลองในข้อ 1.2.2))

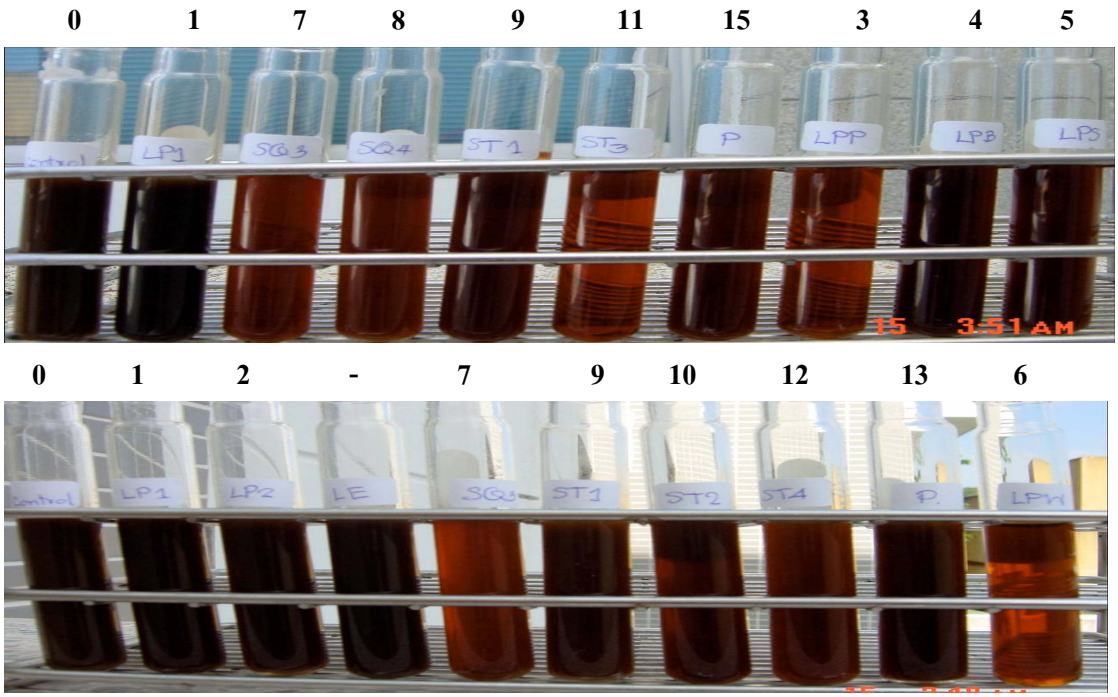
จึงเลือกใช้น้ำทิ้งดีแคนเตอร์จากบริษัท ศรีเจริญปาล์ม จำกัด ซึ่งมีค่าซีโอดี 55,000 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อทดลองเลี้ยงเส้นใยเห็ด (จากจานอาหาร พีดีเอ อายุ 5 วัน) พบว่าเชื้อทั้งหมดไม่สามารถเจริญในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ของบริษัท ศรีเจริญปาล์ม จำกัด (ทดสอบ 12 วัน) จึงทดลองบำบัดด้วยเส้นใยที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์เห็ด *Lentinus* spp. ที่สามารถบำบัดและกำจัดสีของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่มีค่าซีโอดี 55,000 มิลลิลกรัมต่อลิตร จากผลการทดลองในตารางที่ 9 พบว่า *Lentinus* spp.ทุกสายพันธุ์ และ *P. chrysosporium* เจริญได้ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์โดย กลุ่มที่เจริญดีที่สุด (น้ำหนักเส้นใยแห้งระหว่าง 27.36 - 29.57 กรัมต่อลิตร) ได้แก่ *L. polychrous* LP-WR-13, *L. strigosus* ST-S-3 และ *L. strigosus* ST-B-1 รองลงมา (น้ำหนักเส้นใยแห้งระหว่าง 19.68 - 23.86 กรัมต่อลิตร) ได้แก่ *L. squarrosulus* SQ-B-4, *L. polychrous* LP-BR-11 , *L. polychrous* LP-PT-1, *L. squarrosulus* SQ-B-3 และ *L. polychrous* LP-SW-3 พีเอชสุดท้ายของน้ำทิ้งอยู่ในช่วง 4.5 - 6.6 จากผลการทดลองพบว่าพีเอชน้ำทิ้งเพิ่มขึ้นเมื่อเส้นใยมีการเจริญ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเชื้อมีการใช้สารอินทรีย์ประเภทกรดอินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดอะมิโน กรดไขมัน กรดระเหยที่ได้ (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ, 2533) และกรดอินทรีย์สายสั้น เช่น กรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิค กรดบิวทิริก (Hwang *et al*., 1978) ซึ่งเป็นองค์ประกอบในน้ำทิ้งและทำให้ในน้ำทิ้งมีความเป็นกรดประกอบกับเชื้อราในกลุ่มนี้ไม่มีการสร้างกรดจากการเจริญ พีเอชของน้ำทิ้งจึงเพิ่มขึ้น

ประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งของแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน กลุ่มที่มีประสิทธิภาพการลดซีโอดีสูง (ซีโอดีลดลงร้อยละ 54.35- 56.92) ได้แก่ *L. squarrosulus* SQ-B-4 และ *L. polychrous* LP-WR-13 รองลงมา (ซีโอดีลดลงร้อยละ 41.47-48.21) ได้แก่ *L. polychrous* LP-PT-1, *L. squarrosulus* SQ-B-3, *L. strigosus* ST-S-3 และ *L. polychrous* LP-SWR-3 สอดคล้องกับการลดลงของค่าของแข็งทั้งหมดในน้ำทิ้ง คือ กลุ่มที่มีการลดของแข็งทั้งหมดสูง (ลดลงร้อยละ 52.21- 56.05) คือ *L. squarrosulus* SQ-B-4, *L. polychrous* LP-PT-1, *L. polychrous* LP-WR-13 และ *L. strigosus* ST-S-3 ซึ่งทั้ง 4 สายพันธุ์นี้อยู่ในกลุ่มที่มีการลดซีโอดีได้มากกว่าร้อยละ 40 น้ำทิ้งดีแคนเตอร์เป็นของเหลวที่ข้นหนืดสูงเพราะมีปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำทิ้งสูง (ตารางที่ 6) ส่วนน้ำทิ้งหลังการบำบัดมีลักษณะใสมากกว่าน้ำทิ้งก่อนการบำบัด (ภาพที่ 6) เนื่องจากเชื้อสามารถลดปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำทิ้งได้ ซึ่งความใสของน้ำทิ้งแปรผกผันกับของแข็งทั้งหมดในน้ำทิ้ง นอกจากนี้การลดค่าซีโอดีและฟีนอลมีความสอดคล้องกับการเจริญของเส้นใย เพราะเส้นใยที่สามารถเจริญในน้ำทิ้งมีการใช้สารอินทรีย์เพื่อการเจริญ ดังนั้นปริมาณซีโอดีและฟีนอลจึงลดลง เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Kirkpatrick และคณะ (1990) ที่พบความสอดคล้องกันระหว่างการเจริญของเส้นยที่เพิ่มขึ้นกับปริมาณเยื่อกระดาษลดลงจากการใช้เส้นใยราไวท์รอท *Trametes* (*Coriolus*) *versicolor* ที่ถูกตรึงบนโพลียูรีเทนโฟมในการฟอกสีเยื่อไม้เนื้อแข็ง (hardwood kraft

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบการบำบัดและกำจัดสีทิ้งดีแคนเตเอร์ (ซีโอดี 55,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดย *Lentinus* spp. และ *P. chrysosporium* ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ หลังการเลี้ยงเชื้อ 12 วันบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาทีที่ 30°ซ

Table 9 Comparison on treatment and decolorization of decanter effluent (COD 55,000 mg/L) by immobilized *Lentinus* spp. and *P. chrysosporium* after 12 days cultivation on a shaker (200 rpm) at 30°C.

| Microorganisms | | pH | Mycelia dry weight (g/l) | COD removal (%) | Color removal (%) | Phenol removal (%) | Total solid removal (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *L.polychrous* | LP-P-1 | 6.5 | 13.44 | 32.82 | 38.79 | 66.95 | 39.81 |
| | LP-P-2 | 5.0 | 2.06 | 7.79 | 22.71 | 44.72 | 19.77 |
| | LP-PT-1 | 5.9 | 21.65 | 48.21 | 58.82 | 73.77 | 52.95 |
| | LP-BR-11 | 5.9 | 23.86 | 22.05 | 36.92 | 57.72 | 37.65 |
| | LP-WR-13 | 6.9 | 29.57 | 54.35 | 56.56 | 75.00 | 52.83 |
| | LP-SW-3 | 5.5 | 19.68 | 41.47 | 34.75 | 61.31 | 46.16 |
| *L. squarrosulus* | SQ-B-3 | 5.9 | 21.02 | 44.76 | 39.90 | 73.56 | 45.85 |
| | SQ-B-4 | 6.6 | 23.86 | 56.92 | 51.27 | 77.04 | 56.05 |
| *L strigosus* | ST-B-1 | 5.4 | 27.36 | 38.50 | 33.92 | 65.41 | 40.71 |
| | ST-K-2 | 5.0 | 16.80 | 32.89 | 36.46 | 60.26 | 37.04 |
| | ST-S-3 | 5.0 | 28.37 | 44.10 | 58.59 | 78.48 | 52.21 |
| | ST-Y-4 | 5.5 | 8.93 | 18.74 | 38.26 | 69.10 | 28.05 |
| *P. chrysosporium* | | 4.5 | 11.42 | 9.16 | 33.70 | 42.69 | 14.77 |




1 = *L. polychrous* LP-P-1

2 = *L. polychrous* LP-P-2

3 = *L. polychrous* LP-PT-1

4 = *L. polychrous* LP-BR-11

5 = *L. polychrous* LP-SW-3

6 = *L. polychrous* LP-WR-13

7 = *L. squarrosulus* SQ-B-3

8 = *L. squarrosulus* SQ-B-4

9 = *L. strigosus* ST-B-1

10 = *L. strigosus* ST-K-2

11 = *L. strigosus* ST-S-3

12 = *L. strigosus* ST-Y-4

13 = *P. chrysosporium*

0 = Control

ภาพที่ 6 เปรียบเทียบสีของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ (ซีโอดี 55,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) หลังการบำบัดโดย *Lentinus* spp. และ *P. chrysosporium* ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาทีที่ 30°ซ หลังการเลี้ยงเชื้อ 12 วัน

Figure 6 Comparison on color of decanter effluent (COD 55,000 mg/l) after treatment by immobilized *Lentinus* spp. and *P. chrysosporium* after 12 days cultivation on a shaker (200 rpm) at 30°C.

pulp) ทำให้เยื่อไม้ขาว (brightness) ขึ้นร้อยละ 50.2 ภายใน 5 วัน การที่ปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำทิ้งลดลง เกิดจากเชื้อใช้สารอาหารในน้ำทิ้งโดยการผลิตเอนไซม์นอกเซลล์ เช่น เอนไซม์กลุ่มลิกนิโนไลติก ออกมาย่อยองค์ประกอบในน้ำทิ้งซึ่งส่วนใหญ่เป็นองค์ประกอบของเซลล์พืช เช่น เซลลูโลส ไซแลน ลิกนิน แทนนิน องค์ประกอบเหล่านี้มีทั้งส่วนที่มีขนาดใหญ่เป็นเนื้อเยื่อพืชและโพลิเมอร์สายยาว (Ho and Tan, 1983) ให้มีขนาดเล็กลง หรือเปลี่ยนสู่โครงสร้างที่เซลล์สามารถนำไปใช้ได้สะดวก อีกส่วนหนึ่งเกิดเส้นใยเจริญและห่อหุ้มตะกอนน้ำทิ้งไว้ภายในก้อนเส้นใย ซึ่งของแข็งส่วนนี้มีปริมาณน้อยเพราะว่าเส้นใยมีการย่อยสลายต่อโดยกิจกรรมของเอนไซม์ลิกนิโนไลติกซึ่งบางส่วนเกิดที่บริเวณโดยรอบเส้นใย (Swamy and Ramsay, 1999)

การลดค่าสีและฟีนอลไม่มีความสอดคล้องกับการเจริญของเส้นใย การลดค่าซีโอดีและของแข็งทั้งหมด ซึ่งมีความแตกต่างกันตามสายพันธุ์ ทั้งนี้ขึ้นกับประสิทธิภาพของแต่ละสายพันธุ์ที่สามารถลดสีหรือฟีนอลได้ไม่เท่ากัน จากผลการทดลอง (ตารางที่ 9 และภาพที่ 6) การลดค่าสีและฟีนอลของเชื้อส่วนใหญ่ไม่มีความสัมพันธ์กัน สำหรับ *L. polychrous* LP-PT-1, *L. polychrous* LP-WR-13, *L. squarrosulus* SQ-B-4 และ *L. strigosus* ST-S-3 ซึ่งลดสีได้มากกว่าร้อยละ 51.27-58.82 มีการลดฟีนอลได้มากกว่าร้อยละ 73.77-78.48 แต่ในกรณีของ *L. squarrosulus* SQ-B-3 ที่ลดฟีนอลได้ร้อยละ 73.56 กลับลดสีได้เพียง 39.90 สอดคล้องกับผลการทดลองของ Dias และคณะ (2004) และ D'Annibale และคณะ (1998) ซึ่งบำบัดน้ำทิ้งจาโรงานสกัดน้ำมันมะกอก แตกต่างจากผลการทดลองของ Fadil และคณะ (2003) พบความสัมพันธ์ที่สอดคล้องกันระหว่างการลดสีกับการลดฟีนอลในน้ำทิ้ง

จากผลการทดลอง *P. chrysosporium* มีการเจริญได้น้อย สอดคล้องกับค่าซีโอดีและของแข็งทั้งหมดที่ลดลงเพียงร้อยละ 9.16 และ 14.77 ตามลำดับ แต่กลับมีความสามารถในการลดสีและฟีนอลได้ถึงร้อยละ 33.7 และ 42.7 ตามลำดับ แตกต่างจากงานทดลองก่อนหน้า ซึ่งพบว่า *P. chrysosporium* มีประสิทธิภาพในการกำจัดสีจากน้ำทิ้งและสีสังเคราะห์ได้และมีการประยุกต์ใช้ในการบำบัดสี (Sayadi and Ellouz, 1995; Chagas and Durrant, 2001)

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการบำบัดและกำจัดสีของเชื้อพบว่า *L. polychrous* LP-PT-1, *L. polychrous*LP-WR-13, *L. squarrosulus* SQ-B-4 และ *L. strigosus* ST-S-3 ทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถลดค่าซีโอดีลงมากกว่าร้อยละ 50 (เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อ ณ วันเดียวกัน) และลดค่าสีได้สูง (ร้อยละ 44.10-56.92) รวมทั้งลดค่าฟีนอลได้มากกว่าร้อยละ 70 ส่วนค่าของแข็งทั้งหมดลดได้มากกว่าร้อยละ 50 แต่หากพิจารณาร่วมกับการเจริญของเส้นใยพบว่า ทั้ง 4 สายพันธุ์ที่คัดเลือกสามารถเจริญในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ได้ดี (อยู่ในกลุ่มที่มีการเจริญสูงสุดและรองลงมา) จากผลการทดลองจึงกล่าวได้ว่าทั้ง 4 สายพันธุ์มีศักยภาพในการบำบัดและกำจัดสี จึงเลือก *L. polychrous* LP-

PT-1, *L. polychrous* LP-WR-13, *L. squarrosulus* SQ-B-4 และ *L. strigosus* ST-S-3 เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

**1.4 ชนิดของเอนไซม์จากเห็ด *Lentinus* spp.**

การทดสอบการผลิตเอนไซม์กลุ่มลิกนิโนไลติก 2 ชนิด คือ แลคเคสและเปอร์ออกซิเดส กับแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส ในจานอาหารซึ่งมีสับเสตรต 2 ชนิดคือ ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethlbenzthaizoline)-6-sulphonate) สำหรับเอนไซม์แลคเคสและเปอร์ออกซิเดส และ $MnCl_2.4H_2O$ สำหรับเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2$ องศาเซลเซียส) สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อทุกวัน เป็นเวลา 15 วัน จากตารางที่ 10 ทุกสายพันธุ์แสดงกิจกรรมออกซิไดซ์ ABTS(ไม่มีสี) เป็นสีเขียวคล้ำของ ABTS cation radical ($ABTS^{\cdot+}$) แสดงว่ามีการผลิตเอนไซม์นอกเซลล์กลุ่มออกซิโดรีดักเตส (oxidoreductases) ได้แก่ แลคเคสและเปอร์ออกซิเดส ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Steffen และคณะ (2000) ที่การออกซิไดซ์ ABTS เกิดขึ้นทันทีหรือภายในวันแรกหลังจากวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใย แสดงว่ากลไกที่มีการขับเอนไซม์ออกมานอกเซลล์มีผลต่อการออกซิไดซ์ที่เกิดขึ้นนี้ เนื่องจากเส้นใยมีกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสและเปอร์ออกซิเดสตั้งแต่อยู่ในจานอาหารพีดีเอ (เกิดการออกซิไดซ์ ABTS เกิดขึ้นทันที) และเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเส้นใยเริ่มเจริญ ขณะที่เอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเกิดขึ้นช้า เพราะการออกซิไดซ์ $Mn^{4+}$ เกิดภายหลังเส้นใยเจริญประมาณ 7 วัน และมีเพียง *L. strigosus* ST-B-1, *L. strigosus* ST-K-2, *L. strigosus* ST-S-3, *L. strigosus* ST-Y-4 และ *P. chrysosporium* เท่านั้นที่มีกิจกรรมของแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส ซึ่งมีรายงานว่าเชื้อที่แม้จะอยู่ในสกุลเดียวกันอาจมีระบบเอนไซม์ที่ไม่เหมือนกันได้ (ชริดา ปุกหุต และคณะ, 2543 ; Steffen *et al*., 2000 ; Rodriquez *et al*., 1999) ส่วนสายพันธุ์อื่นๆ ไม่พบกิจกรรมแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสแม้บ่มไว้ 15 วัน

**2. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการลดสีของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้เส้นใยเห็ด**

**2.1 ผลของไนโตรเจน**

**2.1.1 ผลของแหล่งไนโตรเจน**

จากการเลี้ยงเห็ด *Lentinus* spp. ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ อายุ 7 วัน จำนวน 4 สายพันธุ์ (คัดเลือกจากข้อ 1.3) ได้แก่ *L. polychrous* LP-PT-1, *L. polychrous* LP-WR-13, *L. squarrosulus* SQ-B-4 และ *L. strigosus* ST-S-3 ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ไม่ปรับพีเอช (พีเอชเริ่มต้น 4.5) เติมแหล่งไนโตรเจน 3 ชนิด คือ ยูเรีย แอมโมเนียมไนเตรต หรือ แอมโมเนียมซัลเฟต ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที พีเอชสุดท้ายหลังการบำบัดด้วยเส้นใยเห็ด *Lentinus* spp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ (ตารางที่ 11) น้ำทิ้งที่ไม่เติม

ตารางที่ 10 การคัดเลือกเชื้อ *Lentinus* spp. จากการทดสอบกิจกรรมการออกซิไดซ์ ABTS และแมงกานีสบนจานอาหารแข็งเปรียบเทียบกับของ *P. chrysosporium*

Table 10 Results of agar - plate screening showing the abilities of *Lentinus* spp. and *P. chrysosporium* to oxidise ABTS and oxidise manganese.

| **Microoganisms** | **ABTS oxidation**[a] | | **$Mn^{2+}$ oxidation**[b] | |
|---|---|---|---|---|
| | Forming of dark-green rings | Change time (days) | Forming of black flecks of $MnO_2$ | Change time (days)* |
| *L. polychrous* LP-P-1 | + | Within 15 min | - | - |
| *L. polychrous* LP-P-2 | + | Within 15 min | - | - |
| *L. polychrous* LP-PT-1 | + | Within 15 min | - | - |
| *L. polychrous* LP-BR-11 | + | Within 15 min | - | - |
| *L. polychrous* LP-SW-3 | + | Within 15 min | - | - |
| *L. polychrous* LP-WR-13 | + | Within 15 min | - | - |
| *L. squarrosulus* SQ-B-3 | + | 1 | - | - |
| *L. squarrosulus* SQ-B-4 | + | Within 15 min | - | - |
| *L. strigosus* ST-B-1 | + | 1 | + | 8 |
| *L. strigosus* ST-K-2 | + | 1 | + | 8 |
| *L. strigosus* ST-S-3 | + | 1 | + | 7 |
| *L. strigosus* ST-Y-4 | + | 1 | + | 8 |
| *P. chrysosporium* | + | 1 | + | 8 |

\+ Positive result

\- Negative result

[a] Laccase and peroxidase activity

[b] Manganese peroxidase activity

ตารางที่ 11 ผลของเหล่งไนโตรเจนต่อการบำบัดและกำจัดสีของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์โดย *Lentinus* spp. ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำจำนวน 4 สายพันธุ์ หลังการเลี้ยงเชื้อ 12 วันบนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30°ซ

Table 11 Effects of nitrogen sources on treatment of decanter effluent from a palm oil mill by immobilized *Lentinus* spp. after 12 days cultivation on a shaker (200 rpm) at 30°C

| Microoganisms | Nitrogen sources (0.1% w/v) | Final pH | Mycelial dry weight (g/l) | Color removal (%) | COD removal (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| *L.polychrous* LP-PT-1 | No nitrogen | 5.8 | $24.78^{B}$ | $23.44^{B}$ | $32.15^{C}$ |
| | $NH_4NO_3$ | 5.2 | $22.32^{A}$ | $41.53^{G}$ | $32.52^{C}$ |
| | $(NH_4)_2SO_4$ | 5.3 | $22.15^{A}$ | $28.11^{C}$ | $30.49^{C}$ |
| | Urea | 7.0 | $28.50^{D}$ | $25.64^{B}$ | $50.00^{F}$ |
| *L.polychrous* LP-WR-13 | No nitrogen | 5.2 | $26.70^{C}$ | $36.52^{E}$ | $37.17^{D}$ |
| | $NH_4NO_3$ | 5.7 | $27.46^{C}$ | $21.98^{B}$ | $31.35^{C}$ |
| | $(NH_4)_2SO_4$ | 5.1 | $25.50^{B}$ | $24.96^{B}$ | $18.56^{A}$ |
| | Urea | 6.4 | $21.23^{A}$ | $32.20^{D}$ | $44.31^{F}$ |
| *L. squarrosulus* SQ-B-4 | No nitrogen | 5.7 | $25.25^{B}$ | $43.95^{H}$ | $43.59^{F}$ |
| | $NH_4NO_3$ | 5.9 | $27.12^{C}$ | $16.36^{A}$ | $53.25^{G}$ |
| | $(NH_4)_2SO_4$ | 5.9 | $30.42^{D}$ | $36.12^{E}$ | $56.51^{H}$ |
| | Urea | 6.6 | $24.22^{B}$ | $30.15^{D}$ | $58.94^{I}$ |
| *L strigosus* ST-S-3 | No nitrogen | 4.9 | $26.24^{C}$ | $40.50^{G}$ | $40.02^{E}$ |
| | $NH_4NO_3$ | 4.9 | $27.25^{C}$ | $41.23^{G}$ | $26.29^{B}$ |
| | $(NH_4)_2SO_4$ | 5.1 | $29.38^{D}$ | $40.55^{G}$ | $38.35^{D}$ |
| | Urea | 6.2 | $30.17^{D}$ | $32.71^{D}$ | $48.78^{F}$ |

Means within each row sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)

แหล่งไนโตรเจนมีค่าพีเอชสุดท้ายอยู่ในช่วง 4.9 - 5.8 ส่วนการทดลองที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนต่างๆ พีเอชอยู่ในช่วง 4.9 - 7.0 แม้ว่า วสันณ์ เพชรรัตน์ (2538c) พบว่า *L. polychrous* เจริญได้ดีในอินทรีย์ไนโตรเจน คือ เปปโตนและกรดกลูตามิก แต่ในการทดลองนี้พบว่าการเจริญของเส้นใย *L. polychrous* LP-PT-1 และ *L. polychrous* LP-WR-13 ในน้ำทิ้งไม่มีความแตกต่างระหว่างการทดลองที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน (น้ำหนักแห้ง 22.15 - 28.50 กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. polychrous* LP-PT-1 และ 21.23 - 27.46 กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. polychrous* LP-WR-13) และไม่เติมแหล่งไนโตรเจน (24.78 กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. polychrous* LP-PT-1 และ 26.70 กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. polychrous* LP-WR-13) แสดงว่าอนินทรีย์ไนโตรเจนที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่มีผลต่อการเจริญในน้ำทิ้งของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ สำหรับ *L. squarrosulus* SQ-B-4 การเติมแอมโมเนียมซัลเฟตมีผลให้การเจริญสูงสุด (30.42 กรัมต่อลิตร) ต่างกับผลการทดลองของ วสันณ์ เพชรรัตน์ (2538a) ทดสอบการเจริญของ *L. squarrosulus* และ *L. strigosus* บนอาหารสังเคราะห์พบว่าอนินทรีย์ไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. squarrosulus* คือ แอมโมเนียมไนเตรต ส่วน *L. strigosus* ST-S-3 ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุด (30.17 กรัมต่อลิตร) รองลงมาได้แก่แอมโมเนียมซัลเฟต (29.38 กรัมต่อลิตร) ผลการทดลองนี้ต่างกับผลการทดลองของ วสันณ์ เพชรรัตน์ (2538b) อนินทรีย์ไนโตรเจนที่ *L. strigosus* เจริญดีที่สุด คือ แอมโมเนียมซัลเฟต

สำหรับการลดซีโอดีและสีในน้ำทิ้งพบว่า *L. polychrous* LP-PT-1 สามารถลดซีโอดีสูงสุด (ร้อยละ 50.0) เมื่อเติมยูเรีย และลดสีสูงสุด (ร้อยละ 41.53) เมื่อเติมแอมโมเนียมไนเตรต ส่วน *L. polychrous* LP-WR-13 ลดซีโอดีสูงสุด (ร้อยละ 44.31) เมื่อเติมยูเรีย และสามารถลดสีสูงสุดร้อยละ 36.52 เมื่อไม่เติมไนโตรเจน รองลงมาร้อยละ 32.20 เมื่อเติมยูเรีย การเติมแหล่งไนโตรเจนสำหรับ *L. squarrosulus* SQ-B-4 สามารถลดซีโอดีสูงกว่าการไม่เติมไนโตรเจน (ร้อยละ 43.59) และสูงสุดเมื่อเติมยูเรีย (ร้อยละ 58.94) อย่างไรก็ตามเชื้อนี้สามารถลดค่าสีในน้ำทิ้งสูงสุด (ร้อยละ 43.95) เมื่อไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ขณะที่ *L. strigosus* ST-S-3 สามารถลดซีโอดีสูงสุด (ร้อยละ 48.78) เมื่อเติมยูเรีย แต่ลดสีได้สูงไม่แตกต่างระหว่างการเติมแอโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมซัลเฟต หรือไม่เติมไนโตรเจน (ร้อยละ 41.23, 40.55 และ 40.50 ตามลำดับ) และมีประสิทธิภาพการลดสีต่ำกว่าเมื่อเติมยูเรีย (ร้อยละ 32.71) จากผลการทดลองนี้พบว่าสายพันธุ์เหล่านี้ส่วนใหญ่ลดสี ได้ดีเมื่อไม่มีเติมไนโตรเจน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Miyata และคณะ (2000) ที่เปรียบเทียบผลของไนโตรเจนอินทรีย์ (เปบโตน) และไนโตรเจนอนินทรีย์ (แอมโมเนียมไนเตรต) ต่อการกำจัดสีเมลานอยดินโดย *Coriolus hirsutus* พบว่าอินทรีย์ไนโตรเจนมีผลลดความสามารถในการกำจัดสีของเชื้อมากกว่าอนินทรีย์ไนโตรเจน และความสามารถในการลดสีต่ำลงเมื่อเติมไนโตรเจนเป็น

เพราะไนโตรเจนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 อาจจะไม่ใช่ความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการลดสีน้ำทิ้งโดยเชื้อที่ใช้ในการทดลองนี้

เปรียบเทียบผลของแหล่งไนโตรเจนทั้ง 3 ชนิดต่อการบำบัดน้ำทิ้งจากทั้ง 4 สายพันธุ์ พบว่ายูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนที่พบการลดซีโอดีสูง (ร้อยละ 43.59 - 58.94) และ *L. squarrosulus* SQ-B-4 สามารถลดค่าซีโอดีสูงสุดร้อยละ 58.94 และพบการลดสีในน้ำทิ้งสูงสุด (ร้อยละ 43.59) เมื่อไม่เติมไนโตรเจน เมื่อพิจารณาจากประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดีคู่กับการลดค่าสีจึงเลือกยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการทดลองในขั้นต่อไป

**2.1.2 ผลของความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่คัดเลือกได้**

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 ซึ่งคัดเลือกยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน แปรผันความเข้มข้นของยูเรียเป็นร้อยละ 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 12 สำหรับ *L. polychrous* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าพีเอชสุดท้ายของน้ำทิ้งหลังการบำบัด 12 วันเพิ่มขึ้น (อยู่ในช่วง 5.0 - 8.3) เมื่อความเข้มข้นของยูเรียเพิ่มขึ้น ส่วน *L. squarrosulus* SQ-B-4 พีเอชสุดท้ายสูงถึง 8 ที่ความเข้มข้นของยูเรียร้อยละ 0.1-0.2 ขณะที่ *L. strigosus* ST-S-3 พีเอชสุดท้ายแตกต่างกันโดยไม่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหรือลดลงตามความเข้มข้นยูเรีย การเพิ่มขึ้นของพีเอชสุดท้ายสอดคล้องกับการเจริญของเชื้อ สำหรับเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ มีการเจริญในน้ำทิ้งที่มีการเติมยูเรีย (33.31 - 34.78 กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. polychrous* LP-PT-1, 30.93 - 31.90 กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. polychrous* LP-WR-13, 18.29 - 23.53กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. squarrosulus* SQ-B-4 และ 21.78 - 31.24 กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. strigosus* ST-S-3) สูงกว่าไม่เติมยูเรีย (31.13 กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. polychrous* LP-PT-1, 25.24 กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. polychrous* LP-WR-13, 20.93 กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. squarrosulus* SQ-B-4 และ 17.05 กรัมต่อลิตร สำหรับ *L. strigosus* ST-S-3) *L. squarrosulus* SQ-B-4 และ *L. strigosus* ST-S-3 เจริญสูงสุดเป็น 23.53 และ 31.24 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเติมยูเรียร้อยละ 0.4 ขณะที่ *L. polychrous* LP-PT-1 มีการเจริญอยู่ระหว่าง 33.31 - 34.78 กรัมต่อลิตร เมื่อเติมยูเรียที่ความเข้มข้นต่างๆ (ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างแต่ละความเข้มข้น) ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อไม่เติมยูเรีย (31.13 กรัมต่อลิตร) แนวโน้มเดียวกันนี้พบในสายพันธุ์ *L. polychrous* LP-WR-13 ซึ่งมีการเจริญ (30.93-31.90 กรัมต่อลิตร) ในทุกความเข้มข้นของยูเรียสูงกว่าเมื่อไม่เติมยูเรีย (25.24 กรัมต่อลิตร) ดังนั้นการเติมยูเรียระหว่างร้อยละ 0.05 - 0.4 มีผลดีต่อการเจริญของเส้นใย *L. polychrous*

จากการพิจารณาการบำบัดและกำจัดสีน้ำทิ้ง พบว่า *L. polychrous* ทั้งสองสายพันธุ์นี้มีประสิทธิภาพการลดซีโอดีสูง (ร้อยละ 45.0-56.6) ไม่แตกต่างระหว่างการไม่เติมยูเรียกับการเติมยูเรียร้อยละ 0.05-0.1 ซึ่งสูงกว่าที่ความเข้มข้นของยูเรียร้อยละ 0.2-0.4 การลดสีในน้ำทิ้งของทั้งสอง

ตารางที่ 12 ผลของความเข้มข้นของยูเรียต่อการบำบัดและกำจัดสีของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์โดย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำจำนวน 4 สายพันธุ์ หลังการเลี้ยงเชื้อ 12 วัน บนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30°ซ

Table 12 Effect of urea concentration on treatment and decolorization of decanter effluent from a palm oil mill by immobilized *Lentinus* spp. after 12 days cultivation on a shaker (200 rpm) at 30°C

| Microoganisms | Urea conc. (w/v) | Final pH | Mycelia dry weight (g/l) | Color removal* (%) | COD removal (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| *L. polychrous* LP-PT-1 | 0.00 | 5.1 | $31.13^{E}$ | $44.05^{K}$ | $53.53^{F}$ |
| | 0.05 | 5.5 | $33.65^{F}$ | $34.66^{I}$ | $55.08^{F}$ |
| | 0.10 | 5.9 | $33.31^{F}$ | $12.70^{F}$ | $46.09^{D}$ |
| | 0.20 | 7.2 | $34.78^{F}$ | $-17.18^{C}$ | $10.25^{A}$ |
| | 0.40 | 7.9 | $33.36^{F}$ | $-66.67^{B}$ | $14.09^{B}$ |
| *L. polychrous* LP-WR-13 | 0.00 | 5.0 | $25.24^{D}$ | $42.31^{K}$ | $21.57^{C}$ |
| | 0.05 | 5.8 | $31.00^{E}$ | $38.82^{J}$ | $56.67^{F}$ |
| | 0.10 | 6.0 | $30.93^{E}$ | $19.68^{G}$ | $45.00^{D}$ |
| | 0.20 | 7.8 | $31.51^{E}$ | $-3.07^{D}$ | $10.25^{A}$ |
| | 0.40 | 8.3 | $31.90^{E}$ | $-17.68^{C}$ | $16.23^{B}$ |
| *L. squarrosulus* SQ-B-4 | 0.00 | 5.5 | $20.93^{B}$ | $40.52^{J}$ | $63.52^{H}$ |
| | 0.05 | 7.6 | $18.29^{A}$ | $19.78^{G}$ | $53.24^{F}$ |
| | 0.10 | 8.2 | $20.07^{B}$ | $16.12^{F}$ | $58.33^{G}$ |
| | 0.20 | 8.0 | $21.90^{B}$ | $-23.04^{B}$ | $50.00^{E}$ |
| | 0.40 | 7.3 | $23.53^{C}$ | $-90.30^{A}$ | $48.72^{E}$ |
| *L. strigosus* ST-S-3 | 0.00 | 6.0 | $17.05^{A}$ | $41.18^{K}$ | $43.02^{D}$ |
| | 0.05 | 5.4 | $21.78^{B}$ | $43.03^{K}$ | $64.17^{H}$ |
| | 0.10 | 6.2 | $26.78^{D}$ | $25.03^{H}$ | $53.33^{F}$ |
| | 0.20 | 7.1 | $22.97^{C}$ | $2.35^{E}$ | $47.01^{E}$ |
| | 0.40 | 5.8 | $31.24^{E}$ | $4.75^{E}$ | $48.72^{E}$ |

*Negative color removal is the effluent darker than the initial effluent

Means within each row sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)

สายพันธุ์นี้มีแนวโน้มเดียวกัน คือพบการลดสีของน้ำทิ้ง เมื่อไม่เติมยูเรียหรือเติมยูเรียที่ความเข้มข้นของยูเรียต่ำ (ร้อยละ 0.05 - 0.1) ส่วน *L. polychrous* LP-PT-1 และ *L. polychrous* LP-WR-13 มีประสิทธิภาพการลดสีน้ำทิ้งสูงสุด (ร้อยละ 44.05 และ42.31 ตามลำดับ ) เมื่อไม่เติมยูเรีย ส่วน *L. squarrosulus* SQ-B-4 มีประสิทธิภาพการลดซีโอดีและลดสีสูงที่สุด (ร้อยละ 63.52 และ 40.52 ตามลำดับ) เมื่อไม่เติมยูเรีย และมีค่าลดลงเมื่อเติมยูเรีย แสดงว่าสำหรับ *L. squarrosulus* SQ-B-4 การเติมยูเรียแม้มีผลดีต่อการเจริญของเส้นใยแต่กลับลดประสิทธิภาพการบำบัดและกำจัดสีของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ ส่วน *L. strigosus* ST-S-3 การลดสีและซีโอดีสูงสุด (ร้อยละ 43.03 และ 64.17 ตามลำดับ) เมื่อเติมยูเรียร้อยละ 0.05 และมีการลดสีไม่แตกต่างระหว่างการไม่เติมยูเรียกับการเติมยูเรียร้อยละ 0.05 (ร้อยละ 41.18 และ 43.03) การเติมยูเรียความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 0.05 พบว่าร้อยละการลดสีในน้ำทิ้งลดลง (ระหว่างร้อยละ 2.35 - 25.03)

ส่วนที่เหมือนกันสำหรับทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ เมื่อความเข้มข้นของยูเรียเพิ่มขึ้น ประสิทธิภาพการลดสีของเส้นใยกลับลดลง และมีเพียง *L. strigosus* ST-S-3 เท่านั้นที่ลดสีได้สูงสุดเมื่อเติมยูเรียร้อยละ 0.05 ส่วนอีก 3 สายพันธุ์ลดสีได้สูงสุดเมื่อไม่เติมยูเรีย เช่นเดียวกับงานของ Miyata และคณะ (2000) ที่พบว่า *Coriolus hirsutus* สามารถกำจัดสีเมลานอยดินสังเคราะห์ได้ดีในสภาวะที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน

เห็ดทั้ง 4 สายพันธุ์ลดค่าซีโอดีได้ต่ำลงที่ความเข้มข้นยูเรียร้อยละ 0.4 เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการลดซีโอดีของทั้ง 4 สายพันธุ์พบว่า *L. strigosus* ST-S-3 สามารถลดซีโอดีได้สูงสุด (ร้อยละ 64.17) เมื่อเติมยูเรียร้อยละ 0.05 ส่วนการลดสีสูงสุดไม่แตกต่างกันระหว่าง *L. squarrosulus* SQ-B-4 เมื่อไม่เติมไนโตรเจน และ *L. strigosus* ST-S-3 เมื่อเติมยูเรียร้อยละ 0.05

เมื่อพิจารณาโดยรวมพบว่า ยูเรียมีผลดีต่อการเจริญของเส้นใย *L. polychrous* LP-WR-13, *L. squarrosulus* SQ-B-4 และ *L. strigosus* ST-S-3 และการเติมยูเรียที่ความเข้มข้นต่ำ (ร้อยละ 0.05-0.1) มีผลดีต่อการบำบัดและกำจัดสี ขณะที่การเติมยูเรียความเข้มข้นสูงขึ้น (ร้อยละ 0.2-0.4) เนื่องจากการปรับสัดส่วน C:N ในน้ำทิ้งส่งเสริมการเจริญ แต่มีผลเสียต่อการลดสีโดยมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของสีในน้ำทิ้ง

จากการเปรียบเทียบผลการทดลองเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ พบว่า *L. strigosus* ST-S-3 ที่มีการเติมยูเรียร้อยละ 0.05 เลี้ยงบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 12 วัน มีการลดซีโอดีได้สูงสุด (ร้อยละ 64.17) และลดสีได้สูงสุด (ร้อยละ 43.02) จึงเลือก *L. strigosus* ST-S-3 และการเติมยูเรียที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ซึ่งคำนวณผลในรูป COD: N ได้เท่ากับ 54:1 เป็นเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมต่อการบำบัดและกำจัดสีน้ำทิ้งดีแคนเตอร์

**2.2 ผลของอิออนโลหะ**

**2.2.1 ผลของคอปเปอร์อิออน**

คอปเปอร์อิออนเป็นโลหะที่จำเป็นต่อการสร้างเอนไซม์แลคเคส เพราะเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในโครงสร้างของเอนไซม์ที่ทำให้มีกิจกรรมได้ (active) และมีรายงานว่า แลคเคสสำคัญต่อการกำจัดสีในน้ำทิ้ง (Dias *et al*., 2004) และคอปเปอร์อิออนมีส่วนกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ในระดับการผลิตโปรตีนในเซลล์ (Palmieri *et al*., 2000) จากการทดลองบำบัดน้ำทิ้ง ดีแคนเตอร์ด้วยเส้นใยเห็ด *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ เติมยูเรียที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเติมคอปเปอร์ซัลเฟตให้มีความเข้มข้นของคอปเปอร์อิออนที่เติมเป็น 0, 1.0, 1.5 และ 2.0 ppm พบว่าพีเอชสุดท้ายมีค่าไม่แตกต่างกัน (4.4-4.5) (ตารางที่ 13) เช่นเดียวกับผลของอิออนของแมงกานีสและเหล็ก การเจริญของเส้นใยสูงสุด 26.4 กรัมต่อลิตร เมื่อเติมคอปเปอร์อิอน 1.5 ppm แต่การเติมคอปเปอร์อิอนมีผลลดประสิทธิภาพการกำจัดสีใน น้ำทิ้งของเชื้อ (ภาพที่ 7) นอกจากนี้ความเข้มข้นของคอปเปอร์อิออน 2.0 ppm ให้ประสิทธิภาพการลดซีโอดีสูงสุด (ร้อยละ 63.12) ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ร้อยละ 61.66) แต่คอปเปอร์อิออน 1.0 - 1.5 ppm ให้ผลลดประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดี และแม้ว่าการเติมคอปเปอร์อิออน 1.5 ppm มีผลเพิ่มการเจริญของเส้นใย แต่กลับลดประสิทธิภาพการลดสีในน้ำทิ้งของเส้นใย เช่นเดียวกับโลหะอิออนอีก 2 ชนิด จะเห็นว่ามีการเติมคอบเปอร์อิออนมีผลต่อการลดประสิทธิภาพการลดค่าสีโดยเชื้อน้อยกว่าโลหะอิออนอีก 2 ชนิดเนื่องจากในน้ำทิ้งเริ่มต้นมีปริมาณทองแดงน้อยกว่าโลหะตัวอื่นๆ

**2.2.2 ผลของเหล็กอิออน**

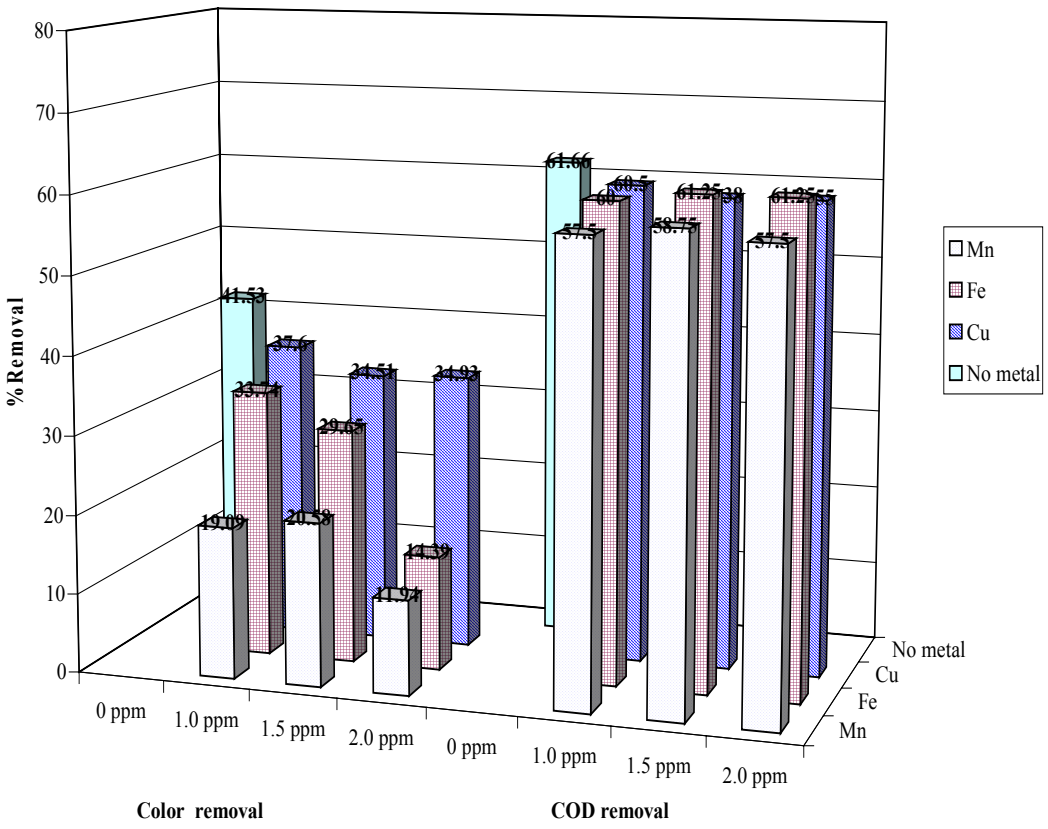
เหล็กเป็นส่วนหนึ่งในหมู่ฮีมของเอนไซม์แลคเคสจึงควรมีส่วนสำคัญต่อปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อและส่งผลต่อการลดสีในน้ำทิ้ง จากการทดลองบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ด้วยเส้นใยเห็ด *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ เติมยูเรียร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเติมเฟอรัสซัลเฟตให้มีความเข้มข้นของเฟอร์รัสอิออนที่เติมเป็น 0, 1.0, 1.5 และ 2.0 ppm (ตารางที่ 13) พบว่าให้ผลเช่นเดียวกับผลของคอปเปอร์อิออนซึ่งพีเอชสุดท้ายหลังการบำบัด 12 วัน มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก (4.4-4.5) และมีการเจริญสูงสุดที่ 24.98 และ 24.95 กรัมต่อลิตร เมื่อเติมเหล็กอิออนความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 ppm ตามลำดับ ส่วนประสิทธิภาพการลดซีโอดีทุกความเข้มข้นเหล็กอิออนและชุดควบคุมไม่แตกต่างกัน สำหรับการลดค่าสี (ภาพที่ 6) สูงสุด (ร้อยละ 41.58) ในชุดควบคุม รองลงมาเมื่อเติมเหล็กอิออนความเข้มข้น 1.0 ppm (ร้อยละ 33.74) และประสิทธิภาพการลดสีลดลงเมื่อความเข้มข้นของเหล็กอิออนเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 13 ผลของชนิดและความเข้มข้นของอิออนโลหะต่อการเจริญของ *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ หลังการเลี้ยงเชื้อ 12 วัน บนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30°ซ

Table 13 Effect of metal concentration on growth of immobilized *L. strigosus*ST-S-3 in the decanter effluent after 12 days cultivation on a shaker (200 rpm) at 30°C.

| Metal types | Metal conc. (ppm) | Final pH | Mycelia dry weight (g/l) |
|---|---|---|---|
| No metal added | | 8.7 | $21.83^{A}$ |
| Cu | 1.0 | 4.5 | $22.53^{A}$ |
| | 1.5 | 4.4 | $26.42^{D}$ |
| | 2.0 | 4.4 | $23.58^{B}$ |
| Fe | 1.0 | 4.5 | $24.98^{C}$ |
| | 1.5 | 4.5 | $24.95^{C}$ |
| | 2.0 | 4.4 | $23.02^{B}$ |
| Mn | 1.0 | 4.4 | $20.37^{A}$ |
| | 1.5 | 4.4 | $24.47^{C}$ |
| | 2.0 | 4.5 | $26.62^{D}$ |

Means within each row sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)




ภาพที่ 7 ผลของโลหะอิออนต่อการบำบัดและกำจัดสีของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์โดย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ หลังจาก 12 วันบนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30°ซ

Figure 7 Effect of metal ions on COD and color removal from a decanter effluent with addition of 0.05% urea by immobilized *L. srtigisus* ST-S-3 after 12 days cultivation on a shaker (200 rpm) at 30˚C

แม้ว่าการเติมเหล็กอิออนที่ความเข้มข้น 1.0-1.5 ppm มีผลเพิ่มการเจริญของเส้นใย แต่ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดี ทั้งยังมีผลเสียต่อประสิทธิภาพการลดค่าสีในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ แสดงว่าการมีเหล็กในน้ำทิ้งเริ่มต้นในปริมาณที่สูง (66.4 มิลลิกรัมต่อลิตร, ในตารางที่ 6) เพียงพอที่เชื้อสามารถใช้สร้างเอนไซม์หรือเพื่อการเจริญของเส้นใย ดังนั้นการเติมเหล็กอิออนลงไปอีกจึงทำให้ประสิทธิภาพการบำบัดและกำจัดสีของน้ำทิ้งลดลงจากการขัดขวางกิจกรรมการบำบัดของเชื้อ

**2.2.3 ผลของแมงกานีสอิออน**

แมงกานีสมีผลกระตุ้นการผลิตเอนไซม์แลคเคสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสี จากการทดลองบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ด้วยเส้นใยเห็ด *L. strigosus* ST-S-3ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ เติมยูเรียร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเติมแมงกานีสซัลเฟต ให้มีความเข้มข้นของแมงกานีสอิออนที่เติมเป็น 0, 1.0, 1.5 และ 2.0 ppm (ตารางที่ 12) พบว่าทุกความเข้มข้นแมงกานีสอิออน พีเอชสุดท้ายหลังการบำบัด 12 วันมีค่าเปลี่ยนแปลงจากพีเอชเริ่มต้น (พีเอช 4.5) น้อยมาก (4.4-4.5) การเจริญของเส้นใยไม่แตกต่างระหว่างเติมและไม่เติมโลหะแมงกานีส ประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดีสูงสุด (ร้อยละ 61.25) ที่แมงกานีสอิออนความเข้มข้น 1.0 ppm ซึ่งสูงไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่เติมแมงกานีสอิออน (ร้อยละ 61.66) ส่วนการลดสี (ภาพที่ 6) พบว่า การเติมแมงกานีสอิออนความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 ppm ค่าสีลดลงไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 19.09 และ 20.58 ตามลำดับ) แต่ต่ำกว่าชุดควบคุมที่ไม่เติมอิออนโลหะ (ร้อยละ 41.53)

Buswell และคณะ (1995) รายงานว่าการเติมแมงกานีสในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการผลิตเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (Mn-peroxidase) ของเห็ดหอม (*L. edodes* strain L54) ความเข้มข้นของเอนไซม์สูงสุดในการเลี้ยงที่มีการเติมแมงกานีสเข้มข้น 1.1 ppm แต่จากการทดลองนี้การเติมแมงกานีสอิออนที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1.0-2.0 ppm) ไม่มีผลต่อการเจริญ แต่กลับมีผลเสียต่อประสิทธิภาพการลดสีและซีโอดีของ *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึง มีรายงานว่าแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสและแลคเคสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสีถูกกระตุ้นในภาวะที่มี $Mn^{2+}$ (Fu *et al*., 1997 ; Steffen *et al*., 2000) แต่ในการทดลองนี้กลับพบว่าการเติมแมงกานีสอิออนมีผลเสียต่อการลดสีในน้ำทิ้ง อาจเนื่องจากในน้ำทิ้งมีแมงกานีสอยู่แล้วบางส่วน (ตารางที่ 6) การเติมแมงกานีสเพิ่มเข้าไปอาจมีผลกดกิจกรรมของการสร้างหรือทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการลดสี

จากผลการทดลองข้างต้นเมื่อเปรียบเทียบผลการบำบัดและกำจัดสีของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์สำหรับชุดการทดลองที่มีการเติมโลหะ และไม่มีการเติมโลหะ พบว่าชุดควบคุม (ไม่เติมโลหะอิออน) มีประสิทธิภาพการลดซีโอดีสูงสุด (ร้อยละ 63.1) และลดค่าสีได้สูงสุด (ร้อยละ 41.53) การ

เติมโลหะอิออนทั้ง 3 ชนิดมีผลลดประสิทธิภาพการลดสีในน้ำทิ้งของเส้นใย โดยโลหะอิออนที่มีผลเสียต่อการลดสีมากที่สุดคือ แมงกานีสอิออน รองลงมาคือ เหล็กอิออนและคอปเปอร์อิออนตามลำดับ แต่มีผลเสียต่อการลดค่าซีโอดี (ร้อยละ 57.5-58.75 สำหรับ แมงกานีสอิออน ร้อยละ 60.0-61.25 สำหรับ เหล็กอิออนและ ร้อยละ 59.38-60.50 สำหรับ คอปเปอร์อิออน) เพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึงเลือกสภาวะที่เหมาะสมคือไม่เติมอิออนโลหะทั้ง 3 ชนิด

**2.3 ผลของพีเอชเริ่มต้น**

ปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการเจริญและสีของน้ำทิ้งคือพีเอช จากการทดลองบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ด้วยเส้นใยเห็ด *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ เติมยูเรียร้อยละ 0.05 และปรับพีเอชเริ่มต้นให้มีค่าเท่ากับ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 และ 6.0 โดยใช้พีเอชเดิมของน้ำทิ้ง (พีเอช 4.5) เป็นชุดเปรียบเทียบ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 14 พบว่าการทดลองที่มีพีเอชเริ่มต้นเป็น 3 และ 4 พีเอชสุดท้ายมีค่าลดลงเล็กน้อย เนื่องจากเส้นใยมีการเจริญมีการเจริญน้อยมากๆ จนถือได้ว่าเส้นใยไม่เจริญ แสดงว่าที่พีเอช 3-4 มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ สำหรับในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ไม่ปรับพีเอช และที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 5, 6, และ 7 พบว่าพีเอชสุดท้ายมีค่าสูงถึง 8.4 และการเจริญของเส้นใยไม่แตกต่างกันเช่นเดียวกับ การเจริญของ *Geotrichum* sp. *Aspergillus* sp. และ *Candida tropicalis* ในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก การที่น้ำทิ้งมีพีเอชสูงขึ้น เนื่องจากเชื้อใช้กรดอินทรีย์ในน้ำทิ้ง (Fadil *et al*., 2003) พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญคือพีเอช 4.5 (พีเอชของน้ำทิ้ง) ถึงพีเอช 7 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกับการทดลองของ วสันณ์ เพชรรัตน์ (2538b) ซึ่งพบว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของ เห็ดหูกวาง (*L. strigosus*) อยู่ในช่วง 5 - 9 และเจริญดีที่สุดที่ พีเอช 6 น้ำทิ้งที่ไม่ปรับพีเอช (พีเอชเริ่มต้น 4.5) มีค่าการลดซีโอดีสูงสุดร้อยละ 61.66 ซึ่งไม่แตกต่างกับน้ำทิ้งที่ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงค่าสีในน้ำทิ้ง (ภาพที่ 8) พบว่าน้ำทิ้งที่ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3 และ 4 ซึ่งมีค่าสีเริ่มต้นต่ำกว่าสีเริ่มต้นของชุดควบคุม (พีเอชต่ำทำให้สีของน้ำทิ้งจางลง) และสีของน้ำทิ้งมีค่าคงที่ตลอด 12 วัน ส่วนน้ำทิ้งที่ไม่ปรับพีเอช (พีเอช 4.5) พบการลดสีหลังจากวันที่ 3 ของการเลี้ยงเส้นใยและลดลงเรื่อยๆ กระทั่งคงที่วันที่ 9-12 สำหรับน้ำทิ้งที่ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 5 - 7 สีเริ่มต้นของน้ำทิ้งสูงขึ้นตามพีเอชที่ปรับเพิ่มขึ้น และตลอด 12 วันของการเลี้ยงเส้นใย การเปลี่ยนแปลงสีของน้ำทิ้งมีรูปแบบที่ใกล้เคียงกัน คือ สีของน้ำทิ้งลดลงระยะหนึ่งก่อนที่จะเพิ่มขึ้นและลดลงอีกครั้ง ซึ่งพบว่าในน้ำทิ้งที่ปรับพีเอชเป็น 5 สีของน้ำทิ้งลดลงในวันที่ 3 แล้วจึงเพิ่มขึ้นในวันที่ 6 หลังจากนั้นมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ น้ำทิ้งที่ปรับพีเอชเป็น 6 สีของน้ำทิ้งลดลงถึงวันที่ 6 แล้วจึงปรับเพิ่มขึ้นหลังจากวันที่ 9 เช่นเดียวกับน้ำทิ้งพีเอชเป็น 7 สีของน้ำทิ้งลดลงจนถึงวันที่ 9 หลังจากนี้ สี

ของน้ำทิ้งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น สังเกตว่าน้ำทิ้งที่ปรับเริ่มต้นพีเอชเป็น พีเอช 5.0 มีช่วงการลดสี (ในช่วงแรกของการลดสี) สั้นกว่าที่พีเอช 6 และ 7 ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ

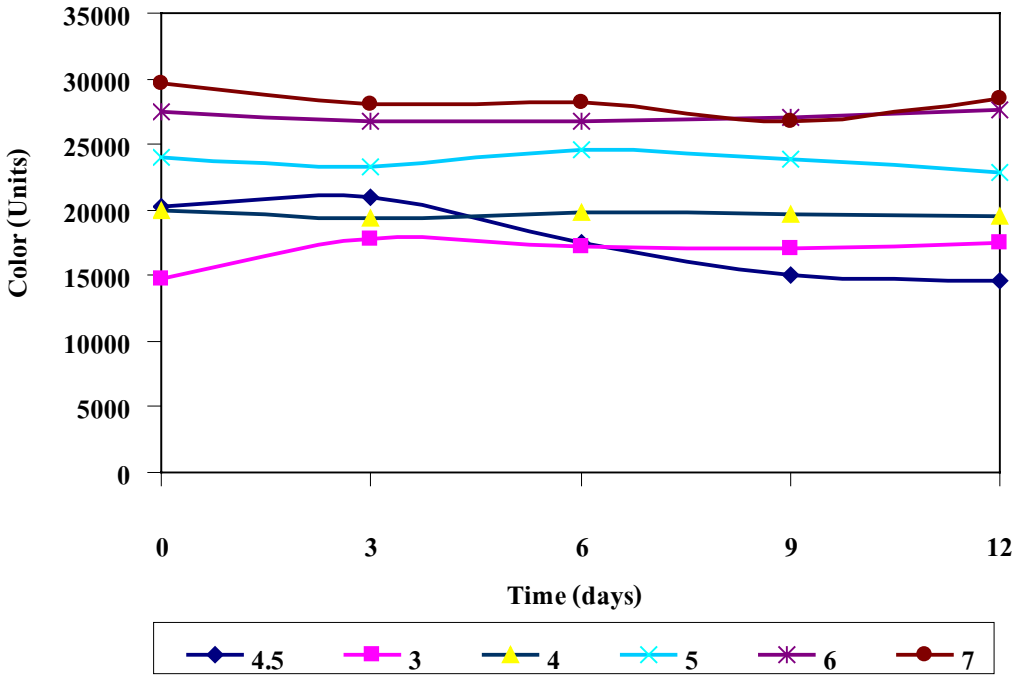
ตารางที่ 14 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่มีการเติมยูเรียร้อยละ 0.05 โดย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ หลังจาก 12 วันบนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30°ซ

Table 14 Effect of initial pH on treatment of decanter effluent with addition of 0.05% urea from a palm oil mill by immobilized *L. strigosus* ST-S-3 after 12 days cultivation on a shaker (200 rpm) at 30°C.

| Initial pH | Final pH | Mycelia dry weight (g/l) | COD removal (%) |
|---|---|---|---|
| 3.0 | 3.3 | $2.24^{A}$ | $4.54^{A}$ |
| 4.0 | 4.0 | $5.70^{A}$ | $2.53^{A}$ |
| 4.5* | 8.7 | $21.83^{C}$ | $61.66^{C}$ |
| 5.0 | 8.2 | $24.51^{C}$ | $51.59^{B}$ |
| 6.0 | 8.4 | $25.22^{C}$ | $57.41^{C}$ |
| 7.0 | 8.4 | $21.29^{B}$ | $58.54^{C}$ |

* Control is initial pH of the effluent

Means within each row sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)




ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงสีของน้ำทิ้งระหว่างการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่มีการเติมยูเรียร้อยละ 0.05 โดย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำหลังการเลี้ยงเชื้อ 12 วันบนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30°ซ ที่พีเอชเริ่มต้นของน้ำทิ้งระหว่าง 3-7

Figure 8 Time course of color during treatment of a decanter effluent with addition of 0.05% urea by immobilized *L. srtigisus* ST-S-3 on a shaker (200 rpm) at 30°C initial pH 3-7 for 12 days

Dias และคณะ (2004) ซึ่งพบว่าการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก (ความเข้มข้นน้ำทิ้งร้อยละ 20) ด้วย Basidiomycete Euc-1 สีของน้ำทิ้งลดลงในวันที่ 3 แล้วจึงเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 12 (สูงกว่าค่าสีของน้ำทิ้งเริ่มต้น) หลังจากนี้จึงลดลงอย่างรวดเร็วแล้วจึงค่อยๆ ลดลงอย่างคงที่หลังจากวันที่ 21 การที่สีของน้ำทิ้งลดลงในช่วงแรกเป็นเพราะการใช้สารอาหารในน้ำทิ้งเพื่อการเจริญทำให้ความเข้มข้นของสีในน้ำทิ้งลดลง แต่ในช่วงที่สีของน้ำทิ้งเพิ่มขึ้นเกิดจากการออกซิเดชั่น (Thurston , 1994 อ้างโดย Dias *et al*., 2004) และปฏิกิริยาต่อสายโพลิเมอร์สารสีจากสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในน้ำทิ้ง (Sayadi *et al*., 2000) หลังจากนั้นจะเกิดการสะสมเอนไซม์ที่จำเป็นเช่น แลคเคสมากพอจึงเกิดการลดสีอีกครั้ง (Dias *et al*., 2004)

การทีค่าสีต่ำเมื่อน้ำทิ้งมีพีเอชต่ำ (พีเอช 3-4) และมีค่าสีเพิ่มขึ้นเมื่อน้ำทิ้งมีพีเอชเริ่มต้นสูงขึ้น (พีเอช 5-7) เนื่องจากผลจาการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ปรับพีเอช ซึ่งผลการทดลองของโสภา จันทภาโส (2542) พบว่าการปรับพีเอชด้วยสารเคมีที่มีประจุบวก 1 เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ก่อนการตกตะกอนด้วยสารเคมีอื่นๆ มีผลให้น้ำทิ้งดีแคนเตอร์มีสีเข้มขึ้น และเมื่อเส้นใยเจริญเมื่อเวลาผ่านไป น้ำทิ้งที่มีการปรับพีเอช มีค่าสีของน้ำทิ้งสูงขึ้นน่าจะเกิดจากโซเดียมอิออนประจุบวก 1 เกิดปฏิกิริยากับสารที่ซับซ้อนอยู่แล้วในน้ำทิ้ง ซึ่งเกิดจากการเร่งปฏิกิริยาการให้ความร้อนและความดันสูง (การนึ่งฆ่าเชื้อ) ทำให้เกิดสารที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนยากต่อการที่เชื้อนำไปใช้ ส่งผลให้ชุดทดลองที่มีการปรับเพิ่มพีเอช มีค่าการลดซีโอดีต่ำกว่าชุดควบคุม ดังนั้นพีเอชที่เหมาะสมต่อการบำบัดและกำจัดสีของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์โดยเส้นใยเห็ด *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ คือ พีเอชเริ่มต้นของน้ำทิ้ง (พีเอช 4.5)

**2.4 ผลของอุณหภูมิ**

จากการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ด้วยเส้นใยเห็ด *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำและเติมยูเรียร้อยละ 0.05 โดยไม่ปรับพีเอชของน้ำทิ้ง บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30, 35, 40, 45 50 และ 55 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เส้นใยเจริญสูงสุด (44.62 กรัมต่อลิตร) (ตารางที่ 15) เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส รองลงมาที่ 30 องศาเซลเซียส (21.83 กรัมต่อลิตร) และยังคงเจริญที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (15.16 กรัมต่อลิตร) แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 - 55 องศาเซลเซียส การเจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ วสันณ์ เพชรรัตน์ (2538b) ที่รายงานว่าเส้นใยเห็ดหูกวาง (*L. strigosus*) สามารถเจริญได้ระหว่างช่วงอุณหภูมิ 25 - 35 องศาเซลเซียส และเจริญดีที่สุดที่ 35 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้เส้นใยเจริญน้อยและสามารถเจริญได้เล็กน้อย ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ขณะที่ ชริดา ปุกหุต และคณะ (2543) พบว่าเห็ด *Lentinus* spp. *L.polychrous , L. squarrosulus* และ *Lentinus* sp. ซึ่งเลี้ยงในอาหารพีดีเอ

ตารางที่ 15 ผลของอุณหภูมิระหว่างบ่มเลี้ยงต่อการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่มีการเติมยูเรียร้อยละ 0.05 โดย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ หลังการเลี้ยงเชื้อ 12 วันบนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30°ซ

Table 15 Effect of temperature on treatment of decanter effluent with addition of 0.05% urea by immobilized *L. strigosus* ST-S-3 after 12 days cultivation on a shaker (200 rpm) at 30°C.

| Temperature incubation (°C) | Final pH | Mycelia dry weight (g/l) | COD removal (%) |
|---|---|---|---|
| 30 | 8.7 | $21.83^{B}$ | $61.66^{D}$ |
| 35 | 4.4 | $44.62^{C}$ | $53.40^{B}$ |
| 40 | 5.6 | $15.16^{A}$ | $11.34^{A}$ |
| 45 | 4.3 | 0 | 0 |
| 50 | 4.3 | 0 | 0 |
| 55 | 4.3 | 0 | 0 |

Means within each row sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)

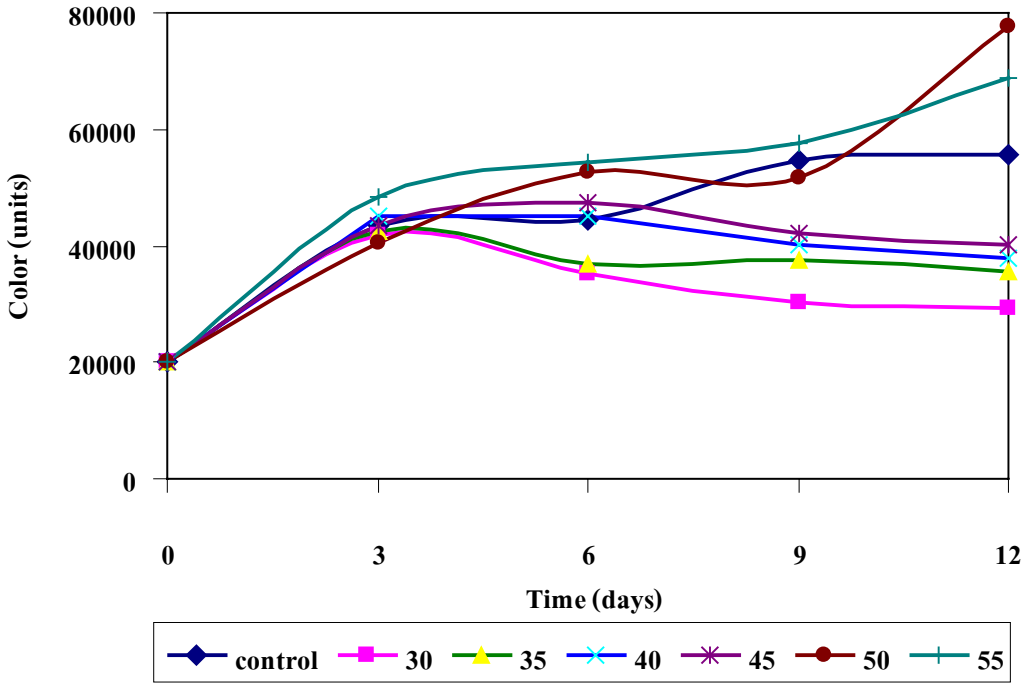
และพีดีบี เจริญได้ดีที่ 15, 20, 40 และ 45 องศาเซลเซียส จากการทดลองนี้แสดงว่าในสภาวะอาหารเหลวน้ำทิ้งที่อุณหภูมิสูง (สูงเท่ากับอุณหภูมิของการเลี้ยงที่ 45-55 องศาเซลเซียส) เส้นใยไม่สามารถปรับสภาพเพื่อเจริญได้ในสภาพกดดันทั้งจากการยับยั้งการเจริญจากองค์ประกอบในน้ำทิ้งร่วมกับอุณหภูมิสูง การเปลี่ยนแปลงค่าสีในน้ำทิ้งระหว่างการบำบัดแสดงในภาพที่ 9 พบว่าสีของน้ำทิ้งเข้มขึ้นแปรผันตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น ทั้งนี้เพราะอุณหภูมิที่สูงขึ้นมีส่วนในการเร่งปฏิกิริยาการเกิดสารสี เช่นเมลานอยดิน การทำปฏิกิริยาขององค์ประกอบในน้ำทิ้งเอง และจากสารที่เส้นใยผลิตขึ้นระหว่างการเจริญ รวมถึงสารที่ออกจากเส้นใยที่ตายแล้วในน้ำทิ้ง (เส้นใยไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส)

ดังนั้นจากผลการทดลองนี้ จะเห็นว่า *L. strigosus* ST-S-3 เจริญดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แต่มีประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดีและสีสูงสุดเมื่อบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ร่วมกับการเติมยูเรียร้อยละ 0.05

**2.5 ผลของระดับการให้อากาศ**

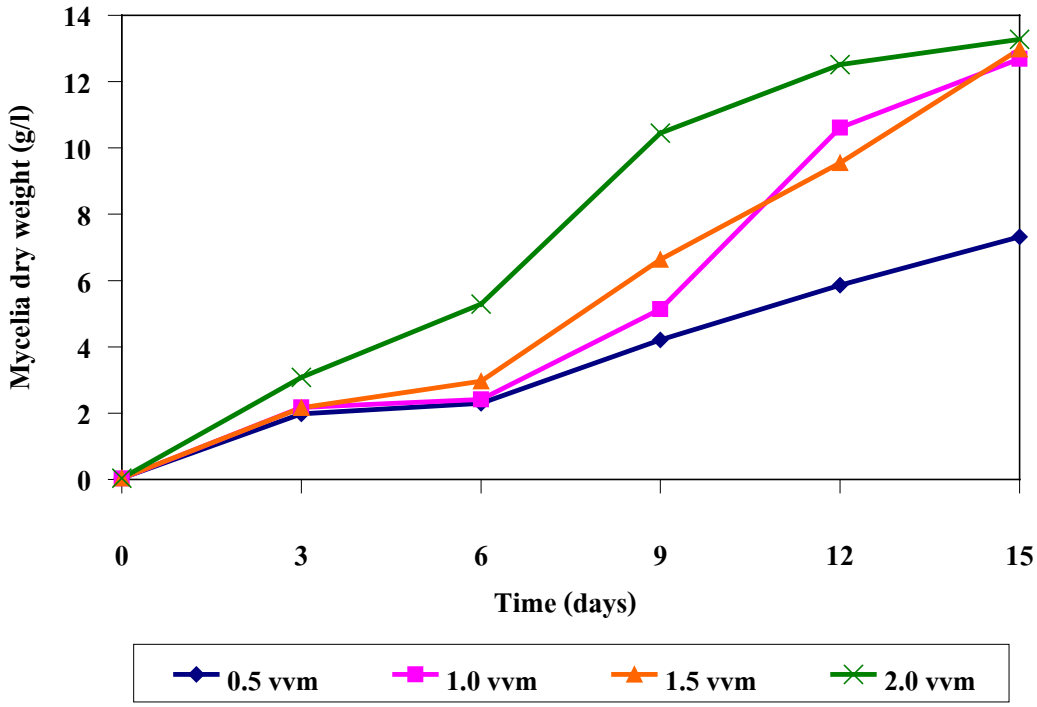
จากการทดสอบผลการให้อากาศในถังหมักแบบ air – lift ขนาด 3 ลิตร ปริมาตรใช้งานคือ 2.7 ลิตร สัดส่วนฟองน้ำ 1 ชิ้นต่อน้ำทิ้ง 5 มิลลิลิตร เปรียบเทียบระดับการให้อากาศในถังหมักที่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที (vvm) พบว่าการให้อากาศมีผลต่อการเจริญของเชื้อโดย *L. strigosus* ST-S-3 สามารถเจริญดีที่อัตราการให้อากาศ 1.0-2.0 vvm (ภาพที่ 10) ปริมาณเส้นใย ณ วันสุดท้ายของการบำบัดเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศในถังหมัก และมีค่าสูงสุด (13.28 กรัมต่อลิตร) เมื่อให้อากาศ 2.0 vvm พีเอชสุดท้ายของน้ำทิ้งสูงถึง 6.0 สำหรับอัตราการให้อากาศ 0.5 vvm พบว่าเส้นใยมีอัตราการเจริญต่ำที่สุด (เส้นใยวันที่ 15 เท่ากับ 7.32 กรัมต่อลิตร) ทำให้ลดค่าซีโอดีได้น้อยเพียงร้อยละ 26.19 และสีของน้ำทิ้ง (39,200 ยูนิต) มีค่าสูงกว่าสีเริ่มต้น (29,000 ยูนิต) แสดงว่าเส้นใยมีการเจริญไม่เพียงพอที่จะผลิตและสะสมเอนไซม์ไว้ในระบบได้มากพอที่จะเกิดขั้นตอนการลดสีในน้ำทิ้ง และสังเกตว่าในช่วง 0-6 วันอากาศยังคงเพียงพอ เนื่องจากการเจริญแตกต่างจากอัตราการให้อากาศอื่นๆ ไม่มากนัก แต่หลังจากวันที่ 6 มีเส้นใยในถังหมักมากขึ้นจึงเกิดสภาวะเครียดเนื่องจากอากาศไม่เพียงพอ ในวันที่ 6-15 เส้นใยจึงการเจริญเพิ่มขึ้นน้อยเมื่อเทียบกับอัตราการให้อาการอื่นๆ เช่นเดียวกับผลการให้อากาศในถังหมักแบบมีใบพัด (stirred-tank reactor) จากการเลี้ยง *Panus tigrinus* CBS ในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมะกอก ซึ่งให้อากาศ 0.5-1.0 vvm พบรูปแบบการเจริญในช่วง log phase ระหว่าง 3-6 วัน และการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศ (Fenice *et al*., 2003)

หากเปรียบเทียบผลระหว่างการบำบัดในฟลาสก์ (การทดลองข้อ 2.1.2) กับการบำบัดในถังหมักพบว่า ทุกระดับการให้อากาศ (ยกเว้นที่ระดับการให้อากาศ 1.0 vvm) ประสิทธิภาพการ




ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงสีของน้ำทิ้งระหว่างการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่มีการเติมยูเรียร้อยละ 0.05 โดย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ หลังการเลี้ยงเชื้อ 12 วันบนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) ที่ 30-55°ซ

Figure 9 Time course of decolorization during treatment of a decanter effluent with addition of 0.05% urea by immobilized *L. srtigisus* ST-S-3 cultivation on a shaker (200 rpm) at 30-55°C for 12 days




ภาพที่ 10 การเจริญของเส้นใย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่มีการเติมยูเรียร้อยละ 0.05 สภาวะถังหมักแบบ air - lift ที่ระดับการให้อากาศ 0.5-2.0 vvm อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 15 วัน

Figure 10 Growth of immobilized *L. srtigisus* ST-S-3 during treatment of a decanter effluent with addition of 0.05% urea in air-lift fermentor, aeration rate 0.5-2.0 vvm at 30°C for 15 days

ตารางที่ 16 ผลของระดับการให้อากาศในถังหมักแบบ air-lift ต่อการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่มีการเติมยูเรียร้อยละ 0.05 โดย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ หลังการเลี้ยงเชื้อ 15 วัน อุณหภูมิ 30°ซ ระดับการให้อากาศ 0.5-2.0 vvm

Table 16 Effect of aeration rate in air-lift fermentor on treatment of a decanter effluent with addition of 0.05% urea by immobilized *L. srtigisus* ST-S-3 after 15 days at 30°C, aeration rate 0.5-2.0 vvm

| Aeration rate (vvm) | Final pH | Color (Units) | Color removal (%)* | COD (mg/L) | COD removal (%) | Phenol removal (%) | Total solid removal (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.5 | 4.5 | 39,200 | $-34.40^{A}$ | 40,800 | $26.09^{A}$ | $59.54^{A}$ | $31.79^{A}$ |
| 1.0 | 6.0 | 14,167 | $51.15^{C}$ | 17,494 | $68.19^{C}$ | $62.68^{B}$ | $61.80^{C}$ |
| 1.5 | 5.0 | 26,150 | $9.83^{B}$ | 31,800 | $42.50^{B}$ | $62.99^{B}$ | $51.93^{B}$ |
| 2.0 | 5.3 | 26,042 | $10.20^{B}$ | 32,031 | $41.76^{B}$ | $63.02^{B}$ | $51.54^{B}$ |

*Negative color removal means the effluent is darker than the initial effluent

Means within each row sharing a common superscript are significantly different ($p<0.05$)

บำบัดและกำจัดสีของเส้นใยลดลง (ตารางที่ 16) ซึ่งเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะจากการเลี้ยงในฟลาสก์ซึ่งให้อากาศโดยการเขย่าเป็นการเลี้ยงในถังหมักให้อากาศและกวนด้วยฟองอากาศ พบว่า การลดสีน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ด้วยเส้นใย *L. strigosus* ST-S-3 ในวันแรกๆ ของการบำบัดสีของน้ำทิ้งจะเพิ่มขึ้นก่อน ซึ่งเป็นผลมาจากการผลิตสารบางชนิด เช่นเอนไซม์แลคเคส โดยมีรายงานว่าในช่วงต้นของการผลิตเอนไซม์แลคแคสทำให้สีของน้ำทิ้งเข้มขึ้น (Dias *et al*., 2004) และเกิดจากการเกิดสีของสารประกอบฟีนอลิกในน้ำทิ้งที่ถูกออกซิไดซ์ สารสีอีกส่วนอาจเกิดจากการออกซิไดซ์ระหว่างองค์ประกอบในน้ำทิ้งกับอากาศ (Assas *et al*., 2002) จากการให้อากาศ ต่อจากนั้นสีของน้ำทิ้งจะค่อยๆ ลดลง ในช่วงนี้เกิดการลดสีเนื่องจากเส้นใยมีการเตรียมพร้อมและปรับตัวกับสภาวะในน้ำทิ้งแล้ว และมีการสะสมเอนไซม์ เช่น แลคเคส แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส ลิกนินเปอร์ออกซิเดส จนอยู่ในระดับที่เกิดกิจกรรมการลดสีได้แล้ว Dias และคณะ (2004) พบว่าการลดสีและการผลิตเอนไซม์แลคเคสมีความสัมพันธ์ต่อกัน และการลดสีในน้ำทิ้งจะเกิดขึ้นเมื่อมีปริมาณเอนไซม์แลคเคสสะสมในอาหารแล้วสีของน้ำทิ้งจึงค่อยๆ ลดลง ที่ระดับการให้อากาศ 1.5และ 2.0 vvm แม้เส้นใยมีการเจริญดี แต่พบการลดสีในน้ำทิ้งเพียงร้อยละ 9.8 และ 10.2 ซึ่งเกิดจากเซลล์บางส่วนอาจจะตายและปล่อยสารที่เก็บกักไว้ออกมาในน้ำทิ้งอีก ซึ่งสังเกตจากการที่วันหลังๆ ของการเลี้ยง (วันที่ 12-15) เส้นใยมีการเจริญหนาแน่น และเกาะกันเป็นก้อนขัดขวางการไหลวนของน้ำทิ้งใน ถังหมัก เส้นใยส่วนหนึ่งจึงกองอยู่ที่ด้านข้างถังหมัก เป็นจุดสะสมของตะกอนในน้ำทิ้ง สารอาหารและเส้นใย ทำให้รับการบำบัดไม่ทั่วถึง (เส้นใยและตะกอนน้ำทิ้งบางส่วนกองอยู่ก้นถังหมัก ตะกอนส่วนนี้จึงไม่ได้รับการบำบัด) และจากการทดสอบการสะสมของสีในเส้นใยโดยการล้างเส้นใยด้วยน้ำกลั่น แล้วนำน้ำล้างเส้นใยไปวัดค่าสีและซีโอดี พบว่าสีและสารอินทรีย์ส่วนหนึ่งมีการสะสมอยู่ในเส้นใย ดังนั้น อัตราการให้อากาศสูง (1.5 - 2.0 vvm) ที่เส้นใยเจริญจนเกิดการกองของเส้นใยที่ก้นถังหมักอย่างรวดเร็ว มีผลลดประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ในถังหมักแบบ air-lift ซึ่งเป็นระบบที่ใช้อากาศเป็นตัวกวนผสมมีการให้อากาศ 1.0 vvm แก่เส้นใย ทำให้เกิดประสิทธิภาพการบำบัดและกำจัดสีได้สูงอาจเป็นเพราะมีการให้อากาศที่เพียงพอต่อการกระตุ้น เส้นใยให้เจริญในระดับที่เหมาะสม กับความเข้มข้นของซีโอดีในน้ำทิ้ง และระบบการกวนผสมใน ถังหมักแบบ air-lift

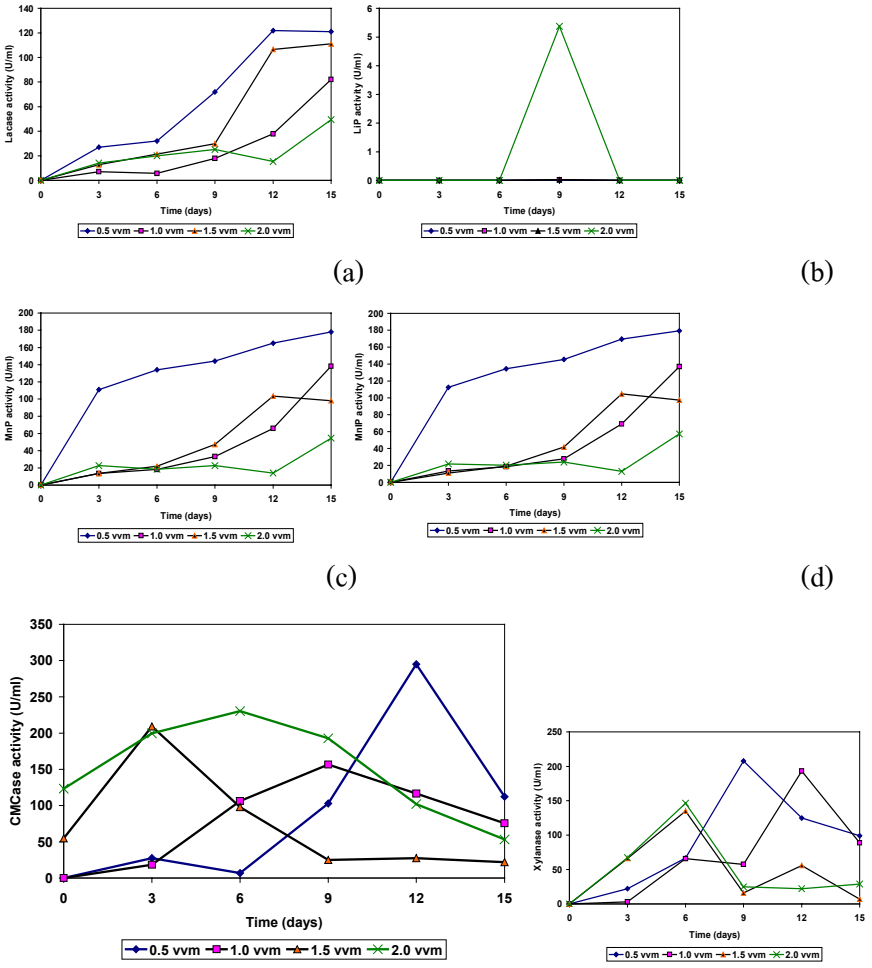
ดังนั้นจึงเลือกบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ใน air-lift ด้วยเส้นใย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึง เติมสารอาหารยูเรียร้อยละ 0.05 และอัตราการให้อากาศ 1.0 vvm เป็นเวลา 15 วัน ซึ่งการให้อากาศอัตรานี้ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดและกำจัดสีได้สูงสุดร้อยละ 68.19 และ 51.15 ตามลำดับ ก่อนนำน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดไปทดสอบการเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดโดยการตกตะกอนด้วยสารเคมีต่อไป

**3. ชนิดของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสีของน้ำทิ้ง**

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ที่อาจเกี่ยวข้องกับการกำจัดสี ได้แก่ CMCase, ไซลาเนส, แลคเคส, แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (MnP, MnIP) และลิกนินเปอร์ออกซิเดส (LiP) ระหว่างการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ด้วยเส้นใย *L. strigosus* ST-S-3 ในถังหมักแบบ air-lift ขนาด 3 ลิตร ปริมาตรใช้งานคือ 2.7 ลิตร สัดส่วนชิ้นฟองน้ำ 1 ชิ้นต่อน้ำทิ้ง 5 มิลลิลิตร ที่ระดับการให้อากาศ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที (vvm) พบว่าเชื้อสร้างเอนไซม์แลคเคส และแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสทั้งสองชนิดควบคู่กับการเจริญของเส้นใย และเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 11) ในวันที่ 15หลังการเลี้ยงเชื้อเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดยังมีแนวโน้มสูงขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ Aggelis และคณะ (2003) ที่ผลิตเอนไซม์แลคเคสจากการเลี้ยง *P. ostreatus* (เห็ดนางรม) ในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก พบกิจกรรมของเอนไซม์เกิดควบคู่ไปกับการเจริญ และมีการผลิตเอนไซม์แลคเคสสูงสุดระหว่าง 180 - 270 ชั่วโมง (8 - 11 วัน) หลังจากนี้กิจกรรมของเอนไซม์ค่อยๆ ลดลง จึงสรุปว่าเอนไซม์แลคเคสจาก *P. ostreatus* เป็นสารเมทาบอลิกที่ควบคู่การเจริญ (primary metabolic growth) เช่นเดียวกับกับ Fenice และคณะ (2003) ที่พบว่าเอนไซม์แลคเคสจาก *P. trigrinus* ผลิตควบคู่กับการเจริญของเส้นใย

ระดับการให้อากาศและรูปแบบการให้อากาศในถังหมักมีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ซึ่งจากภาพที่ 11 (a), เอนไซม์แลคเคส (ภาพที่ 11 (a)) และแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (ภาพที่ 11 (c และd)) กิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด เพิ่มขึ้นอย่างรวดร็วแล้วจึงมีแนวโน้มคงที่ สำหรับระดับการให้อากาศ 0.5 และ 1.5 vvm กิจกรรมเอนไซม์สูงสุดที่ระดับการให้อากาศ 0.5 vvm ขณะที่ระดับการให้อากาศ 1.0 และ 2.0 vvm เอนไซม์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นต่อหลังจากวันที่ 15 สอดคล้องกับผลการทดลองของ Fenice และคณะ (2003) เลี้ยง *Panus tigrinus* ในถังหมักแบบ stirred - tank ให้อากาศ 0.5, 1.0 และ 1.5 vvm พบว่าเอนไซม์แลคเคสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส จากระดับอากาศ 1.0 vvm เพิ่มอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 5-7 ซึ่งช้ากว่าอีก 2 ระดับการให้อากาศ แต่มีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิดสูงสุด

ในสภาวะที่มีการให้อากาศต่ำ 0.5 vvm พบกิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (ภาพที่ 11 (a)) และแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (ภาพที่ 11 (c และ d)) ในระดับที่สูงสุด และมีกิจกรรมแมงกานีสเปอร์-ออกซิเดสสูงกว่าแลคเคส (ต่างกับอัตราการให้อากาศอื่นๆ ที่พบการลดสี มีกิจกรรมแลคเคสสูงกว่าแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส) กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสมีอัตราการเพิ่มสูงสุดระหว่าง 6 - 12 วัน และสูงสุด 122 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 12 และลดลงเล็กน้อยในวันที่ 15 ส่วนแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (MnP และ MnIP) กิจกรรมเอนไซม์เพิ่มอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 และมีแน้วโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ กระทั่งสูงสุด 178 และ 179.25 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 15 ของการเลี้ยงเชื้อ กิจกรรม




ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ (a) แลคเคส (b) LiP (c) MnP (d) MnIP (e) CMCase และ (f) ไซลาเนส ระหว่างการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เติมยูเรียร้อยละ 0.05 โดย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ ในถังหมัก air - lift ที่ระดับการให้อากาศ 0.5-2.0 vvm 30°ซ เป็นเวลา 15 วัน

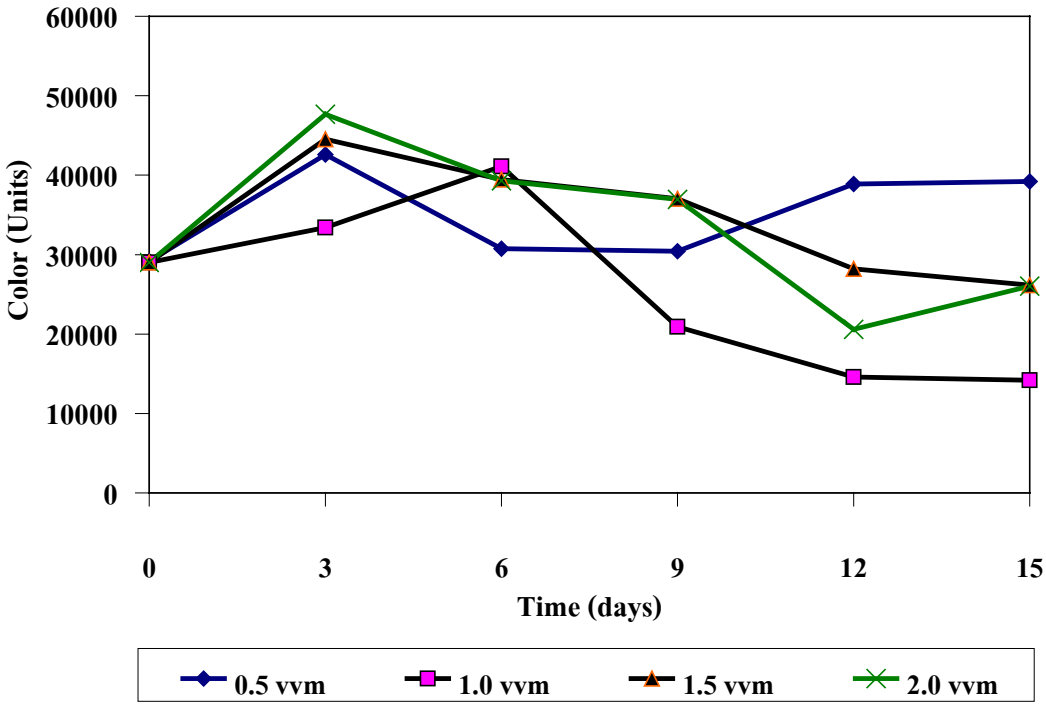
Figure 11 Time course of ligninolitic activity: (a) laccase (b) LiP (c) MnP (d) MnIP (e) CMCase and (f) xylanase during treatment of a decanter effluent with addition of 0.05% urea by immobilized *L. srtigisus* ST-S-3 cultivation in air-lift fermentor at aeration rate 0.5-2.0 vvm, 30°C for 15 days.

CMCase และ ไซแลนเนส เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในช่วง 0 - 6 และสูงสุด 294.92 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สำหรับ CMCase ใน วันที่ 12 และ 208.0 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สำหรับไซลาเนสในวันที่ 9 เมื่อพิจารณาสีของ น้ำทิ้งเพิ่มขึ้นในวันที่ 3 เช่นเดียวกับที่ระดับการให้อากาศ 1.5 และ 2.0 vvm แล้วลดลงในช่วงวันที่ 6-9 วัน แต่สีของน้ำทิ้งกลับเพิ่มขึ้นหลังวันที่ 9-15 การเปลี่ยนแปลงค่าสีดังกล่าวอาจเป็นผล

ของการมีเอนไซม์ในระบบมากจนทำให้เกิดการเปลี่ยนสมดุลปฏิกิริยาผันกลับนำเอาสารโมเลกุลขนาดเล็ก สายสั้น เกิดปฏิกิริยาต่อสายโพลิเมอร์เป็นสารสีละลายน้ำ (Sayadi *et al*., 2000) ทั้งนี้เพราะเอนไซม์ กลุ่มแลคเคสและเปอร์ออกซิเดสเร่งได้ทั้งปฏิกิริยาตัดและต่อสายโพลิเมอร์ทั้งยังมีความจำเพาะต่อสับสเตรตต่ำ จึงเกิดปฏิกิริยากับสับสเตรตที่เกิดในน้ำทิ้งได้หลากหลาย นอกจากนี้อาจเป็นผลจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นขององค์ประกอบในน้ำทิ้งที่ทำให้สีเข้มขึ้น (Thurston , 1994 อ้างโดย Dias *et al*., 2004) รายงานการทดลองที่ขัดแย้งกันซึ่งพบว่าการมีเอนไซม์ในระบบมากอาจเกิดปฏิกิริยาตัดสายโมเลกุลโพลิเมอร์ในน้ำทิ้ง แต่ไม่มีผลลดสีในน้ำทิ้งได้ ซึ่ง D'Annibale และคณะ (1998) ทดลองใช้ซ้ำเส้นใย *L. edodes* ที่ถูกตรึงฟองน้ำบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก รอบที่ 2 และ 3 (รอบละ 8 วัน) ประสิทธิภาพการลดสีน้ำทิ้งในรอบที่ 2 ลดลงจากรอบที่ 1 เล็กน้อย แต่ประสิทธิภาพการลดสีกลับลดลงมากในรอบที่ 3 ซึ่งช่วงปลายรอบที่ 2 และรอบที่ 3 เป็นช่วงที่มีปฏิกิริยาการตัดสายโพลิเมอร์ที่ละลายน้ำน้ำหนักโมเลกุลสูง และเริ่มกระตุ้นการผลิตเอนไซม์แลคเคสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส แต่ไม่เพิ่มการลดสี และพบว่าการสะสมของกรดออกซาลิกซึ่งเป็นสารเมทาบอไลท์ขั้นที่ 2 ที่พบทั่วไปจากราไวท์รอทให้ผลดีต่อการบำบัดน้ำทิ้ง

ระดับการให้อากาศ 1.0 vvm เอนไซม์แลคเคส (ภาพที่ 11 (a)) และแมงกานีสเปอร์-ออกซิเดส (ภาพที่ (c และ d)) มีแนวโน้มเดียวกันคือเพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้น กิจกรรมเอนไซม์ CMCase สูงสุด (156.61 ยูนิตต่อมิลลิลตร) ในวันที่ 9 ส่วนไซลาเนสสูงสุด (193.00 ยูนิตต่อมิลลิลตร) ในวันที่ 12 ของการเลี้ยงเชื้อ สีของน้ำทิ้งที่ระดับการให้อากาศนี้ (ภาพที่ 13) สามารถลดสีได้สูงสุดเมื่อเทียบกับระดับการให้อากาศอื่นๆ โดยสีของน้ำทิ้งสูงขึ้นในวันที่ 0 - 6 ซึ่งเป็นช่วงที่พบกิจกรรมเอนไซม์แลคเคส (ภาพที่ 11 (a)) และแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (ภาพที่ (c และ d)) ปริมาณน้อย การลดสีเริ่มหลังจากวันที่ 6 และการลดสีเริ่มคงที่ในวันที่ 12 - 15 ซึ่งช่วงนี้เอนไซม์แลคเคสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสกำลังเริ่มสูงขึ้น ซึ่งในช่วงที่สีของน้ำทิ้งเพิ่มขึ้นเกิดจากการปฏิกิริยาการต่อสายโพลิเมอร์สารสีจากสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในน้ำทิ้ง (Sayadi *et al*., 2000) และจากการออกซิไดซ์ขององค์ประกอบในน้ำทิ้งกับอากาศ (Assas *et al*., 2002) หลังจากนั้นจะเกิดการสะสมเอนไซม์ที่จำเป็นเช่น แลคเคสในระบบมากพอจึงเกิดการลดสีอีกครั้ง (Dias *et al*., 2004)

สำหรับระดับการให้อากาศ 1.5 vvm ในวันที่ 12 - 15 พบกิจกรรมเอนไซม์แลคเคสสูงใกล้เคียงกับระดับการให้อากาศ 0.5 vvm แต่พบกิจกรรมแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในระดับที่



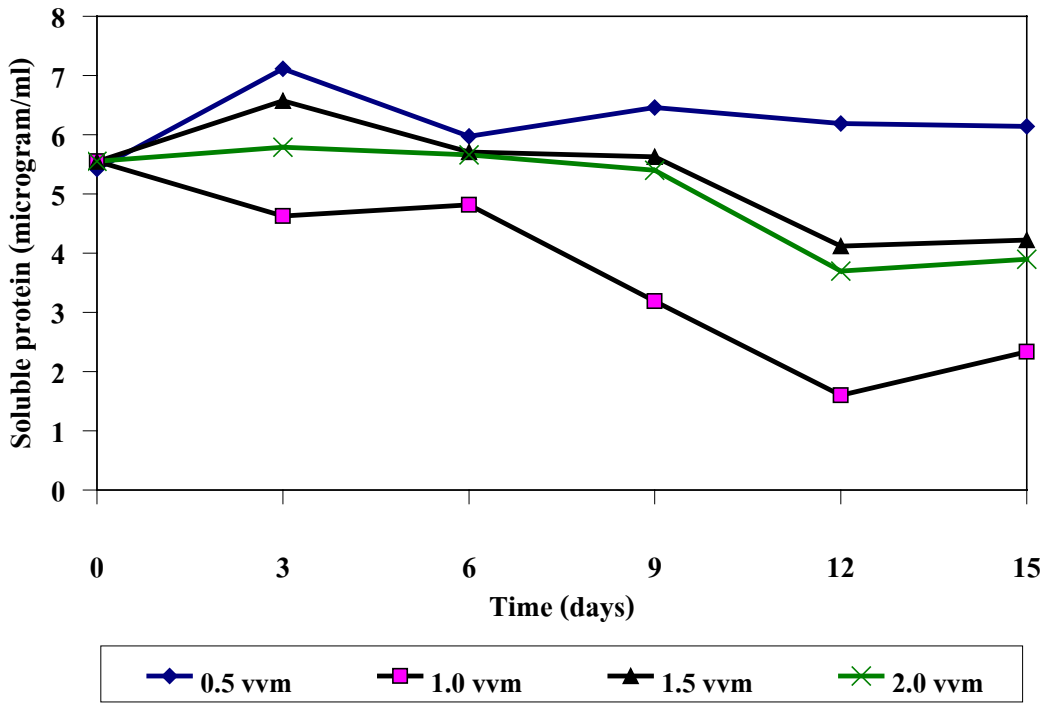

ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงค่าสีระหว่างการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เติมยูเรียร้อยละ 0.05 โดย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ ในถังหมัก air- lift ที่ระดับการให้อากาศ 0.5-2.0 vvm 30°ซ เป็นเวลา 15 วัน

Figure 12 Time course of color during during treatment of decanter effluent with addition of 0.05% urea by immobilized *L. srtigisus* ST-S-3 cultivated in air-lift fermentor at aeration rate 0.5-2.0 vvm, 30°C for 15 days.

ใกล้เคียงกับระดับการให้อากาศ 1.0 vvm ส่วนกิจกรรม CMCase สูงสุด (209.19 ยูนิตต่อมิลลิลตร) ในวันที่ 3 หลังจากนั้นลดลงเรื่อยๆ ขณะที่ไซลาเนสสูงสุด (135 ยูนิตต่อมิลลิลตร) ในวันที่ 6 สภาวะที่มีระดับการให้อากาศ 2.0 vvm พบกิจกรรมเอนไซม์แลคเคสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสในระดับต่ำที่สุด และพบกิจกรรม CMCase สูงสุด (203.22 ยูนิตต่อมิลลิลตร) ในวันที่ 6 หลังจากนั้นลดลง ขณะที่ไซลาเนสสูงสุด (146.00 ยูนิตต่อมิลลิลตร) ในวันที่ 6 จากผลการทดลองกิจกรรม CMcase และไซลาเนสช่วงวันที่ 9-15 ของระดับการให้อากาศ 1.5 และ 2.0 vvm มีแนวโน้มและค่าใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาค่าสีพบว่าแนวโน้มของทั้ง 2 ระดับการให้อากาศใกล้เคียงกัน

เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส เป็นเอนไซม์ที่พบในวันที่ 9 ของระดับอากาศ 2.0 vvm (ภาพที่ 11 (b)) และพบในปริมาณที่ต่ำกว่าเอนไซม์ชนิดอื่นๆ มาก แสดงว่าเชื้อ *L. strigosus* ST-S-3 มีการผลิตเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าที่ตรวจไม่พบนั้นจะไม่มีกิจกรรมลิกนินเปอร์ออกซิเดส เพราะเอนไซม์อาจมีน้อยจนตรวจวัดไม่ได้ด้วยวิธีนี้ ซึ่งผลเช่นนี้พบได้ในอื่นๆ ที่ไม่พบเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสเช่นกัน (Swammy and Ramsay, 1999 ; Rodri'quez *et al.*, 1999 ; D'Annibale *et al*., 1998) มีรายงานว่าอาจไม่สามารถพบกิจกรรมของลิกนินเปอร์ออกซิเดสแม้ว่าเชื้อจะมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ หรือมียีนที่เป็นยีนของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (D'souza *et al*., 1999) หรือเกิดการยับยั้งเอนไซม์จากองค์ประกอบโครงสร้างฟีนอลในน้ำทิ้ง โดยอาจยับยั้งการสังเคราะห์ mRNA ของลิกนินเปอร์ออกซิเดส การยับยั้งการหลั่งเอนไซม์ออกมานอกเซลล์เนื่องจากโพลีฟีนอลเกาะที่เส้นใย หรือการยับยั้งการทำงานของโครงสร้างเอนไซม์โดยตรง (Sayadi *et al*., 2000) นอกจากนี้พบว่าลิกนินเปอร์ออกซิเดสมีผลต่อการลดสี (Sayadi *et a l*, 2000 , Michel *et al*., 1991) น้อยกว่าเอนไซม์แลคเคส ซึ่งมีรายงานความสัมพันธ์ระหว่างการกำจัดสีกับเอนไซม์แลคเคส (Sayadi and Ellouz, 1995) เอนไซม์ CMCase และไซแลนเนส (ภาพที่ 11 (e) และ (f)) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แปรผันไม่มีแนวโน้มตามระดับการให้อากาศ ทั้งนี้อาจเป็นผลของการกระตุ้นโดยสับสเตรต หรือ ผลของการยับยั้งของผลิตภัณฑ์น้ำตาลในน้ำทิ้งซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการบำบัดในแต่ละระดับการให้อากาศต่างกัน

ปริมาณโปรตีนที่ละลายในน้ำทิ้งมีแนวโน้มลดลง (ภาพที่ 13) ทุกอัตราการให้อากาศยกเว้นอัตราอากาศ 0.5 vvm ซึ่งลดลงน้อยและคงที่ในวันหลังๆ และโปรตีนลดลงมากที่สุดเมื่อให้อากาศ 1.0 vvm ปริมาณโปรตีนที่ลดลงไม่มีความสัมพันธ์กับการผลิตเอนไซม์ เนื่องจากในระบบมีเอนไซม์หลายชนิดเกิดขึ้น ดังนั้นโปรตีนในน้ำทิ้งควรจะเพิ่มขึ้น แต่ในความเป็นจริงไม่เป็นอย่างนั้น จากผลการทดลองกลับพบว่าโปรตีนลดลง ซึ่งเป็นเพราะโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำทิ้งเดิมถูกใช้ไปโดยเชื้อ และการผลิตเอนไซม์ทำให้ปริมาณโปรตีนที่ละลายเพิ่มขึ้น แต่อาจเพิ่มได้น้อยกว่าการลดโดยการใช้ของ




ภาพที่ 13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนที่ละลายระหว่าง การบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เติมยูเรียร้อยละ 0.05 โดย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึงบนฟองน้ำ ในถังหมัก air- lift ที่ระดับการให้อากาศ 0.5-2.0 vvm 30°ซ เป็นเวลา 15 วัน

Figure 13 Time course of soluble protein during treatment of decanter effluent with addition of 0.05% urea by immobilized *L. srtigisus* ST-S-3 cultivated in air-lift fermentor at aeration rate 0.5-2.0 vvm, 30°C for 15 days.

เชื้อ แนวโน้มโปรตีนโดยรวมจึงลดลง โปรตีนจากการผลิตเอนไซม์อาจเพิ่มขึ้นและลดลงได้ตลอดขึ้นกับความคงตัวของเอนไซม์ในน้ำทิ้ง และสัดส่วนระหว่างการหลังโปรตีนออกมาในน้ำทิ้งและการนำโปรตีนในน้ำทิ้งเปลี่ยนเป็นเส้นใย (Kirkpatrick *et al.*, 1990)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างการลดสีและกิจกรรมของเอนไซม์ การทดลองที่มีการลดสีในน้ำทิ้งสูงสุดคือ เมื่อให้อากาศ 1.0 vvm กิจกรรม CMCase สูงสุด (156.61 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ในวันที่ 6 เอนไซม์ไซลาเนสเพิ่มตามเวลาและสูงสุด (193.00 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ในวันที่ 12 ส่วนเอนไซม์แลคเคส MnP และ MnIP กิจกรรมเพิ่มตามเวลาโดยไม่พบกิจกรรมสูงสุดระหว่างการทดลอง 15 วัน ซึ่งในวันที่ 15 ของการเลี้ยงเชื้อพบกิจกรรมเอนไซม์ CMCase ไซแลนเนส แลคเคส แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (MnP) แมงกานีสอินดีเพ็นเด้นเปอร์ออกซิเดส (MnIP) เท่ากับ 75.45, 89.00, 82.20, 138.18 และ 136.82 ตามลำดับ ดังนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ที่มีความสัมพันธ์กับการกำจัดสี คือ CMCase ซึ่งพบกิจกรรมเพิ่มขึ้นตามเวลาจนสูงสุดในวันที่ 9 หลังจากนั้นกิจกรรม CMCase เริ่มลดลงสัมพันธ์กับการกำจัดสี ซึ่งสีในน้ำทิ้งลดลงมากที่สุดวันที่ 9 หลังจากนี้การลดสีในน้ำทิ้งมีแนวโน้มที่จะคงที่ และดังที่กล่าวในข้างต้นเอนไซม์แลคเคส MnP และ MnIP เริ่มเพิ่มขึ้นในวันที่ 3-6 ขณะเดียวกันสีในน้ำทิ้งกำลังเพิ่มขึ้น และสูงสุดในวันที่ 6 หลังจากนั้นสีในน้ำทิ้งลดลง ซึ่งช่วงนี้เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดสะสมในน้ำทิ้งมากพอจนเกิดกิจกรรมการลดสีได้ เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Dias และคณะ (2004) พบความสัมพันธ์คล้ายคลึงกันนี้ระว่างแลคเคสกับการลดสีของน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันมะกอก ทั้งนี้จากผลการทดลองยังไม่อาจยืนยันได้แน่ชัดว่าเอนไซม์ตัวไหนเกี่ยวข้องกับการลดสีโดยตรง เพียงแต่เอนไซม์เหล่านี้เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายองค์ประกอบในน้ำทิ้งเพื่อให้เชื้อใช้อาหารได้ดีขึ้น และน่าจะเกี่ยวข้องกับปริมาณเอนไซม์ที่อยู่ในระบบซึ่งอาจเสริมหรือลดการลดลงของสีในน้ำทิ้งได้ซึ่ง Ruiz และคณะ (2002) พบว่าเอนไซม์แลคเคสจาก *P. flavido-alba* มีส่วนสำคัญต่อการกำจัดสี กำจัดฟีนอลและสารที่เป็นพิษ เนื่องจากคุณสมบัติที่สามารถย่อยสลายโมโนเมอริกอะโรมาติก และยังพบว่า การกำจัดสีจะเกิดเมื่อแลคเคส แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส และลิกนินเปอร์ออกซิเดสพบเอนไซม์บริเวณโดยรอบเส้นใย แต่สีจะเพิ่มขึ้นเมื่อพบแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเพียงชนิดเดียว

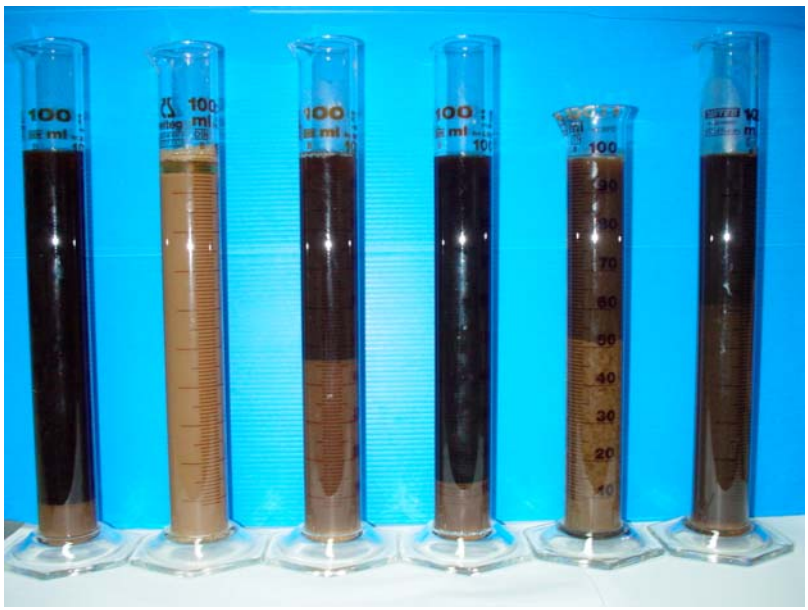
**4. ผลของการใช้สารเคมีช่วยตกตะกอน**

นำน้ำทิ้งหลังการบำบัดจากถังหมัก แบบ air - lift ที่มีการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที (vvm) ซึ่งกรองแยกเส้นใยออกแล้ว และน้ำทิ้งที่ไม่ผ่านการบำบัดเป็นชุดการทดลองเปรียบเทียบ เติมสารเคมี โพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร (ร้อยละ 1 โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ 10 กรัมต่อลิตร (ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)เกิดตะกอน

สีเหลืองอ่อน (ภาพที่ 14) ปริมาณมากถึงร้อยละ 95 (ตารางที่ 17) สารละลายส่วนใสด้านบนมีสีเหลืองอ่อน ค่าซีโอดีและหน่วยสีลดลงร้อยละ 60.30 และ 88.17 ตามลำดับ เมื่อทดลองลดปริมาณโพลีเฟอริกซัลเฟตกับแคลเซียมออกไซด์เป็นร้อยละ 0.5 และ 0.25 สารละลายส่วนใสด้านบนยังคงมีสีน้ำตาลแดงคล้ำอยู่ การลดค่าสีและซีโอดีลดลงเมื่อใช้สารเคมีตกตะกอนปริมาณน้อยลง แต่เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้สารเคมีช่วยตกตะกอนระหว่างน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพกับน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ พบว่าการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตกับแคลเซียมออกไซด์ร้อยละ 1 น้ำทิ้งที่ไม่ผ่านการบำบัดมีปริมาณตะกอนมากถึงร้อยละ 77 แต่สารละลายส่วนใสด้านบนกลับมีสีน้ำตาลคล้ำขึ้น ซีโอดีลดลงเพียงร้อยละ 23.71 แสดงว่าน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพก่อนสามารถตกตะกอนและลดสีรวมทั้งซีโอดีได้ง่ายกว่าในน้ำทิ้งเริ่มต้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Sarianuntapiboon และคณะ (1998) ที่กำจัดสีของน้ำเสียจากกากน้ำตาลโดยใช้ ระบบทางชีวภาพ คือ ระบบ Bi-Act SCBA ร่วมกับ วิธีการทางเคมีคือการใช้ $FeCl_2$, $Al_2(SO_4)$ และโซเดียม ไฮดรอกไซด์ น้ำที่ออกจากระบบบำบัดทางชีวภาพมีค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 44.0 ส่วนสีลดลงเพียงเล็กน้อย แต่น้ำเสียที่ผ่านกระบวนการบำบัดทางชีวภาพแล้วสามารถตกตะกอนด้วยสารเคมีได้ง่ายกว่าน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัด

การลดปริมาณสารเคมีช่วยตกตะกอนทำให้ประสิทธิภาพการบำบัดลดลง จึงแก้ไขโดยใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตกับแคลเซียมออกไซด์ร้อยละ 1 แต่แบ่งตกตะกอนเป็นสองขั้นตอนโดย การตกตะกอนน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพด้วยโพลีเฟอริกซัลเฟตกับแคลเซียมออกไซด์ร้อยละ 0.5 ก่อน แล้วจึงนำสารละลายส่วนใสไปตกตะกอนอีกครั้งด้วย โพลีเฟอริกซัลเฟตกับแคลเซียมออกไซด์ร้อยละ 0.5 อีกครั้ง พบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการลดสีในน้ำทิ้งได้ดีขึ้น เพราะกลไกการตกตะกอนน้ำทิ้งด้วยโพลีเฟอริกซัลเฟตเกิดจากอนุมูลเหล็กไฮดรอกไซด์จากการแตกตัวของโพลีเฟอริกซัลเฟตเข้าทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซิลอิออนในน้ำเกิดเป็นตะกอนเหล็กหลายชนิด เช่น ตะกอน $Fe(OH)_3$ เป็นต้น (ไสว โรจนศุภฤกษ์, 2537) กรณีของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์สุดท้ายหลังการบำบัดทางชีวภาพมีพีเอช 6.0 การเติมปูนขาว (CaO) เป็นการเพิ่มปริมาณไฮดรอกไซด์อิออนในน้ำทิ้ง (พีเอชสูงถึง 12.9) ทำให้เกิดการก่อตะกอน (เกิด floc) ได้ดีขึ้น สำหรับน้ำทิ้งที่ไม่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ ความเข้มข้นสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งสูงและพีเอชต่ำ (4.5) ปริมาณ ไฮดรอกไซด์อิออนจากการเติมปูนขาวลงไปถูกแย่งทำปฏิกิริยาด้วยอิออนในองค์ประกอบน้ำทิ้งการตกตะกอนจึงเกิดได้น้อยกว่าน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพก่อน ส่วนการแบ่งตกตะกอนด้วย โพลีเฟอริกซัลเฟตกับแคลเซียมออกไซด์ร้อยละ 0.5 จำนวน 2 ครั้ง ให้ผลการลดซีโอดีและสีดีกว่าการตกตะกอนด้วย โพลีเฟอริกซัลเฟตกับแคลเซียมออกไซด์ร้อยละ 1 เพียงครั้งเดียว เนื่องจากสารเคมีที่เติมลงไป

ในการตกตะกอนครั้งที่ 1 จะกำจัดสีและสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งส่วนหนึ่งออกไปก่อน ดังนั้นในตกตะกอนซ้ำ



**A** **B** **C** **D** **E** **F**

A: Decanter effluent after biological treatment for 15 days

B: Decanter effluent after biological treatment for 15 days + 1%polyferric sulfate+ 1%CaO

C: Decanter effluent after biological treatment for 15 days + 0.5%polyferric sulfate + 0.5%CaO

D: Decanter effluent after biological treatment for 15 days + 0.25%polyferric sulfate + 0.25%CaO

E: Decanter effluent

F: Decanter effluent + 1%polyferric sulfate + 1%CaO

ภาพที่ 14 การตกตะกอนน้ำทิ้งด้วยสารเคมี

Figure 14 Chemical sedimentation of decanter effluent

ตารางที่ 17 การลดซีโอดีและสีจากการใช้สารเคมีช่วยตกตะกอนโพลีเฟอริกซัลเฟตร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ใน A: น้ำทิ้งที่ไม่ผ่านการบำบัด และ B: น้ำทิ้งดีแคนเตอร์หลังการบำบัดด้วยเส้นใย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึง ในถังหมักแบบ air - lift ขนาด 3 ลิตร อากาศ 1.0 vvm นาน 15 วัน ที่ 30°ซ ระยะเวลาตกตะกอน 3 ชั่วโมง

Table 17 Effects of polyferric sulfate and CaO on sedimentation of decanter effluent after 15 days treatment by immobilized *L. srtigisus* ST-S-3 cultivated in air-lift fermentor at aeration rate 1.0 vvm at 30°C and A: Raw decanter effluent B: Treated decanter effluent by immobilized *L. strigosus* ST-S-3 in air - lift fermentor (3 L), aeration rate 1.0 vvm, 15 days at 30 °C

| **Polyferric sulfate (%)** | **CaO (%)** | **A** | | | **B** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Sediment (%) | Color removal (%) | COD removal (%) | Sediment *(%)* | Color removal (%) | COD removal (%) |
| 0 | 0 | 55 | -0.32 | 23.71 | 6 | -34.40 | 22.84 |
| 1.0 | 1.0 | 70 | -235.04 | 28.88 | 95 | 88.17 | 60.30 |
| 0.5[1] | 0.5[1] | - | - | - | 47 | 49.53 | 68.00 |
| 0.5[2] | 0.5[2] | - | - | - | 82 | 53.93 | 54.44 |
| 0.25 | 0.25 | - | - | - | 18 | 5.44 | 54.28 |

[1] First precipitation with 0.5% polyferric and 0.5%CaO

[2] Second precipitation of the effluent from first precipitation with 0.5% polyferric and 0.5%CaO

- Not analysis

อีกครั้งตัวบดบังหรือตัวขัดขวางปฏิกิริยาการทำลายเสถียรภาพและปฏิกิริยาการก่อตะกอนน้อยลง สารเคมีที่เติมลงไปจึงทำงานอย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

การใช้ raw meal เป็นสารช่วยตกตะกอนน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพ 15 วัน ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0-6 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่าตะกอนที่เกิดขึ้นมีลักษณะหนักกว่าตะกอนที่เกิดจากการตกตะกอนโดยโพลีเฟอริกกับแคลเซียมออกไซด์ ตะกอนส่วนใหญ่ตกเร็วภายใน 15 นาที แต่สารละลายส่วนใสกลับมีค่าสี และพีเอชเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 18) ทั้งนี้อาจเกิดจากการละลายของ raw meal ของโรงงานปูนซีเมนต์ซึ่งมีส่วนผสมส่วนใหญ่เป็นหินปูนรวมกับดินเหนียว ทราย และดินลูกรัง มีคุณสมบัติจึงเป็นด่างตามสมบัติของหินปูน ทำให้พีเอชของน้ำเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการทดลองของ โสภา จันทภาโส (2542) ที่พบว่าการใช้สารเคมีที่สามารถให้ ไฮดรอกไซด์อิออนในน้ำทิ้งทำให้สีของน้ำทิ้งเข้มขึ้น ส่วนการที่ตกตะกอนส่วนใหญ่ตกอย่างรวดเร็วนั้น เกิดจากส่วนผสมของ raw meal มีส่วนของหิน ดิน และทราย ซึ่งมีน้ำหนักมากจึงเป็นตัวพาทางกายภาพพาตะกอนตกอย่างรวดเร็ว แต่ตะกอนส่วนใหญ่ที่ตกกลับเป็นตะกอนจากตัว raw meal เอง ดังนั้นประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดีจึงต่ำ และการลดซีโอดีสูงสุด (ร้อยละ 34.05) เมื่อใช้ raw meal ร้อยละ 4

การใช้สารโพลีเฟอริกซัลเฟตกับแคลเซียมออกไซด์ตกตะกอนน้ำทิ้งหลังการบำบัดทางชีวภาพด้วยเส้นใยเห็ด *L. strigosus* ST-S-3 ความเข้มข้นของสารเคมีที่เหมาะสมคือ ร้อยละ 0.5 โดยการแบ่งตกตะกอน 2 ขั้นตอน เป็นการลดการใช้สารเคมีน้อยกว่าการใช้ สารโพลีเฟอริกซัลเฟตกับแคลเซียมออกไซด์ ร้อยละ 1 ตกตะกอนน้ำทิ้งในครั้งเดียว และมีประสิทธิภาพการลดสีและซีโอดีสูงกว่าการตกตะกอนครั้งเดียว จากตารางที่ 19 สามารถสรุป ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ด้วยเส้นใย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึง ใน air- lift ขนาด 3 ลิตร อากาศ 1.0 vvm นาน 15 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส ร่วมกับสารโพลีเฟอริกกับแคลเซียมออกไซด์ ร้อยละ 0.5 จำนวน 2 ครั้ง สามารถลดสีและซีโอดีได้สูงร้อยละ 90.47 และ 93.03 ตามลำดับ

ตารางที่ 18 ผลการลดซีโอดีและสีจากการใช้สารเคมี Raw meal จากโรงงานปูนซีเมนต์ ใน A: น้ำทิ้งที่ไม่ผ่านการบำบัด และ B: น้ำทิ้งหลังการบำบัดด้วยเส้นใย *L. strigosus* ST-S-3 ที่ถูกตรึง ในถังหมักแบบ air - lift ขนาด 3 ลิตร อากาศ 1.0 vvm นาน 15 วัน ที่ 30°ซ ระยะเวลาตกตะกอน 3 ชั่วโมง

Table 18 Effects of raw meal from cement mill on sedimentation of decanter effluent after 15 days treatment by immobilized *L. srtigisus* ST-S-3 cultivation in air - lift fermentor at aeration rate 1.0 vvm at 30°C and A: Raw decanter effluent B: Treated decanter effluent by immobilized *L. strigosus* ST-S-3 in air - lift fermentor (3 L), aeration rate 1.0 vvm, 15 days at 30 °C

| **Raw meal (%)** | **A** | | | **B** | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Sediment (%) | Color removal (%) | COD removal (%) | Sediment (%) | Color removal (%) | COD removal (%) |
| 0 | 55 | -0.32 | 23.71 | 6 | -34.40 | 22.84 |
| 2 | 30 | -94.40 | 24.17 | 5 | -25.28 | 32.42 |
| 4 | - | - | - | 8 | -25.76 | 34.05 |
| 6 | - | - | - | 10 | -31.52 | 30.86 |

- Not analysis

ตารางที่ 19 คุณลักษณะของน้ำทิ้งเข้าและออกจากส่วนต่างๆ ของการบำบัด

Table 19 Chemical characteristic of influent and effluent of each treatment steps

| Parameters | A | | | B | | | C | | | Total removal |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Influent | Effluent | %removal | Influent | Effluent | %removal | Influent | Effluent | %removal | |
| pH | 4.5 | 6.0 | - | 6.0 | 9.2 | - | 9.2 | 11.96 | - | - |
| Color (Units) | 24,000 | 14,167 | 40.97 | 14,167 | 7,150 | 49.53 | 7,150 | 2,288 | 68.00 | 90.47 |
| COD (mg/L) | 5,978 | 17,494 | 68.74 | 17,494 | 8,560 | 53.93 | 8,560 | 3,900 | 54.44 | 93.03 |
| TS(g/L) | 67.46 | 25.76 | 61.81 | - | - | - | - | - | - | 61.80 |
| Phenol (mg/L) | 2.0 | 0.75 | 62.66 | * | * | * | * | * | * | 62.66 |

A: Treated of decanter effluent by immobilized *L. strigosus* ST-S-3 in air – lift fermentor (3 L), aeration rate 1.0 vvm, 15 days at 30 °C

B: Treated of precipitation A steps effluent with 0.5% polyferric and 0.5%CaO

C: Treated of precipitation B steps effluent with 0.5% polyferric and 0.5%CaO

*Can not analysis

- Not analysis