การบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้จุลินทรีย์

Treatment of Palm Oil Mill Effluent Using Microorganisms

ปรีชา มุณีศรี

Preecha Muneesri

เลขหมู่ TDY55 ป/46 2539 ค.2
Order Key 29027
Bib Key 104174
21 ก.ค. 2543

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biotechnology

Prince of Songkla University

2539

ชื่อวิทยานิพนธ์ การบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้จุลินทรีย์
ผู้เขียน ว่าที่ร้อยตรีปรีชา มุณีศรี
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.พูนสุข ประเสริฐสรรพ์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญ หันพงศ์กิตติกูล)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.พูนสุข ประเสริฐสรรพ์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญ หันพงศ์กิตติกูล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณา ชูฤทธิ์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประเสริฐ สันตินานาเลิศ)

บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

.....
(ดร.ไพรัตน์ สงวนไทร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้จุลินทรีย์

ผู้เขียน ว่าที่ร้อยตรีปรีชา มุณีศรี

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2538

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
21 ก.ค. 2543

บทคัดย่อ

น้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีค่าพีเอชค่อนข้างเป็นกรด (พีเอช 4.7) ปริมาณสารอินทรีย์สูง โดยมีค่าซีโอดี 35.50 กรัมต่อลิตร น้ำมันและกรีส 24.90 กรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด 53.03 กรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย 33.10 กรัมต่อลิตร และมีแร่ธาตุต่างๆเล็กน้อย (N 0.90, P 0.25, K 4.14, Ca 0.39, และ Mg 0.63 กรัมต่อลิตร) สำหรับน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงาน พบว่ามีค่าพีเอชเป็นด่าง (พีเอช 8.8) มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ (ซีโอดี 1.35 กรัมต่อลิตร) น้ำมันและกรีส (0.27 กรัมต่อลิตร) รวมทั้งปริมาณของแข็งและแร่ธาตุต่ำกว่าน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter มาก

ผลการคัดเลือกจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูง (45°ซ) ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสโดยทดสอบบนอาหารแข็ง พบว่าจำนวน 13 สายพันธุ์ที่ทดสอบมีเพียง 6 สายพันธุ์ที่สามารถแสดงกิจกรรมของไลเปส โดยสังเกตุจากวงใสบนอาหารแข็ง คัดเลือกได้เชื้อรา 2 สายพันธุ์คือ ST 4 และ ST 29 เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

จากการเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดน้ำมันในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275, *A. oryzae*, *Candida tropicalis* F-129, *C. palmeoliophila* Y-128, สายพันธุ์ ST 4 และ ST 29 พบว่าสายพันธุ์รา ST 29 ซึ่งเลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สามารถกำจัดน้ำมันได้สูงสุด (ร้อยละ 99.65) ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 66 และได้ปริมาณมวลชีวภาพ 44.56 กรัมต่อลิตร ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 4 วัน

เมื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันและแยกเซลล์ของเชื้อ ST 29 ออกแล้ว (พีเอช 5.4) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์) และสภาวะให้อากาศ-ไร้แสง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเชื้อที่เจริญภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง คือ การปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ค่า COD:N ที่เหมาะสมเท่ากับ 100:1.5 ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 38 และได้ปริมาณมวลชีวภาพ

สูงสุดเท่ากับ 4.30 กรัมต่อลิตร ส่วนการเลี้ยงในสภาวะให้อากาศ-ไร้แสงที่ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 เชื้อ สามารถลดค่าซีโอดีได้สูงสุด (ร้อยละ 71) ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:2.5 และได้ปริมาณมวลชีวภาพ 1.67 กรัมต่อลิตร

เมื่อเลี้ยง *R. gelatinosus* R7 ในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พบว่าเชื้อเจริญได้ดีเมื่อปรับพีเอชเริ่มต้นของน้ำเสีย จากพีเอช 8.8 เป็น 7.0 การเลี้ยงภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง อัตราส่วนที่เหมาะสมของ COD:N เท่ากับ 100:1.5 ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 45 และได้ปริมาณมวลชีวภาพ 0.86 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามที่สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง ค่าซีโอดีลดลงสูงสุดร้อยละ 74 ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:0

เมื่อศึกษาการบำบัดทั้งสองขั้นตอนดังกล่าวข้างต้นในสภาพปลอดเชื้อ และไม่ปลอดเชื้อพบว่า จากการบำบัดน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ในขั้นแรกด้วยเชื้อราสายพันธุ์ ST 29 ในสภาพปลอดเชื้อสามารถกำจัดน้ำมันและกรีสได้ร้อยละ 99.01 ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 69 และได้ปริมาณมวลชีวภาพ 48.19 กรัมต่อลิตร ส่วนภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อน้ำมันและกรีสลดลงร้อยละ 90.30 ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 73 และได้ปริมาณมวลชีวภาพ 44.87 กรัมต่อลิตร สำหรับการบำบัดขั้นที่สองด้วย *R. gelatinosus* R7 ในสภาพปลอดเชื้อและไม่ปลอดเชื้อ พบว่าเชื้อเจริญสูงสุดที่เวลา 8 วัน ได้ปริมาณมวลชีวภาพ 2.87 และ 2.69 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ค่าซีโอดี ลดลงสูงสุดร้อยละ 41 และ 61 ที่เวลา 10 วัน ตามลำดับ

Thesis Title	Treatment of Palm Oil Mill Effluent Using Microorganisms
Author	Pre-Sub Lieutenant Preecha Muneesri
Major Program	Biotechnology
Academic Year	1995

Abstract

The decanter effluent from a palm oil mill had acidic pH (pH 4.7) and contained high organic matter with COD of 35.50 g/l and oil & grease of 24.90 g/l. The total solids were 53.03 g/l while the suspended solids were 33.10 g/l. The minerals were present in trace amount (N 0.90, P 0.25, K 4.14, Ca 0.39 and Mg 0.63 g/l). The wastewater taken from the thrid pond of the wastewater treatment system was found to have alkaline pH (pH 8.8). The organic matter (COD 1.35 g/l), oil & grease (0.27 g/l), as well as the solids and the minerals were much lower than those of the decanter effluent.

Selection of lipase-producing thermotolerant microorganisms (45°C) using agar plate method revealed that among the 13 strains tested, only 6 strains exhibited lipase activity as indicated by clear zone. Two fungal strains, ST 4 and ST 29, were selected for subsequent work.

Comparison on oil removal from the decanter effluent by *Aspergillus niger* ATCC 6275, *A. oryzae*, *Candida tropicalis* F-129, *C. palmeoliphila* Y-128, strains ST 4 and ST 29 were studied. The results indicated that strain ST 29 were cultivated at 45°C gave the highest oil removal (99.65 %), with 66 % COD reduction and 44.56 g/l of biomass after 4 days of cultivation.

Optimization on cultivation of *Rhodocyclus gelatinosus* R7 in the treated effluent (pH 5.4) under anaerobic-light (3,000 Lux) and aerobic-dark conditions were investigated. The optimal conditions for light-anaerobically grown culture were the initial pH of 7.0, COD:N ratio of 100:1.5. The COD removal was 38 % and the highest

biomass was 4.30 g/l. Cultivation under aerobic-dark condition at the initial pH of 7.0, the highest COD removal (71 %) was achieved at COD:N ratio of 100:2.5 and gave the biomass of 1.67 g/l.

Cultivation of *R. gelatinosus* R7 in the wastewater taken from the third treatment pond of the palm oil mill was investigated for comparison. It was found that the bacteria grew better when the initial pH (pH 8.8) was adjusted to pH 7.0. Under anaerobic-light condition, the optimum COD:N ratio was 100:1.5 and resulted in the COD removal of 45 % and the highest biomass of 0.86 g/l. However, under aerobic-dark condition, the highest COD removal was obtained at the COD:N ratio of 100:0.

The above two-stages treatment under septic and aseptic conditions were investigated. The first treatmented of decanter effluent by the strain ST 29 under aseptic condition resulted in the oil & grease removal of 99.01 %, COD removal of 69 % and gave 48.19 g/l biomass. For septic condition, the oil & grease was reduced by 90.30 %, COD removal was 73 % and the biomass was 44.87 g/l. In the second treatment by *R. gelatinosus* R7 under aseptic and septic conditions, the growth was maximum after 8 days cultivation giving the biomass of 2.87 and 2.69 g/l, respectively. The highest COD removal were 41 and 61 %, respectively after 10 days cultivation.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำในการวิจัย การค้นคว้าและการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรัญ หันพงศ์กิตติกูล กรรมการที่ปรึกษาร่วมที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆ และตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ชูฤทธิ์ กรรมการผู้แทนคณะอุตสาหกรรมเกษตร และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประเสริฐ สันตินานาเลิศ กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตนครศรีธรรมราช ที่ให้ทุนอุดหนุนการศึกษา รวมทั้งบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านวัตถุดิบ

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ๆ น้องๆ ที่ให้การสนับสนุนและกำลังใจในการศึกษามาโดยตลอด ขอขอบคุณ คุณอวยชัย ว่องธีรานุสรณ์ และ คุณวิลาวัล ผลพลอย ที่อำนวยความสะดวกในด้านเครื่องคอมพิวเตอร์ และ ขอขอบคุณ คุณวาสนา มู่สา ที่อำนวยความสะดวกในด้านเครื่องถ่ายภาพ ตลอดจนเจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตร และทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้ ที่มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ท้ายสุดนี้ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ นักศึกษาปริญญาโทสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ และสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหารทุกท่านที่ให้กำลังใจ และความเอื้ออาทรด้วยดีตลอดมา คุณประโยชน์ที่เกิดจากงานวิจัยนี้ขอมอบแด่ บิดา มารดา คณาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

ปรีชา มุณีศรี

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... (3)

Abstract ..... (5)

กิตติกรรมประกาศ ..... (7)

สารบาญ ..... (8)

รายการตาราง ..... (11)

รายการรูป ..... (15)

บทที่

1 บทนำ 1

บทนำต้นเรื่อง 1

ตรวจเอกสาร 2

1. แหล่งที่มาและคุณลักษณะของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 2

1.1 กระบวนการผลิตน้ำมันปาล์ม 2

1.2 ปริมาณและคุณลักษณะของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 5

2. การบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบ 11

2.1 การบำบัดด้วยวิธีการทางกายภาพและเคมี 11

2.2 การบำบัดด้วยวิธีการทางชีวภาพ 12

3. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการใช้น้ำมันของจุลินทรีย์ 17

3.1 สารอาหาร 17

3.2 อุณหภูมิ 20

3.3 พีเอช 22

3.4 การให้อากาศ 23

3.5 การกวน 23

วัตถุประสงค์ 25

2. วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการ 26

วัสดุ 26

สารบาญ (ต่อ)

หน้า

ก วิธีการวิเคราะห์ 97
1. ปริมาณมวลชีวภาพ 97
2. ของแข็งทั้งหมด 98
3. ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด 99
4. ปริมาณน้ำมันและกรีส (Oil & Grease) 100
5. ปริมาณโปรตีนของเซลล์ 101
6. ปริมาณฟอสฟอรัส 103
7. ซีโอดี 105
ข ตารางผลการทดลอง 108
ค แผนผังแสดงระบบบ่อบำบัดน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด จังหวัดสงขลา 120
ประวัติผู้เขียน 123

รายการตาราง

ตารางที่ หน้า

1 คุณสมบัติของน้ำทิ้งจากแหล่งต่างๆของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 7

2 คุณลักษณะน้ำทิ้งโดยเฉลี่ยจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 4 โรงงาน..... 8

3 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม..... 9

4 เปรียบเทียบองค์ประกอบของแร่ธาตุของวัสดุเศษเหลือจากโรงงาน
สกัดน้ำมันปาล์ม..... 10

5 คุณสมบัติของน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการเหวี่ยง
และการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ..... 16

6 องค์ประกอบของน้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มก่อน
และหลังจากเลี้ยง *Aspergillus oryzae* เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง..... 19

7 คุณลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter
เปรียบเทียบกับแหล่งอื่นๆของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม..... 35

8 คุณลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3
ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม..... 37

9 เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูง
บนอาหารแข็งสังเคราะห์ บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส
เป็นเวลา 72 ชั่วโมง..... 39

10 คุณลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter
ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ก่อนและหลังการเลี้ยงเชื้อรา ST 29
ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน..... 54

11 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus*
gelatinosus R7 ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม
ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0
ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง เป็นเวลา 4 วัน..... 65

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

12 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง เป็นเวลา 4 วัน 68

13 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสงเป็นเวลา 4 วัน 71

14 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสงเป็นเวลา 4 วัน 74

15 คุณลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อราทนอุณหภูมิสูง ST 29 และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (*Rhodocyclus gelatinosus* R7) 75

ตารางภาคผนวกที่

ข1 ผลของเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆต่อการกำจัดน้ำมันและกรีสในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 108

ข2 ผลของเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆต่อการกำจัดซีโอดีในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 109

ข3 ผลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชในระหว่างการเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 110

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ข4 ผลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆต่อปริมาณมวลชีวภาพในระหว่างการเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 111

ข5 ผลของพีเอชเริ่มต้นและสภาวะการเลี้ยงต่อปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่ระยะเวลาต่างๆ 112

ข6 ผลของพีเอชเริ่มต้นและแหล่งน้ำทิ้งต่อปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง และสภาวะให้อากาศ-ไร้แสง ที่ระยะเวลาต่างๆ 113

ข7 ผลการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ที่มีการปรับและไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสงและสภาวะให้อากาศ-ไร้แสง 114

ข8 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน และสภาวะการเลี้ยงที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 115

ข9 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน และสภาวะการเลี้ยงที่มีผลต่อปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 116

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ข10 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน และแหล่งน้ำทิ้ง (ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0) มีผลต่อปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงภายใต้ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสงและสภาวะให้อากาศ-ไร้แสง ในเวลาต่างๆ 117

ข11 ผลการเลี้ยงเชื้อราทนอุณหภูมิสูง ST 29 ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เติมไนโตรเจน NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 ในสภาพปลอดเชื้อและไม่ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 118

ข12 ผลของการเลี้ยง *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 เติมไนโตรเจน $[(NH_4)_2HPO_4]$ 100:1.5 (COD:N) ในสภาพปลอดเชื้อ และไม่ปลอดเชื้อภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง 119

รายการรูป

รูปที่ หน้า

1 แผนภูมิการผลิตน้ำมันปาล์มดิบในกระบวนการผลิตแบบใช้น้ำ ที่มีการใช้เครื่อง decanter 3

2 แผนภูมิการผลิตน้ำมันปาล์มดิบในกระบวนการผลิตแบบใช้น้ำ ที่มีการใช้เครื่อง separater 4

3 ระบบบำบัดน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่มีการย่อยแบบไม่ต้องการอากาศ 2 ระยะ และแบบ facultative pond 14

4 น้ำทิ้งที่ออกจากเครื่อง decanter และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 27

5 ผลของจุลิทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ต่อการกำจัดน้ำมันและกรีส เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง 41

6 ผลของอุณหภูมิต่อการกำจัดน้ำมันและกรีสของเชื้อรา ST 4 และ ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 43

7 ลักษณะเส้นใยที่รวมตัวกันเป็นก้อนของเชื้อราทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ ST 29 อายุ 4 วัน 44

8 ผลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ต่อการกำจัดซีโอดีเมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง 46

9 ผลของอุณหภูมิต่อการกำจัดซีโอดีของเชื้อรา ST 4 และ ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 48

10 ผลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพ เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง 50

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

11 ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอช และปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อรา ST 4 และ ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 52

12 ผลของค่าพีเอชเริ่มต้นต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอช และปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง 55

13 ผลของพีเอชเริ่มต้นและสภาวะการเลี้ยงต่อค่าซีโอดีที่ลดลงของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 เป็นเวลา 4 วัน 56

14 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอช และปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง 57

15 ผลของค่าพีเอชเริ่มต้นต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอช และปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง 59

16 ผลของพีเอชเริ่มต้นและสภาวะการเลี้ยงต่อค่าซีโอดีที่ลดลงของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เป็นเวลา 4 วัน 60

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

17 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง..... 61

18 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง..... 64

19 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง..... 67

20 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง..... 70

21 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง..... 72

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

22 ผลของสภาพการเลี้ยงต่อการกำจัดน้ำมันและกรีสของเชื้อรา ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 77

23 ผลของสภาพการเลี้ยงต่อการกำจัดซีโอดีของเชื้อรา ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 ที่อุณหภูมิ 45องศาเซลเซียส 78

24 ผลของสภาพการเลี้ยงต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอช และปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อรา ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เติม NH_4HO_3 ร้อยละ 0.06 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 79

25 ผลของสภาพการเลี้ยงต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอช และปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 เติมไนโตรเจน [$(NH_4)_2HPO_4$] 100:1.5 (COD:N) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง 80

26 ผลของสภาพการเลี้ยงต่อการกำจัดซีโอดีของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 เติมไนโตรเจน [$(NH_4)_2HPO_4$] 100:1.5 (COD:N) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง 82

27 แผนผังแสดงการบำบัดน้ำทิ้งจาดเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยใช้เชื้อราสายพันธุ์ ST 29 และเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง 85

รายการรูป (ต่อ)

รูปรูปภาคผนวกที่ หน้า

ค1 แผนผังแสดงระบบบ่อบำบัดน้ำเสียจากโรงงานน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด..... 120
ค2 บ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 1 และ 2 ของโรงงานน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด..... 121
ค3 บ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 3 ของโรงงานน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด..... 122

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปาล์มน้ำมัน (oil palm) มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Elaeis quineensis* จัดเป็นพืชเศรษฐกิจของภาคใต้ เนื่องจากอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์มได้ขยายตัวอย่างรวดเร็ว มีการนำน้ำมันปาล์มไปใช้ทดแทนน้ำมันพืชอื่นๆ เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันถั่วลิสง น้ำมันมะพร้าว น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันเมล็ดนุ่น และอื่นๆ ตลอดจนสามารถใช้ทดแทนไขมันสัตว์ได้เป็นอย่างดี และมีราคาต่ำกว่าน้ำมันพืชอื่นๆ ในปี พ.ศ. 2536 จังหวัดที่มีการปลูกปาล์มน้ำมันมากที่สุดได้แก่ กระบี่ สุราษฎร์ธานี ชุมพร สตูล และ ตรัง ตามลำดับ ซึ่งมีเนื้อที่ที่ให้ผลผลิตร้อยละ 92.59 ของผลผลิตปาล์มน้ำมันทั้งหมด และเนื้อที่เพาะปลูกปาล์มน้ำมันร้อยละ 93.67 ของเนื้อที่เพาะปลูกปาล์มทั้งประเทศ และผลผลิตปาล์มทะลายร้อยละ 92.46 ของผลผลิตปาล์มทั้งประเทศ (ศูนย์สถิติการเกษตร, 2537)

ในปี พ.ศ. 2537 มีผลผลิตปาล์มทั้งหมดประมาณ 7,200,000 ตันทะลายปาล์ม และคาดว่าสิ้นปี พ.ศ. 2538 จะมีผลผลิตปาล์มทั้งหมดประมาณ 7,700,000 ตันทะลายปาล์ม (สุดารัตน์ เตชะศรีประเสริฐ, 2538) ปี พ.ศ. 2536 มีโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มในประเทศไทยรวม 46 โรงงาน (ศูนย์เศรษฐกิจอุตสาหกรรมภาคใต้, 2537) และเพิ่มเป็น 49 โรงงาน ในปี พ.ศ. 2538 โดยตั้งอยู่ทางภาคใต้ ตามจังหวัดต่างๆ ดังนี้ ชุมพร (15 โรงงาน) กระบี่ (9 โรงงาน) สงขลา (8 โรงงาน) ตรัง (7 โรงงาน) สุราษฎร์ธานี (5 โรงงาน) สตูล (4 โรงงาน) และพัทลุง (1 โรงงาน) โดยแยกเป็นโรงงานที่ผลิตแบบใช้น้ำ 17 โรงงาน และแบบอื่นๆ (แบบทอด และแบบย่างผลปาล์ม) 32 โรงงาน ขนาดของโรงงานแตกต่างกันไปตามกำลังการผลิต ซึ่งกำลังการผลิตน้ำมันปาล์มดิบโดยรวมทั้ง 49 โรงงานประมาณ 405,000 ตันต่อปี (อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2539)

การผลิตน้ำมันปาล์มมี 3 แบบคือ แบบใช้น้ำ แบบย่างผลปาล์ม และแบบทอดผลปาล์ม ในบรรดากระบวนการผลิตทั้ง 3 แบบ พบว่าแบบใช้น้ำก่อให้เกิดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตประมาณ 2.5ลูกบาศก์เมตรต่อตันของน้ำมันที่ผลิตได้ ซึ่งจะเป็นน้ำทิ้ง

จากหม้อนึ่ง จากเครื่องแยกกรวดทราย จากเครื่องแยก (separator หรือ decanter) และจากการทำความสะอาดเครื่องมือเครื่องจักร ในน้ำทิ้งจะมีน้ำมันปนอยู่ประมาณ 11.36 กรัมต่อลิตร น้ำมันในน้ำทิ้งอยู่ในลักษณะอิมัลชั่น ซึ่งจะแยกออกได้ยากและไม่สามารถแยกออกได้ด้วยวิธีการทางกายภาพ เช่น การใช้ความร้อน และวิธีการทางเคมี (อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2537) วิธีการทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์ จึงน่าจะเป็นวิธีการที่มีความเป็นไปได้ในการกำจัดน้ำมันออกจากน้ำทิ้ง ทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ (ค่าบีโอดี ค่าซีโอดี) ลดลงซึ่งช่วยลดปัญหาด้านการบำบัดน้ำเสีย และด้านมลภาวะสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการมีน้ำมันปนเปื้อนอยู่ในน้ำทิ้ง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะกำจัดน้ำมันในน้ำทิ้งด้วยวิธีทางชีววิทยา โดยคัดเลือกจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ และศึกษาหาแนวทางการบำบัดในขั้นต่อไปโดยใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสง

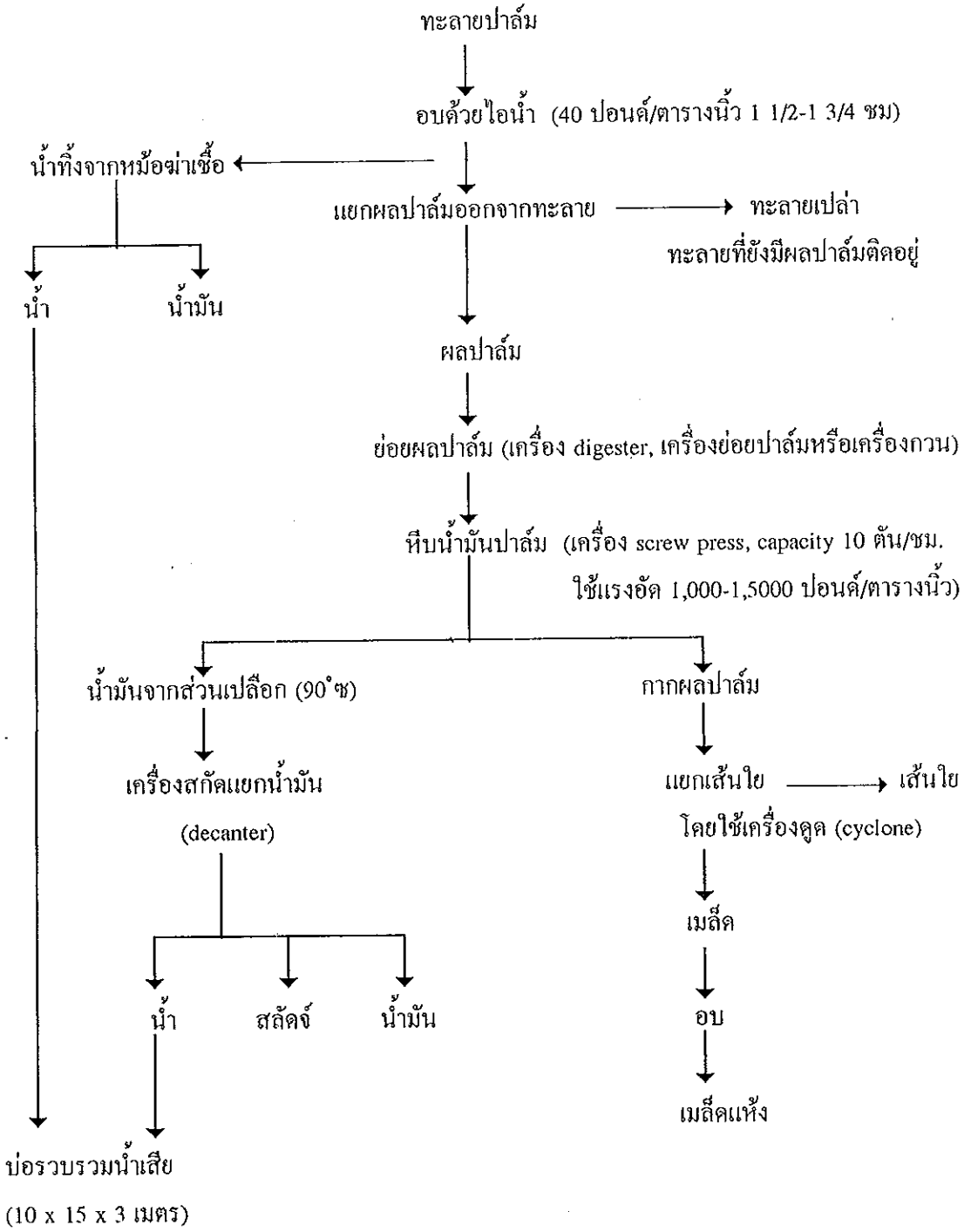
ตรวจเอกสาร

1. แหล่งที่มาและคุณลักษณะของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

1.1 <u>กระบวนการผลิตน้ำมันปาล์ม</u>

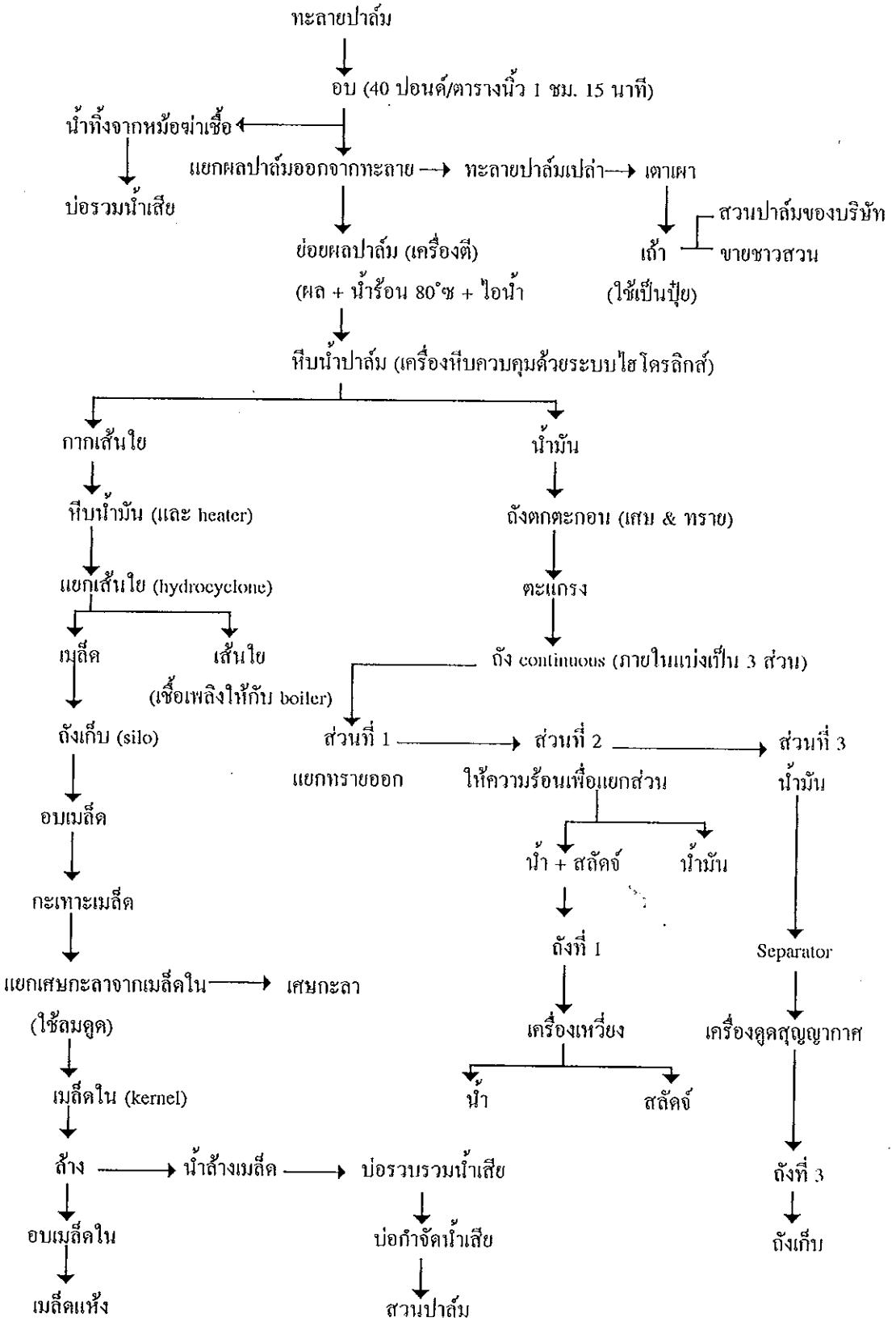
กระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มในประเทศไทยแบ่งได้เป็น 3 แบบ (ผาสุข กุลละวณิชย์ และคณะ, 2534) ได้แก่ กระบวนการผลิตแบบมาตรฐานหรือแบบใช้น้ำ กระบวนการผลิตแบบย่างผลปาล์ม และกระบวนการผลิตแบบทอดผลปาล์ม ในบรรดากระบวนการผลิตเหล่านี้เฉพาะกระบวนการผลิตแบบใช้น้ำเท่านั้นที่ก่อให้เกิดน้ำทิ้ง ซึ่งทางโรงงานต้องทำการบำบัด กระบวนการผลิตแบบย่างผลปาล์มเป็นการผลิตแบบแห้ง (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ, 2533) โดยใช้ความร้อนในการย่างและไม่ใช้น้ำในระหว่างการผลิต ส่วนการผลิตแบบทอดผลปาล์มนั้นจะใช้น้ำมันปาล์มสกัดน้ำมันออกจากผลปาล์มโดยตรง จึงไม่ก่อให้เกิดน้ำทิ้งจากกระบวนการสกัด

กระบวนการผลิตแบบใช้น้ำจัดเป็นแบบมาตรฐาน และแบ่งเป็น 2 แบบย่อยคือ แบบที่ใช้เครื่อง decanter (รูปที่ 1) และแบบที่ใช้เครื่อง separator (รูปที่ 2) ขั้นตอนการผลิตโดยทั่วไปของทั้ง 2 แบบ เริ่มจากการนำทะลายปาล์มสดมาอบด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิระหว่าง 120-130 องศาเซลเซียส ความดันประมาณ 45 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลาประมาณ 45 นาที จุดประสงค์ของการอบ เพื่อจะหยุดปฏิกิริยาไลโปไลซีสที่จะทำให้เกิดกรดไขมันอิสระในผล



รูปที่ 1 แผนภูมิการผลิตน้ำมันปาล์มดิบในกระบวนการผลิตแบบใช้น้ำที่มีการใช้เครื่อง decanter

ที่มา : พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ (2533)



รูปที่ 2 แผนภูมิการผลิตน้ำมันปาล์มดิบในกระบวนการผลิตแบบใช้น้ำที่มีการใช้เครื่อง separator

ที่มา : พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ (2533)

ปาล์ม และทำให้ผลปาล์มอ่อนนุ่ม ขั้วหลุดออกจากทะลายได้ง่าย ทะลายที่อบแล้วจะถูกนำไปป้อนเข้าเครื่องแยกผลปาล์มออกจากทะลาย ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นเครื่องแบบโรตารี่หมุนด้วยความเร็วประมาณ 23 รอบต่อนาที ทะลายปาล์มจะถูกลำเลียงเข้าสู่เตาผา ได้เถ้าที่มีโปแตสเซียมสูง ส่วนผลปาล์มก็จะถูกนำไปย่อยด้วยเครื่องย่อยผลปาล์ม ซึ่งมีลักษณะเป็นรูปถังทรงกระบอก ภายในมีใบพัดสำหรับกวนผลปาล์มให้เส้นใยฉีกขาดจากเมล็ด และเซลล์น้ำมันแตกตัวออกมาง่ายต่อการหีบน้ำมัน จะกวนนานประมาณ 15-20 นาที จากนั้นป้อนเข้าสู่เครื่องหีบแบบเกลียวอัด (screw press) ส่วนมากเป็นแบบเกลียวคู่ น้ำมันที่สกัดได้ถูกส่งต่อเข้าสู่ถังกรองแยกน้ำมันออกจากเศษเส้นใยและสิ่งสกปรกอื่นๆ โดยการใช้เครื่อง decanter หรือเครื่อง separator ซึ่งวิธีหลังนี้จะควบคู่กับการใช้วิธีการตกตะกอนในถังก่อนป้อนเข้าเครื่องเหวี่ยง จากนั้นนำไปไล่ความชื้นให้ได้มาตรฐาน แล้วนำไปเก็บในถังน้ำมันขนาดใหญ่เพื่อเตรียมส่งจำหน่ายโรงงานกลั่นน้ำมันบริสุทธิ์ต่อไป (ผาสุข กุลละวณิชย์ และคณะ, 2534) กระบวนการผลิตแบบนี้จัดเป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพในการหีบน้ำมันสูง ผลผลิตของน้ำมันเท่ากับ 0.2 ตันต่อตันทะลายปาล์ม น้ำมันมีคุณภาพได้มาตรฐาน กำลังการผลิตสูง แต่มีข้อเสียคือจะมีน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตประมาณ 2.5 ลูกบาศก์-เมตรต่อตันของน้ำมันที่ผลิตได้ และต้องใช้ต้นทุนสูงเนื่องจากเครื่องจักรมีราคาแพง

1.2 ปริมาณและคุณลักษณะของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มมาจากสองขั้นตอนคือ น้ำนึ่งปาล์มหรือน้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อ (steriliser condensate) และน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter หรือเครื่อง separator ก่อนจะไหลไปรวมกันเป็นน้ำทิ้งรวมในบ่อบำบัดน้ำเสียของโรงงาน น้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อมีประมาณ 200 ลิตรต่อ 10 ตันทะลายของปาล์ม คิดเป็นร้อยละ 2 (ปริมาตรโดยน้ำหนัก) ของทะลายปาล์ม (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ, 2533) ส่วนปริมาณน้ำทิ้งทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 60 ของปริมาณทะลายปาล์มและมีน้ำมันร้อยละ 2 ปนอยู่ในน้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อ (Hwang, *et al.*, 1978) หรือมีน้ำทิ้ง 2.5-3.0 เท่าของปริมาณน้ำมันที่ผลิตได้ (Cheah, *et al.*, 1988)

จากการสำรวจปริมาณน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มในประเทศมาเลเซีย โดย PORIM/RRIM (1981 อ้างโดยอรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2537) ประมาณการว่าน้ำทิ้งส่วนใหญ่มาจากหม้อฆ่าเชื้อมีปริมาณ 0.9 ลูกบาศก์เมตรต่อตันของน้ำมัน น้ำทิ้งจากเครื่องแยกกรวดทราย (desander) 0.1-0.2 ลูกบาศก์เมตรต่อตันของน้ำมัน และน้ำทิ้งจาก

เครื่องแยก separator หรือ decanter 1.5 ลูกบาศก์เมตรต่อตันของน้ำมัน โดยน้ำทิ้งรวมมีปริมาณประมาณ 2.5 ลูกบาศก์เมตรต่อตันของน้ำมันที่ผลิตได้

คุณลักษณะของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแตกต่างกันขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของน้ำทิ้ง ได้แก่น้ำทิ้งจากบ่อรวบรวมน้ำเสีย น้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อ และน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter หรือเครื่องเหวี่ยง (centrifuge) (ตารางที่ 1) คุณลักษณะโดยรวมของน้ำทิ้งจากแหล่งต่างๆเหล่านี้จะเห็นว่าน้ำทิ้งจากบ่อรวบรวมน้ำเสียมีค่าบีโอดี (57.38 ก/ล) ซีโอดี (73.23 ก/ล) ของแข็งทั้งหมด (68.98 ก/ล) ของแข็งแขวนลอย (35.25 ก/ล) และกรีส (grease) (1.23 ก/ล) เฉลี่ยสูงกว่าน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter หรือเครื่องหมุนเหวี่ยง (มีค่าต่างๆ เฉลี่ยเท่ากับ 33.19, 52.91, 23.63, 11.60 และ 0.005 กรัมต่อลิตรตามลำดับ) ในขณะที่น้ำทิ้งจากเครื่อง condensate มีค่าซีโอดี (75.60 ก/ล) และของแข็งทั้งหมด (72.56 ก/ล) เฉลี่ยสูงกว่าน้ำทิ้งจากบ่อรวบรวมน้ำเสีย (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ, 2533) เมื่อศึกษาคุณลักษณะน้ำทิ้งจากขั้นตอนการผลิตต่างๆของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มจำนวน 4 โรง (อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2537) พบว่าน้ำทิ้งจากหม้อนึ่งมีปริมาณสารแขวนลอยต่ำ (เฉลี่ย 10.30 ก/ล) และมีน้ำมันค่อนข้างสูง (เฉลี่ย 14.57 ก/ล) น้ำทิ้งจาก separator มีน้ำมันเหลืออยู่ 12.78 กรัมต่อลิตร ในขณะที่น้ำทิ้งจาก decanter มีน้ำมัน 15.21 กรัมต่อลิตร น้ำทิ้งจากบ่อพักน้ำทิ้งรวม และน้ำทิ้งจากบ่อดักน้ำมันสุดท้ายมีน้ำมัน 9.45 และ 11.36 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยเฉลี่ยโรงงานสกัดน้ำมันที่สำรวจมีปริมาณน้ำทิ้ง 0.87 ลูกบาศก์เมตรต่อตันทะลายปาล์มสด มีค่าซีโอดี บีโอดี สารแขวนลอย และน้ำมันเท่ากับ 52.45, 26.59, 12.84 และ 8.72 กิโลกรัมต่อตันทะลายปาล์มสด (ตารางที่ 2) ในรายงานของ ESCAP (1982) โดยเฉลี่ยน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม มีค่าซีโอดี บีโอดี สารแขวนลอย และน้ำมันเท่ากับ 53.66, 25.00, 19.02 และ 8.37 กิโลกรัมต่อตันทะลายปาล์มสด ส่วน PORIM/RRIM (1981 อ้างโดยอรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2537)) รายงานว่าน้ำทิ้งรวมมีค่าต่างๆโดยเฉลี่ยคือ พีเอช 4.1 ซีโอดี 53,630 มิลลิกรัมต่อลิตร บีโอดี 25,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าปริมาณมลสารในรูปของซีโอดี บีโอดี สารแขวนลอยและน้ำมันในน้ำทิ้งเท่ากับ 134, 62.50, 47.50 และ 20.92 กิโลกรัมต่อตันของน้ำมันที่ผลิตได้ตามลำดับ นอกจากนี้น้ำทิ้งยังประกอบด้วยอินทรีย์สารและแร่ธาตุต่างๆที่สำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 3 และ 4 (Okiy, 1987; Hwang, *et al.*, 1978 อ้างโดยอารี กังแฮ, 2536) จะเห็นว่าน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีอินทรีย์สาร รวมทั้งแร่ธาตุต่างๆอยู่สูง จึงเป็นแหล่งจะก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมได้

ตารางที่ 1 คุณลักษณะของน้ำทิ้งจากแหล่งต่างๆของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม จากบ่อรวบรวม น้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อ และ น้ำทิ้งจากเครื่อง decanter หรือเครื่องเหวี่ยง

Parameters	น้ำทิ้งจากบ่อรวม	น้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อ	น้ำทิ้งจากเครื่อง decanter หรือเครื่องเหวี่ยง
Color	Dark Brown	Brown	Brown-Blackish Brown
pH	4.05-4.62	4.84-5.35	4.61-4.89
BOD	54,750-60,000	22,800-41,985	21,000-45,375
COD	80,523-115,934	45,360-80,146	38,246-67,567
Volatile acid (as acetic acid)	3,128-5,870	998-7,125	1,838-2,273
Alkalinity (as $CaCO_3$)	68-200	37.5-1,576	86.5-480
Grease	16-2,449	20.9-1,103	4.7
Total solids (TS)	49,453-88,508	26,367-76,733	25,634-47,242
Volatile solids (VS)	42,063-81,872	24,415-67,635	23,056-39,617
Suspended solids (SS)	18,500-52,000	2,600-6,100	2,900-20,300
Nitrogen - ammonia	27-61	7.7-66.3	22.8-23.0
- organic	551-1,172	22.4-1,287	518.5

หมายเหตุ ทุกค่ามีหน่วยเป็น มก/ล ยกเว้นสีและพีเอช

ที่มา : ดัดแปลงจากพูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ (2533)

ตารางที่ 2 คุณลักษณะน้ำทิ้งโดยเฉลี่ยจากโรงงานน้ำมันปาล์ม 4โรงงาน

โรงงานน้ำมันปาล์ม	พีเอช	อุณหภูมิ (°C)	COD (mg/l)	BOD (mg/l)	COD/BOD	SS (g/l)	O&G (g/l)
บริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์มจำกัด [a]	4.65	64.9	113,960	59,389	1.94	26.30	14.70
บริษัททักษิณปาล์ม จำกัด [b]	4.58	64.9	68,344	30,704	2.29	20.80	7.60
บริษัทสยามน้ำมันปาล์ม และอุตสาหกรรม จำกัด [c]	4.67	63.4	42,644	21,450	2.00	5.20	14.20
บริษัทสหอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม จำกัด [b]	4.53	54.1	57,641	29,100	1.98	17.50	7.70
mean	4.61	66.3	70,647	35,160	2.05	17.50	11.10
std. diviation	0.06	3.70	26,249	14,149	0.14	7.80	3.40

a - ใช้เฉพาะ เครื่อง decanter

b - ใช้ทั้ง separater และ decanter

c - ใช้เฉพาะเครื่อง separater

ที่มา : อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ (2537)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (ต่อน้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบ	ร้อยละ
Ether extract	31.60
Protein (N x 6.25)	8.20
Ash	14.10
Fibre	11.90
N-free extract	34.20
P	0.24
K	0.99
Ca	0.97
Mg	0.30
Na	0.08
Gross energy (Kcal/100 g.)	454.00

ที่มา : Okiy (1987 อ้างโดย อารี กังแฮ, 2536)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบองค์ประกอบของแร่ธาตุของวัสดุเศษเหลือจากโรงงานสกัดน้ำมัน-ปาล์ม (ร้อยละต่อน้ำหนักแห้ง)

Mineral	Muthuajah (1976)*	Rajagopalan & Webb (1975)	Wood (1977)*	Hwang, *et al.*, (1979)	
	sludge	sludge	mixed effluent	sludge	condensate
N	2.08	1.66	1.60	1.37	1.83
P	0.42	0.31	0.28	0.31	0.36
K	3.96	-	4.15	3.10	0.09
NA	-	-	0.10	0.06	0.05
Mg	-	0.01	0.77	1.88	2.41
Ca	0.42	0.78	0.77	0.21	0.33
Cr	-	-	0.0005	-	-
Mn	-	0.008	0.008	-	-
Fe	-	-	0.31	0.10	0.04
Co	-	-	0.0003	-	-
Cu	-	0.003	0.0003	0.05	0.07
Zn	-	0.006	0.005	0.025	0.035
Cd	-	-	3×10^{-5}	-	-

* มีการนำมาคิดคำนวณใหม่

- ไม่มีการวิเคราะห์ผล

ที่มา : Hwang *et al.* (1978 อ้างโดย อารี กังแฮ, 2536)

2. การบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบ

2.1 การบำบัดด้วยวิธีการทางกายภาพและเคมี

น้ำมันที่ปนอยู่ในน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม จะเป็นอุปสรรคอย่างมากในการบำบัดน้ำเสียเนื่องจากน้ำมันที่ปนอยู่จะทำให้จุลินทรีย์ที่ใช้ในระบบบำบัดขั้นต่อไปที่ไม่ใช้น้ำมันไม่สามารถเจริญหรือเจริญได้น้อย นอกจากนี้ยังยุ่งยากในการกำจัดออก การบำบัดขั้นต้นเพื่อลดปริมาณน้ำมันและสารอินทรีย์ต่างๆ จะทำให้การบำบัดขั้นต่อไปดำเนินไปอย่างมีประสิทธิภาพ การบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันเป็นองค์ประกอบ จำเป็นต้องทำการบำบัดขั้นต้นแบบกายภาพ-เคมีก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดโดยใช้จุลินทรีย์ การกำจัดน้ำมันและไขมันสามารถทำได้โดยการทำให้น้ำมันและไขมันเกิดการลอยตัว ซึ่งอาศัยการกระจายตัวของฟองอากาศจากเครื่องอัดอากาศ (Forster, 1992)

อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ (2537) ทดลองแยกน้ำมันจากน้ำทิ้งแหล่งต่างๆของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ด้วยวิธีการต่างๆ พบว่าน้ำมันที่มีอยู่ในน้ำทิ้งจากหม้อนึ่งสามารถแยกได้ง่าย โดยตั้งทิ้งไว้ก็เกิดการแยกชั้น สำหรับตัวอย่างน้ำทิ้งจากเครื่องแยก หรือน้ำทิ้งจากบ่อพักน้ำทิ้งรวมไม่สามารถแยกน้ำมันออกได้ด้วยวิธีการตกจม (normal settling) การใช้ความร้อนพร้อมกับการแกว่งอย่างช้าๆ (15 รอบต่อนาที) การใช้สารช่วยตกตะกอน เช่น $FeCl_3$ $Ca(OH)_2$ หรือ $Al_2(SO_4)_3$ การใช้วิธีดึงอากาศ (dispersed air floatation) หรือวิธีอัดอากาศ (dissolved air floatation) ส่วนการหมุนเหวี่ยงสามารถแยกน้ำทิ้งออกเป็น 3 ชั้น โดยน้ำทิ้งจาก separator มีปริมาตรชั้นบนร้อยละ 2-14 ชั้นกลางร้อยละ 57-77 และชั้นล่างร้อยละ 16-28 ในแต่ละชั้นมีปริมาณน้ำมันร้อยละ 1.09-1.37, 0.06-0.24 และ 4.00-5.64 ตามลำดับ สำหรับน้ำทิ้งจากบ่อน้ำทิ้งรวมเมื่อหมุนเหวี่ยงมีปริมาณชั้นบนร้อยละ 3-13 ชั้นกลางร้อยละ 60-79 และชั้นล่างร้อยละ 18-28 โดยแต่ละชั้นมีปริมาณน้ำมันร้อยละ 1.67-2.64, 0.08-0.15 และ 3.41-4.97 ตามลำดับ การหมุนเหวี่ยงน้ำทิ้งจากเครื่องแยกน้ำมันจากบ่อน้ำทิ้งรวมสามารถแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งได้ร้อยละ 5-30 และทำให้น้ำทิ้งสุดท้ายมีค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 50 และน้ำมันลดลงร้อยละ 85

2.2 การบำบัดด้วยวิธีทางชีวภาพ

2.2.1 การบำบัดแบบให้อากาศ

การบำบัดน้ำทิ้งด้วยวิธีทางชีวภาพแบบให้อากาศมีหลายระบบทั้งแบบง่ายๆโดยอาศัยอากาศจากธรรมชาติ และแบบอาศัยอากาศจากเครื่องให้อากาศ เช่น activated sludge แต่มีหลักการที่เหมือนกันคือ ใช้จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญ และกำจัดสารอินทรีย์ต่างๆที่อยู่ในน้ำเสีย

Okuda และคณะ (1991) ศึกษาการบำบัดน้ำทิ้งที่มีไขมันวัวปนอยู่ด้วย โดยแบ่งการบำบัดเป็น 2 ขั้นตอน คือการบำบัดขั้นต้น เป็นการแยกเอาไขมันในน้ำทิ้งที่อยู่บริเวณผิวหน้า โดยอาศัยแรงดันอากาศจากปั๊ม ทำให้ไขมันลอย และทำให้เกิดการหมุนเวียนของน้ำทิ้งภายในถังบำบัด การบำบัดขั้นที่ 2 เป็นแบบ activated sludge มีการเติมเชื้อ *Bacillus sp.* พบว่าหลังการบำบัดขั้นต้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ไขมันลดลงจากเดิม 252 ส่วนในล้านส่วน เหลือ 60 ส่วนในล้านส่วน คิดเป็นร้อยละ 76 และเมื่อบำบัดต่อในขั้นที่ 2 จะเหลือน้ำมัน 9 ส่วนในล้านส่วน คิดเป็นร้อยละ 93 หรือลดลงจากเริ่มต้นร้อยละ 96

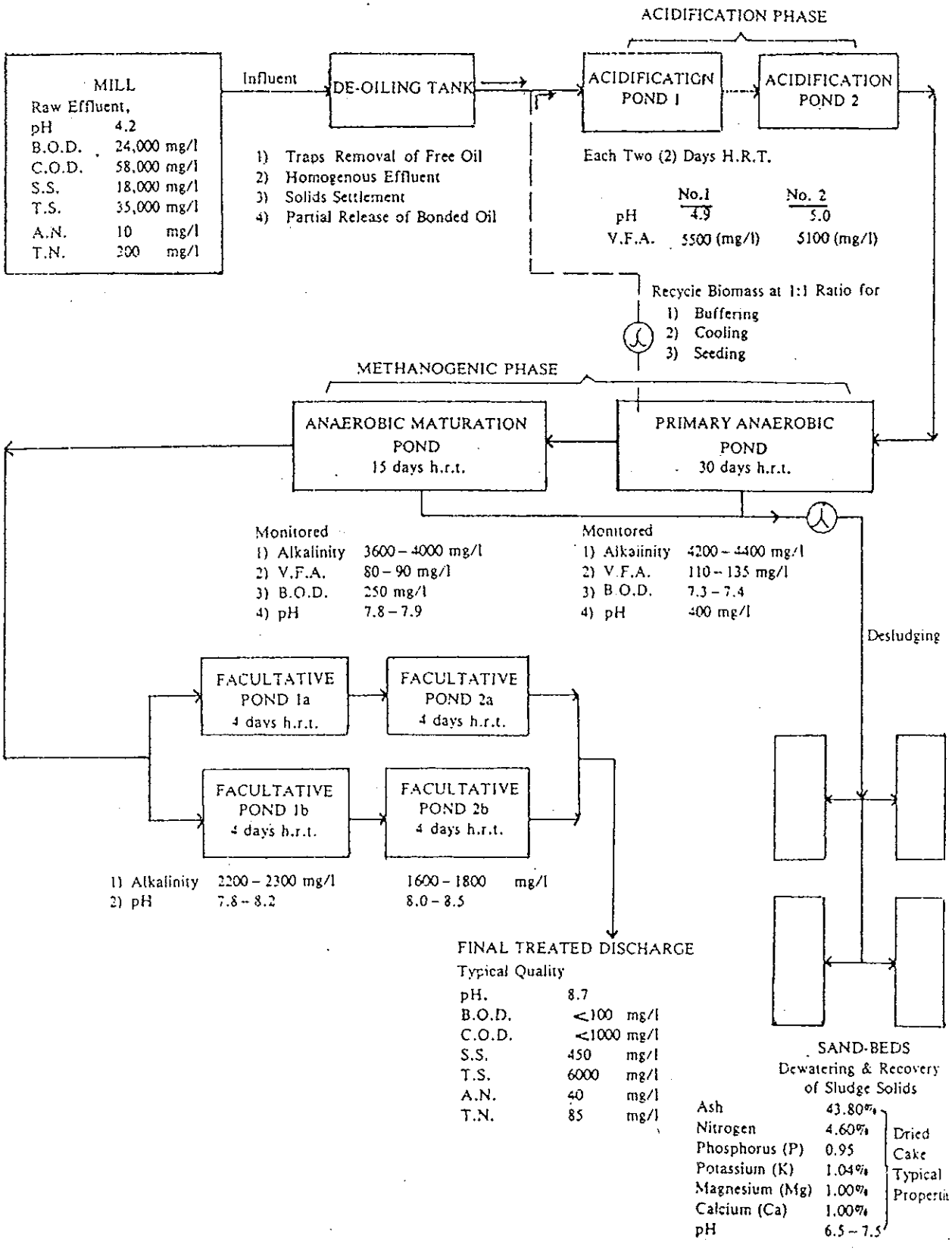
Karim และ Kamil (1989) ทดลองใช้สปอร์และไมซีเลียมของเชื้อรา *Trichoderma viride* บำบัดน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการต้มให้เดือดนาน 10 นาที แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่เติมเชื้อ และไม่เติมเชื้อมีค่าซีโอดีเริ่มต้นประมาณ 700-850 และ 1,000-1,100 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 10 และ 14 วัน สามารถลดค่าซีโอดีลงเหลือ 56 และ 44 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งจากการใช้สปอร์และไมซีเลียม หรือลดลงมากกว่าร้อยละ 95 ในขณะที่ชุดควบคุมซึ่งไม่มีการต้ม และไม่มีการเติมเชื้อราลงไป ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 43-52 และพบว่าการใช้ไมซีเลียมของเชื้อราในการบำบัดน้ำทิ้งทั้งที่ผ่านการต้มและไม่ต้ม มีการเจริญให้มวลชีวภาพ 1.42 และ 1.37 กรัมต่อลิตรของน้ำหนักไมซีเลียมแห้ง ซึ่งสูงกว่าการใช้สปอร์คือ 1.29 และ 1.21 กรัมต่อลิตรของน้ำหนักไมซีเลียมแห้ง ตามลำดับ โดยทั้งจากการใช้ไมซีเลียมและสปอร์ ให้เซลล์ที่มีโปรตีนร้อยละ 37.6-40.7

2.2.2 การบำบัดแบบไร้อากาศ

การบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศ จะเป็นการปล่อยให้เกิดการหมักโดยไม่มีการให้อากาศ จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศจะใช้สารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำทิ้งทั้งที่อยู่ในรูปของตะกอนและสารแขวนลอย เพื่อการเจริญสร้างกรด และก๊าซมีเทน จัดเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากเมื่อเปรียบเทียบกับการบำบัดแบบให้อากาศ เพราะไม่มีปัญหาในการกำจัดตะกอน ไม่ต้องเติมสารอาหารเสริมมาก ลดค่าใช้จ่ายในการให้อากาศ และได้ก๊าซมีเทนเป็นผลพลอยได้

น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมซึ่งมีค่าบีโอดี 5,000-10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อบำบัดโดยใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสงร่วมกับสาหร่ายสีเขียว โดยไม่มีการให้อากาศ สามารถลดค่าบีโอดีลงเหลือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลพลอยได้จากการบำบัดจะเป็นตะกอนซึ่งเซลล์สามารถนำไปเป็นอาหารสัตว์และเป็นปุ๋ยได้ (Kobayashi and Kurata, 1978)

Chooi (1985) รายงานการใช้ระบบบ่อบำบัดไร้อากาศเป็นวิธีบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ได้รับความนิยมมากที่สุด การย่อยสลายแบ่งเป็น 2 ระยะ คือ ระยะการสร้างกรดและระยะการผลิตก๊าซมีเทน การแยกระบบออกเป็น 2 ขั้นตอน จะให้ประโยชน์ในแง่ที่สามารถจัดการสภาวะแวดล้อมต่างๆให้เหมาะสมกับการทำงานของจุลินทรีย์ในแต่ละขั้นตอน ตัวอย่างของระบบบ่อบำบัดที่ได้รับการพัฒนา แสดงในรูปที่ 3 คุณลักษณะของน้ำทิ้งมีดังนี้ พีเอช 4.2 ค่าบีโอดี 24,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ซีโอดี 58,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย 18,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด 35,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนโตรเจนทั้งหมด 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มจากการป้อนน้ำทิ้งเข้าไปยังถังกำจัดน้ำมันเพื่อกำจัดน้ำมันอิสระ ตกตะกอนของแข็ง ทำให้น้ำทิ้งเป็นเนื้อเดียวกันและทำให้น้ำมันที่ไม่เป็นอิสระ (bonded oil) หลุดออกบางส่วน จากนั้นก็เข้าสู่บ่อผลิตกรด (acidification pond) ซึ่งมีสองบ่อย่อย สามารถผลิตกรดไขมันระเหยได้ 5,500 และ 5,100 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ค่าบีโอดีลดลงร้อยละ 98.3 ที่ระยะเวลาการย่อย 2 วัน แล้วเข้าสู่บ่อผลิตก๊าซมีเทนซึ่งเป็นบ่อไร้อากาศ 2 บ่อ บ่อแรกเป็นบ่อไร้อากาศขั้นต้น (primary anaerobic pond) จะใช้เวลา 30 วัน และบ่อที่ 2 (anaerobic maturation pond) ใช้เวลา 15 วัน บีโอดีลดลงร้อยละ 98.9 มีการ recycle ชีวมวลจากบ่อไร้อากาศบ่อแรกไปผสมกับบ่อผลิตกรดบ่อแรกเพื่อให้เกิด buffer การทำให้น้ำทิ้งเย็นลงและเป็นหัวเชื้อ (seeding) บ่อสุดท้ายเป็นบ่อกึ่งให้อากาศ (facultative pond) มี 4 บ่อย่อยเป็นแบบคู่ขนาน ใช้เวลาการย่อย 4 วันต่อบ่อ ค่าบีโอดีลดลงร้อยละ 99.6 ซีโอดีลดลงร้อยละ 98.3 ของแข็งแขวนลอยลดลงร้อยละ 97.5



รูปที่ 3 ระบบบำบัดน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่มีการบำบัดแบบไม่ต้องการอากาศ 2 ระยะ และแบบ facultative pond

ที่มา : Chooi (1985)

ลดลงร้อยละ 82.9 และไนโตรเจนทั้งหมดลดลงร้อยละ 57.5 หรือลดลง เหลือน้อยกว่า 100, น้อยกว่า 1,000, 450, 6,000 และ 85 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ มีการกำจัดตะกอนออกจากบ่อไร้อากาศทั้ง 2 บ่อ แยกตะกอนโดยให้ผ่านชั้นทราย เก็บเกี่ยว เซลล์เพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป ระบบบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแบบไร้อากาศนิยมใช้กันมากในประเทศมาเลเซีย เพื่อผลิตก๊าซชีวภาพ จะใช้บ่อหมักที่มีความลึกมากกว่า 3 เมตร เพื่อต้องการให้เกิดสภาวะไร้อากาศ ก่อให้เกิดการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำทิ้งภายในเวลา 15-20 วัน ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 70-80 ค่าบีโอดีลดลงร้อยละ 85-95 และของแข็งลดลงร้อยละ 65-70 (Petitpierre, 1982)

Ho และ Tan (1983) บำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง และการบำบัดแบบถังหมักไร้อากาศ (ความจุ 500 เมตริกตัน) จากการใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกไขมันและอนุภาคต่างๆในน้ำทิ้ง โดยใช้ความเร็วในการหมุนเหวี่ยง 10,000 *g* อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ซึ่งจัดเป็นสภาวะที่เหมาะสมโดยทั้งค่าซีโอดีและของแข็งทั้งหมดลดลงร้อยละ 46 ของแข็งแขวนลอยลดลงร้อยละ 100 และน้ำมันลดลงร้อยละ 50 (ตารางที่ 5) และยังพบว่าอนุภาคต่างๆ โดยเฉพาะเซลล์ของผลปาล์มมีน้ำมันอยู่ประมาณร้อยละ 1.7-2.6 ในน้ำทิ้งสามารถลดลงเหลือประมาณร้อยละ 0.32-0.37 ในขณะที่การบำบัดด้วยถังหมักไร้อากาศ มีผลให้ค่าบีโอดี ซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งแขวนลอย ไนโตรเจนทั้งหมด และไขมันลดลงร้อยละ 96, 88, 82, 87, 60 และ 98 ตามลำดับ ที่เวลาการบำบัด 20 วัน

Chua และ Gian (1986) เลี้ยง mesophilic anaerobe ในถังปิด 2 ถัง ที่บรรจุน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มหลังการหมัก 20 เดือนได้แก๊สชีวภาพประมาณ 0.57 ลูกบาศก์เมตรต่อกิโลกรัมซีโอดีที่ป้อนต่อวัน มีแก๊สมีเธนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 60-69 ในประเทศมาเลเซียประมาณว่าการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งทั้งหมดของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแบบไม่ใช้อากาศ สามารถผลิตพลังงานได้ร้อยละ 3.6 ของความต้องการไฟฟ้าของประเทศ (Ma and Ong, 1988) มีการทดลองย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งภายใต้สภาวะไร้อากาศโดยใช้ thermophilic contact process ในระดับโรงงานต้นแบบ (pilot scale) ที่อุณหภูมิ 45-60 องศาเซลเซียส ค่าบีโอดีที่ลดลงเท่ากับ 3.0 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตรต่อวัน ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้น (1.41-1.44 ลูกบาศก์เมตรต่อกิโลกรัมต่อบีโอดีที่เติม) เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส และประสิทธิภาพการบำบัดบีโอดีเท่ากับร้อยละ 90-96 แก๊สไฮโดรเจน-

ตารางที 5 คุณสมบัติของน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการเหวี่ยงและการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ

Parameters	Raw palm oil effluent	Supernatant of centrifuged effluent	% Removal of Supernatant	20 day anaerobically digested liquor	% Removal of 20 day
pH	3.5-4.5	3.5-4.5	-	7.0	-
Total solids	47,500	26,000	46	8,600	82
BOD	21,500	11,800	46	745	96
COD	43,000	26,000	40	5,200	88
Suspended solids	25,300	Nil	100	3,100	87
Total nitrogen	850	330	62	340	60
Ammoniacal	45	22	50	55	-20
Oil & grease	8,500	4,200	50	150	98

หมายเหตุ : ค่าทุกค่ามีหน่วยเป็น มก/ล ยกเว้นพีเอช

ที่มา : Ho และ Tan (1983)

ซัลไฟด์น้อยกว่า 100 ส่วนในล้านส่วน (Cheah, *et al.*, 1988)

Edewor (1986) เปรียบเทียบการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ระหว่างการบำบัดแบบบ่อกะไร้อากาศ (batch anaerobic pond) แบบถังหมักไร้อากาศ (tank digester) และแบบบ่อต่อเนื่องไร้อากาศ (continuous anaerobic pond) ซึ่งแบ่งเป็นแบบขั้นตอนเดียวและสองขั้นตอน พบว่าการลดลงของซีโอดีในถังหมักไร้อากาศ บ่อต่อเนื่องไร้-อากาศทั้งแบบขั้นตอนเดียวและสองขั้นตอนจะไม่แตกต่างกัน คือ ร้อยละ 93.6, 93.8 และ 95.5 ตามลำดับ ยกเว้นบ่อกะไร้อากาศ การลดลงของค่าซีโอดีจะน้อยกว่า คือลดลงร้อยละ 76 ที่ระยะเวลาการบำบัด 10 วัน

Yeoh (1986) ทดลองใช้จุลินทรีย์กลุ่ม thermophilic anaerobic (45-55 °ซ) บำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแบบไร้อากาศ พบว่าประสิทธิภาพในการบำบัดสูงถึงร้อยละ 90-95 ใช้เวลาในการบำบัดประมาณ 16-20 วัน และการใช้อุณหภูมิสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส มีผลให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ลดลงเหลือ 100 ส่วนในล้านส่วน ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 55 องศาเซลเซียส จะลดลงเหลือ 700-2,600 ส่วนในล้านส่วน ค่าบีโอดีที่ 3 วัน ลดลง 1,500-3,000 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อวัน จากเดิม 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นร้อยละ 90-95 และได้ก๊าซมีเทนร้อยละ 54-70

3. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการใช้น้ำมันของจุลินทรีย์

3.1 สารอาหาร

การมีสารอาหารหรือสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มต่างกันจะมีผลทำให้ความสามารถในการลดสารอินทรีย์ต่างกัน (Ho and Tan, 1985) และการเจริญของจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของน้ำทิ้ง (Wood, 1977) พวกจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียสามารถทำลายสารอินทรีย์ในน้ำทิ้ง โดยใช้เป็นอาหารในการดำรงชีวิตเช่นเดียวกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ แต่เนื่องจากน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมหลายชนิดจะมีปริมาณสารอาหารไม่เพียงพอจึงจำเป็นต้องเติมลงไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารอาหารประเภทธาตุอาหารหลัก ซึ่งทราบได้จากการวิเคราะห์หาค่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของน้ำเสีย และเปรียบเทียบกับอัตราต่ำสุดของ BOD_5:N:P เท่ากับ 100:5:1 ในระบบ activated sludge (Gaudy and Engelbrecht, 1969) หากน้ำเสียมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่ำกว่านี้ แสดงว่าน้ำเสียขาดสารอาหารจำเป็นต้องเติมลงไป การเติมปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสให้เพียงพอจะมีผลให้

การเจริญของแบคทีเรียไม่ถูกจำกัด ปฏิกิริยาการบำบัดเกิดขึ้นได้อย่างเต็มที่ ประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าในระบบ activated sludge ที่มีการเติมสารอาหารจะมีความ ต้องการออกซิเจนมากกว่าระบบที่ไม่เติมสารอาหาร (Wuhrman, 1956 อ้างโดยเฉลา ศรีทวี, 2535)

รูปแบบของสารอินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ NH_3-N, NO_2-N, NO_3-N และ Org-N จะมีผลต่อการที่แบคทีเรียจะนำไปใช้ในการเจริญ ต่อสารอินทรีย์ไนโตรเจนจะไม่มีประโยชน์จนกว่าได้ถูกย่อยสลายอยู่ในรูป alkanolamine และกรดอะมิโน ดังนั้นไม่ควรเติมในรูปของสารอินทรีย์ไนโตรเจนเพื่อเพิ่มไนโตรเจนให้กับน้ำเสีย ถ้าหากไม่พอควรเติม $(NH_4)_2SO_4$ แต่ถ้าไม่ต้องการให้ซัลเฟตมาเกี่ยวข้องด้วยให้ใช้ NH_4HPO_4 หรือ NH_4NO_3 แทน (Symons, *et al.* 1960)

Barker และคณะ (1981) เลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* ในน้ำทิ้งจากการอบทะลายปาล์ม และสลัดจ์ มีการเติม $(NH_4)_2SO_4$ ลงไปเพื่อให้ได้อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน เท่ากับ 20:1 โดยอัตราส่วนที่เติมประมาณ 14:1 เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ไม่มีการควบคุมพีเอช จะได้เซลล์ที่มีโปรตีนร้อยละ 39.6 ซีโอดีลดลงร้อยละ 75

Barker และ Worgan (1981) ใช้น้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* โดยเลี้ยงเชื้อแบบกะที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้อากาศ 3.5 ลิตรต่อนาที อัตราการกวน 250 รอบต่อนาที หัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ได้มวลชีวภาพ 50 กรัมต่อร้อยกรัมของสารอินทรีย์ ซึ่งมี crude protein ร้อยละ 40 ค่าบีโอดีลดลงร้อยละ 85 ซีโอดีลดลงร้อยละ 77 (ตารางที่ 6) และพบว่าจำเป็นจะต้องเติมแหล่งไนโตรเจน โดยพบว่าการเติม KH_2PO_4 1.2 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4.7H_2O$ 0.6 กรัมต่อลิตร ลงในน้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อ ทำให้ได้ค่า crude protein ร้อยละ 46 และค่าซีโอดีที่ลดลงสูงสุดเท่ากับร้อยละ 83

Cheah และ Ooi (1986, อ้างโดยเบญจวรรณ ชิตมณี, 2534) เลี้ยงเชื้อรา Cf-27 ใน Mandels minimal medium และ ใน steriliser condensate medium ซึ่งประกอบด้วยน้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อที่เจือจาง 5 เท่า และเติมเซลลูโลสร้อยละ 0.75 ยูเรีย 0.3 กรัมต่อลิตร $(NH_4)_2SO_4$ 1.4 กรัมต่อลิตร KH_2PO_4 1.2 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 0.6 กรัมต่อลิตร พบว่าชีวมวลของเชื้อรา Cf-27 มี crude protein ประมาณร้อยละ 30 มีประมาณกรดอะมิโน ที่จำเป็นใกล้เคียงกับโปรตีนมาตรฐาน ยกเว้นเมทไธโอนีน ต่อมา Cheah และคณะ (1988) พบว่าเมื่อนำน้ำนึ่งจากหม้อฆ่าเชื้อมาใช้ในการหมักได้ผลผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 1,400 ตันต่อปี

ตารางที่ 6 องค์ประกอบของน้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มก่อนและหลังจากการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

Parameters	Concentration (g/l)		Reduction (%)
	Original Effluent	Treated Effluent	
Total solids	59.1	13.8	76.6
Ash	6.5	4.9	24.6
Total carbohydrate	8.5	2.8	67.1
Reducing sugars	0.9	0.1	88.9
Pectin	5.7	0.6	89.5
Starch	3.8	0.3	92.1
Hemicellulose	0.1	0.2	-
Cellulose	0.2	0.1	50.0
Polyphenole	2.0	1.2	40.0
Total lipid	2.5	0.1	96.0
Total N	0.6	0.4	33.3
Organic acid	2.6	0.5	80.8
Phosphate, as P_2O_5	1.7	0.7	58.8
Organic matter (TS-Ash)	52.6	8.9	83.1
COD	50.9	11.6	77.2
BOD	22.3	3.4	84.7

ที่มา : Barker และ Worgan (1981)

CENTRAL LIBRARY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY

จากอัตราการผลิต 50-60 ตันทะลายปาล์มสดต่อชั่วโมง เซลล์มีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 27-30 โปรตีนของเชื้อรา Cf-27 ที่ได้จากการเลี้ยงในถังหมักและในฟลาสก์ใกล้ เคียงกัน (ร้อยละ 29.4 และ 30.3 ตามลำดับ) และสูงกว่าค่าที่ได้จากการเลี้ยง *Trichoderma reesei* (ร้อยละ 26.3-27.2)

Pokorny และคณะ (1994) ศึกษาผลของแหล่งและความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการผลิตไลเปสของเชื้อ *Aspergillus niger* ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าที่เวลา 2 วัน การใช้ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจาก NH_4NO_3 ร้อยละ 0.1 ร่วมกับ KH_2PO_4 ร้อยละ 0.1 เชื้อผลิตไลเปส (มีค่า lipolytic activity 24.1 ml 0.01 N KOH) ได้มากกว่าการใช้เปปโตนร้อยละ 0.5 ร่วมกับ KH_2PO_4 ร้อยละ 0.1 จากการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งไนโตรเจน (NH_4NO_3) และฟอสฟอรัส (KH_2PO_4) พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ NH_4NO_3 และ KH_2PO_4 เท่ากับร้อยละ 0.2 และ 0.2 ตามลำดับ โดยเชื้อผลิตไลเปส (มีค่า 21.5 และ 24.1 ml 0.01 N KOH ตามลำดับ) ใกล้เคียงกันกับการใช้ร่วมกัน (ข้างต้น) ส่วน Ibrahim และ Noor (1991) เปรียบเทียบใช้เปปโตน ยีสต์สกัด น้ำแช่ข้าวโพด และยูเรีย เป็นแหล่งไนโตรเจนของ *Aspergillus niger* พบว่าเปปโตนที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เชื้อสามารถผลิตไลเปสได้ดีและสูงกว่า (18.5 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) การใช้จากแหล่งอื่นๆ

3.2 อุณหภูมิ

แบคทีเรียเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม พวกที่เจริญได้ดีในอุณหภูมิต่ำๆ อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 15-20 องศาเซลเซียส พวกที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 20-45 องศาเซลเซียส และพวกที่เจริญได้ที่อุณหภูมิค่อนข้างสูง อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 45-55 องศาเซลเซียส (สุรพล สายพานิช, 2537)

อัตราการลดลงของซีโอดีจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ แต่อัตราการลดลงของซีโอดีจะน้อยลงหากอุณหภูมิสูงเกินไป (ไม่ควรเกิน 40 องศาเซลเซียส) ปฏิกิริยาชีวเคมีแบบไม่ใช้อากาศจะเกิดขึ้นได้ดีที่สุดที่ช่วงอุณหภูมิสองช่วงคือ ช่วงอุณหภูมิปานกลาง ระหว่าง 30-38 องศาเซลเซียส และช่วงอุณหภูมิสูง ระหว่าง 48-57 องศาเซลเซียส ในต่างประเทศที่อยู่ในเขตหนาวจำเป็นต้องเพิ่มอุณหภูมิของน้ำทิ้งให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิปานกลาง แต่สำหรับประเทศไทยนั้น ระบบการทำงานอยู่ในช่วงอุณหภูมิปานกลางได้เองโดยไม่ต้องใช้ความร้อนสูงมาก

จึงไม่นิยมออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิสูง (เสริมพล รัตสุข และไชยยุทธ กลิ่นสุคนธ์, 2524)

Koh และคณะ (1983) เลี้ยงยีสต์ *Torulopsis candida* Y-128 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปาล์มดิบ และน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ (ร้อยละ 2) เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อยีสต์ดังกล่าวเจริญได้ดีในน้ำมันปาล์มดิบที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ต่อมา Koh และคณะ (1985) ได้ใช้ปริมาณน้ำมันร้อยละ 3 เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อเจริญได้ดีในอาหารที่ใช้น้ำมันปาล์มดิบ และในน้ำมันปาล์มบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิ 32 และ 35 องศาเซลเซียสตามลำดับ โดยน้ำมันจะเหลือประมาณร้อยละ 20 ของปริมาณน้ำมันเริ่มต้น หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

Yeoh (1986) ใช้จุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่ไม่ต้องการอากาศมาบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พบว่าเชื้อเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ค่าบีโอดีที่ 3 วันลดลงมากที่สุด (ร้อยละ 95) และที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจะได้ก๊าซมีเทนมากที่สุด (ร้อยละ 69) เมื่อเทียบกับอุณหภูมิอื่นๆ (45-55 °ซ) ได้แก๊ซมีเทนร้อยละ 69-65

Laborbe และคณะ (1989) ศึกษาผลของอุณหภูมิ (ช่วง 20-43°ซ) ต่อการเจริญของเชื้อ *Candida rugosa* ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปาล์มร้อยละ 0.5 เป็นแหล่งคาร์บอน ที่พีเอช 4.0 พบว่าเชื้อมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (0.30 ต่อชม.) ที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียสได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 8 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำมันลดลงจากเดิมร้อยละ 70

Lee และคณะ (1993) เลี้ยงเชื้อ *Candida tropicalis* F 129 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปาล์มอยู่ร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิช่วง 30-43 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (0.92 ต่อชม.) ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส พีเอช 5.5 และเมื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของน้ำมันปาล์ม (ร้อยละ 1-5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในสูตรอาหารสังเคราะห์ พบว่ามวลชีวภาพเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำมันปาล์ม และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 35.4 กรัมต่อลิตรของน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5

Borja และ Banks (1993) บำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแบบกึ่งต่อเนื่องไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าค่าซีโอดีลดลงมากกว่าร้อยละ 96 หลังการหมักเป็นเวลา 7 วัน ได้ก๊าซมีเทน 10-15 กิโลกรัมของซีโอดีต่อลูกบาศก์เมตรต่อวัน

3.3 พีเอช

จุลินทรีย์แต่ละชนิดเจริญได้ดีที่พีเอชต่างกัน แบคทีเรียเจริญได้ดีที่พีเอชระหว่าง 6.5-8.5 ที่ค่าพีเอชสูงจะทำให้ฟอสฟอรัสตกตะกอน (precipitate) และจุลินทรีย์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (สุรพล สายพานิช, 2537) พีเอชที่เหมาะสมต่อการบำบัดน้ำเสียแบบไร้อากาศอยู่ในช่วง 6.6-7.6 (เสริมพล รัตสุข และไชยยุทธ กลิ่นสุคนธ์, 2524) และแบบให้อากาศอยู่ในช่วง 6.5-10.5 (ธีระ เกรอต, 2537)

Montet และคณะ (1983) เลี้ยงเชื้อยีสต์ *Candida curvata, C. rugosa, C. deformans, C. lipolytica, C. porapsilosis, Cryptococcus uniguttilatus, Geotrichum candidum, Trichosporum cutaneum* และ *Rhodotorula pilimanae* ในอาหารเหลวสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปาล์มร้อยละ 0.5 และ 0.2 พีเอช 3.5 และ 6.5 ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียว พบว่าพีเอช 3.5 เชื้อ *Candida rugosa* สามารถเจริญได้สูงสุด ได้เซลล์แห้ง และโปรตีน 0.80 และ 0.35 กรัมต่อกรัมของสับสเตรท ตามลำดับที่ระยะเวลาการเลี้ยง 7 ชั่วโมงที่ความเข้มข้นของน้ำมันปาล์มร้อยละ 0.2

Torulopsis candida Y-128 (*Candida pameoliophila* Y-128) เจริญดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปาล์มเป็นองค์ประกอบร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นของน้ำมันร้อยละ 2 การเจริญของเชื้อลดลง ค่าพีเอชที่เหมาะสมเท่ากับพีเอช 3.5 จัดเป็นเชื้อที่ทนกรดได้ดีกว่าสายพันธุ์อื่น และมีอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อสูงสุด เท่ากับ 0.43 ต่อชม (Koh, *et al.*, 1985) เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida rugosa* CBS 613 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปาล์ม ร้อยละ 0.5 เป็นแหล่งคาร์บอนที่ช่วงพีเอช 2-7 พบว่าเชื้อมีอัตราการเจริญจำเพาะใกล้เคียงกับ (0.28-0.30 ต่อชม) ในช่วงพีเอช 3-6 (Laborbe, *et al.* (1989)

Ibrahim และ Noor (1991) ผลิตไลเปส โดยเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus niger* ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปาล์มร้อยละ 1 สภาวะการเลี้ยงมีการกวนที่อัตรา 300 รอบต่อนาที และมีการให้อากาศในอัตรา 1.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ควบคุมพีเอชให้อยู่ในช่วง 4.5-5.5 พบว่าหลังจากเลี้ยง 24 ชั่วโมง ได้ไลเปส 40 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของไลเปส คือพีเอช 4.0 และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

3.4 การให้อากาศ

ในระบบการบำบัดน้ำเสียนิยมใช้ทั้งแบบให้อากาศและไร้อากาศ หรือทั้งสองแบบ ในถังเติมอากาศจะต้องมีค่าออกซิเจนละลายน้ำระหว่าง 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเข้มข้นของออกซิเจนละลายน้ำนี้จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ นอกจากนี้ที่อุณหภูมิสูงออกซิเจนจะมีค่าการละลายน้ำอิ่มตัว (saturation value) ต่ำ จึงทำให้ต้องใช้ออกซิเจนมาก ในทำนองกลับกันหากอุณหภูมิของน้ำต่ำ ความต้องการเติมอากาศน้อยกว่าที่อุณหภูมิสูงในการที่จะรักษาระดับความเข้มข้นของออกซิเจนละลายน้ำที่มีค่าเท่ากัน (สุรพล สายพานิช, 2537)

เบญจวรรณ ชิตมณี (2534) ศึกษาผลของอัตราการให้อากาศต่อการผลิต CMCase พบว่าการให้อากาศที่ระดับ 0.83 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที เชื้อราที่แยกได้ (F11) ที่เลี้ยงในถังหมักขนาด 2 ลิตร มีค่าแอคทีวิตี้ของเอนไซม์ CMCase ต่ำ เมื่อเพิ่มการให้อากาศจนกระทั่งมีระดับ 1 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที เชื้อผลิตเอนไซม์ที่มีค่าแอคทิวิตีเพิ่มขึ้น และมีค่าค่อนข้างคงที่เมื่อให้อากาศในช่วง 1-1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที

Panda (1989) ศึกษาการให้อากาศที่ระดับ 0.2-1.4 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที ในการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *Trichoderma reesei* D1-6 และ *Aspergillus wentii* Pt 2804 พบว่าเชื้อเจริญ และผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมากขึ้นเมื่อมีการเพิ่มการให้อากาศจนถึง 1 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที และค่อนข้างคงที่เมื่อให้อากาศช่วง 1-1.4 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที เมื่อให้อากาศ 0.2-0.8 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที การละลายได้ของออกซิเจนมีเพียงร้อยละ 10-30 แต่การละลายได้ของออกซิเจนเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 40-60 เมื่อให้อากาศ 1-1.2 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที ค่าการละลายได้ของออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ เชื้อเจริญได้ดี และผลิตเอนไซม์มากขึ้น โดยมีค่าแอคทิวิตีของเอนไซม์เท่ากับ 2.4-4.1 และ 4.5-4.6 หน่วยต่อมิลลิลิตรของสับสเตรท ตามลำดับ

3.5 การกวน

การกวนทำให้จุลินทรีย์ อากาศ และสารอาหารในน้ำเสียผสมกันอย่างทั่วถึง และช่วยให้ฟองอากาศมีขนาดเล็ก ระบบการกวนที่มีประสิทธิภาพจะต้องทำให้การละลายของออกซิเจนในน้ำทิ้งมีปริมาณเท่าๆกันทุกจุดในถังหมัก (สุรพล สายพานิช, 2537)

เบญจวรรณ ชิตมณี (2534) ศึกษาผลของการกวนต่อการผลิตเอนไซม์ CMCase จากการเลี้ยงเชื้อ F11 ในถังหมักขนาด 2 ลิตร โดยมีอัตราการกวน 150, 200, 300 และ 400 รอบต่อนาที ในสภาวะที่มีการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที และควบคุมพีเอชที่

5.5 พบว่าอัตราการกวนที่เหมาะสมคือ 200 รอบต่อนาที ซึ่งที่อัตราการกวนสูงจะทำให้เกิดฟองอากาศมากและได้ค่าแอคทิวิตี้ของ CMCase ต่ำ อาจเนื่องมาจากอัตราการกวนสูงทำให้เกิดแรงเฉือนสูง ซึ่งจะไปทำลายไมซีเลียมทำให้เชื้อมีการผลิตเอนไซม์ลดลงและการใช้อัตราการกวนต่ำกว่า 200 รอบต่อนาที ทำให้การผลิตเอนไซม์ลดลง เนื่องจากการผสมกันระหว่างสับสเตรทกับจุลินทรีย์เกิดขึ้นได้น้อยกว่าการใช้สับสเตรทจึงเกิดขึ้นน้อย

Wase และคณะ (1985) เลี้ยง *Aspergillus fumigatus* ในถังหมักที่มีการกวน 100, 200 และ 300 รอบต่อนาที พบว่าเชื้อเจริญและให้ผลผลิตของเอนไซม์เซลลูเลสลดลงเมื่ออัตราการกวนสูงขึ้น แม้ว่าปริมาณโปรตีนที่ละลายได้จะเพิ่มขึ้นเนื่องจากแรงเฉือนไปทำลายไมซีเลียม ทำให้มีการปล่อยสารภายในเซลล์ออกมา และยังพบว่าการเลี้ยงเชื้อในถังหมักแบบ air lift ซึ่งสามารถแก้ปัญหาการเกิดแรงเฉือนได้ ทำให้ผลผลิตของเอนไซม์สูงกว่าการใช้ถังหมักที่มีการกวน

Panda (1989) เลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *Trichoderma reesei* D1-6 และ *Aspergillus wentii* Pt 2804 แบบต่อเนื่องในถังหมักที่มีการให้อากาศ 1 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที ควบคุมพีเอชที่ 4.8 ที่อัตราการกวนต่างๆกัน พบว่าอัตราการกวนที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อผสมดังกล่าวเท่ากับ 100 และ 150 รอบต่อนาที

Ibrahim และ Noor (1991) ศึกษาผลการกวน (200, 250, 300 และ 400 รอบต่อนาที) ต่อแอคทิวิตี้ของไลเปส การเจริญของเชื้อ และการใช้น้ำมันของเชื้อ *Aspergillus niger* ที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปาล์มร้อยละ 1 เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าอัตราการกวน 300 รอบต่อนาที เชื้อสามารถเจริญและผลิตไลเปสได้สูงที่เวลาการเลี้ยง 36 ชั่วโมง และการลดลงของไขมันก็จะดีที่สุดที่อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที รองลงมาคือ 250, 200 และ 400 รอบต่อนาที ที่อัตราการกวนสูงกว่า 400 รอบต่อนาที ทำให้เซลล์ถูกทำลายได้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการกำจัดน้ำมันในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยเปรียบเทียบการใช้ยีสต์ ราและจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูง

2. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันแล้ว เปรียบเทียบการเจริญในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ซึ่งผ่านการบำบัดแบบไร้อากาศจากบ่อบำบัดบ่อที่ 1 และบ่อที่ 2

3. เปรียบเทียบการบำบัดน้ำทิ้งโดยใช้จุลินทรีย์ที่กำจัดน้ำมันได้ดีที่สุด และแบคทีเรียสังเคราะห์แสงภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ และไม่ปลอดเชื้อ

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. วัตถุดิบ

น้ำทิ้งจากเครื่อง decanter และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 (รูปที่ 4) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด ตำบลบ้านพรุ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา น้ำทิ้งที่ปล่อยออกจากเครื่อง decanter มีอุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส สำหรับน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 เป็นน้ำเสียจากบ่อไร้อากาศที่ผ่านบ่อดักไขมัน โดยระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานมีทั้งหมด 7 บ่อ (รูปภาคผนวกที่ ค 1-3) บรรจุตัวอย่างในขวดขนาด 2.5-3 ลิตร ขวดละประมาณ 1.5-2 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิ-20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ตลอดการทดลอง

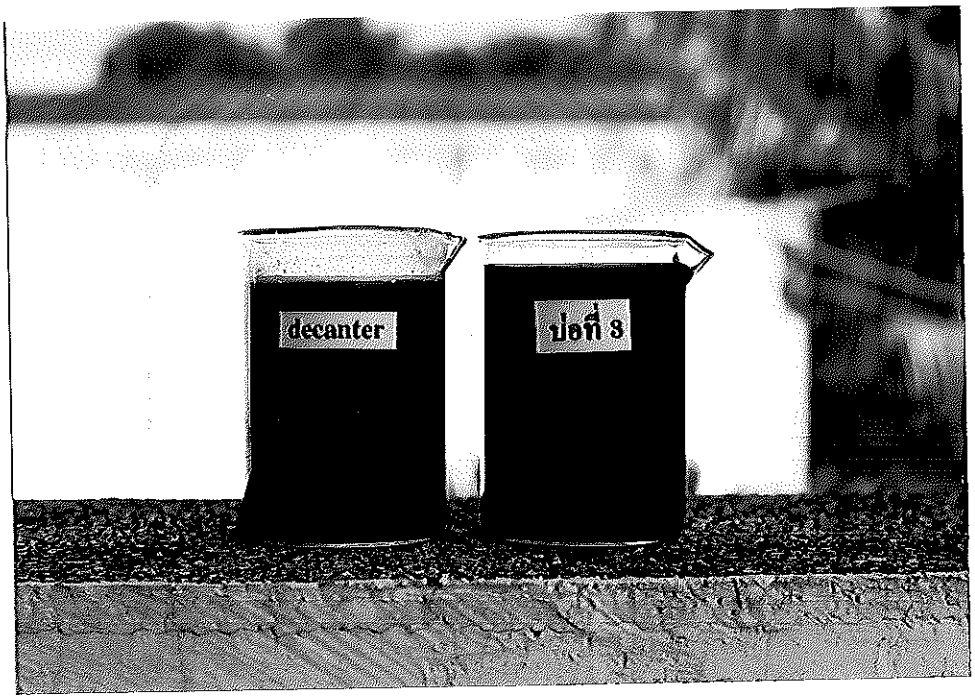
2. จุลินทรีย์

2.1 เชื้อรา *Aspergillus niger* ATCC 6275 ได้รับความอนุเคราะห์จาก Professor Susumu Oi มหาวิทยาลัยโอซาก้าซิตี้ ประเทศญี่ปุ่น

2.2 เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

2.3 เชื้อยีสต์ *Candida tropicalis* F-129 และ *Candida palmeoliophila* Y-128 ได้รับความอนุเคราะห์จาก Professor Tohoru Kodama มหาวิทยาลัยโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น

2.3 จุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูง (45°ซ) จำนวน 13 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (บริษัททักษิณปาล์ม จำกัด จังหวัดสุราษฎร์ธานี) โดยวิภูมิ แก้วทอง (2539) ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ได้แก่ เชื้อราสายพันธุ์ ST 4, ST 7, ST 9, ST 13, ST 20, ST 24, ST 29, ST 30, ST 40, ST 55 และ ST 60 และเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ ST 18 และ ST 70



รูปที่ 4 น้ำทิ้งที่ออกจากเครื่อง decanter และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเตรียมเชื้อเริ่มต้นของยีสต์ ประกอบด้วย (ร้อยละ) น้ำมันปาล์ม 2, KH_2PO_4 0.47, $Na_2HPO_4.12H_2O$ 0.03, $MgSO_4.7H_2O$ 0.1, $FeSO_4.7H_2O$ 0.001, $CaCl_2.2H_2O$ 0.001, $MnSO_4.4H_2O$ 0.001, NH_4NO_3 0.4, ยีสต์สกัด 0.2 และเปปโตน 0.1 ปรับพีเอชเป็น 5.5 ด้วย HCl 1 โมลาร์ เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง (Lee, *et al.*, 1993)

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูง ประกอบด้วย (ร้อยละ) น้ำมันปาล์ม 2, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5, K_2HPO_4 0.05, $MgSO_4.7H_2O$ 0.03 และ ยีสต์สกัด 0.5 ปรับพีเอชเป็น 7.0 ด้วย NaOH 5 โมลาร์ สำหรับใช้เลี้ยงแบคทีเรีย (กิตติเดช สุวรรณสนธิชัย และคณะ, 2534) ส่วนที่เลี้ยงเชื้อรา ให้ปรับพีเอชเป็น 5.5 ด้วย HCl 1 โมลาร์

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบการผลิตเอนไซม์ไลเปสของเชื้อราทนอุณหภูมิสูง ประกอบด้วย (ร้อยละ) น้ำมันปาล์ม 0.5, $(NH_4)_2SO_4$ 0.5, K_2HPO_4 0.05, $MgSO_4.7H_2O$ 0.03, ยีสต์สกัด 0.5 และผงวุ้น 1.8 ปรับพีอช 7.0 ด้วย NaOH 5 โมลาร์ (กิตติเดช สุวรรณสนธิชัย และคณะ, 2534)

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง (G5 media) ประกอบด้วย (ร้อยละ) DL - malic acid 0.35, L - glutamic acid 0.4, KH_2PO_4 0.012, K_2HPO_4 0.018, ยีสต์สกัด 0.5 และเปปโตน 0.5 ปรับให้ได้พีเอชเป็น 7.0 ด้วย NaOH 5 โมลาร์ (สุวิทย์ สุวรรณโณ, 2535) ในกรณีการเตรียมอาหารวุ้นเอียง จะเติมผงวุ้นร้อยละ 1.5

อุปกรณ์

- เครื่องวัดพีเอช ยี่ห้อ Mettler รุ่น delta 320
- เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ของบริษัท Lab-Line Instruments
- เครื่องหมุนเหวี่ยงที่ควบคุมอุณหภูมิ Type SCR 20B ของบริษัท Hitachi Koki จำกัด
- ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemacytometer) และกล้องจุลทรรศน์ของบริษัท Olympus จำกัด
- เครื่อง Spectrophotometer รุ่น U-2000 พร้อมเครื่องพิมพ์ของบริษัท Hitachi จำกัด
- ตู้อบ (hot air oven) รุ่น 500 ของบริษัท Memmert GmbH Co.

วิธีการวิเคราะห์

1. การนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา เจือจางตัวอย่างของเชื้อเริ่มต้นด้วยน้ำกลั่นที่ผสม Tween 80 เข้มข้นร้อยละ 0.1 และผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หยดตัวอย่างบนฮีมาไซโตรมิเตอร์ แล้วนับจำนวนสปอร์จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า ปรับความเข้มข้นของสปอร์ให้ได้ 2.4 x 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (Karim and Kamil, 1989) เพื่อเติมลงในน้ำทิ้งที่ใช้ทดลองร้อยละ 10

2. ปริมาณมวลชีวภาพ (ดัดแปลงจาก Rossi and Clementi., 1985)

3. ซีโอดี (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

4. ของแข็งทั้งหมด (total solids) (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

5. ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (total suspended solids) (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

6. ปริมาณน้ำมันและกรีส (oil & grease) ในน้ำทิ้งและในก้อนเส้นใย (mycelium) (ดัดแปลงจากกรรณิการ์ สิริสิงห, 2522)

7. ปริมาณโปรตีนของเซลล์ วิเคราะห์โดยวิธี Kjeldahl method (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 1990)

8. ปริมาณฟอสฟอรัส (Strickland and Parson, 1972)

9. ปริมาณแร่ธาตุต่างๆ ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ที่หน่วยปฏิบัติการวิเคราะห์กลาง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธีการที่ระบุใน A.O.A.C. (1990)

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทรีตเมนต์ละ 2-3 ซ้ำ และทำการทดลอง 2 ครั้ง วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ (เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลอง) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ IRRISTAT Version 90-1 (1990)

วิธีการ

1. วิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter และน้ำเสียจากบ่อบำบัดที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

วิเคราะห์หาค่าซีโอดี ปริมาณของแข็งทั้งหมด ของแข็งแขวนลอย น้ำมันและกรีส รวมทั้งแร่ธาตุต่างๆได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม โดยทำการวิเคราะห์ทันทีหลังการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงาน และวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆอีกครั้งก่อนการทดลองแต่ละครั้ง

2. การคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่ผลิตไลเปสได้สูงสุด

2.1 <u>การเลี้ยงเชื้อ</u>

เลี้ยงเชื้อทนอุณหภูมิสูงจำนวน 13 สายพันธุ์ ในหลอดทดสอบที่มีอาหารเหลว (อาหารเลี้ยงเชื้อข้อ 3.2) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที (เบญจวรรณ ชิตมณี, 2534) เป็นเวลา 3 วัน นำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อเก็บสารละลายส่วนใส (culture filtrate)

2.2 <u>การคัดเลือกเชื้อบนอาหารแข็ง</u>

เจาะอาหารแข็ง (อาหารเลี้ยงเชื้อข้อ 3.3) ให้เป็นหลุมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 ซม. นำสารละลายส่วนใสที่เตรียมไว้ ประมาณ 0.05 มล (1 หยด) หยดลงในหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส แล้วสังเกตุการเกิดวงใส (clear zone) รอบๆ หลุม วัดขนาดของวงใสที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง คัดเลือกเชื้อที่สารละลายส่วนใสทำให้เกิดขนาดวงใสสูงสุด

3. เปรียบเทียบการกำจัดน้ำมันในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยสายพันธุ์ยีสต์ รา และจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูง

3.1 <u>การเตรียมเชื้อเริ่มต้น (inoculum) ของยีสต์</u>

เขี่ยเชื้อยีสต์ *Candida tropicalis* F-129, *Candida palmeoliophila* Y-128 และจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่คัดเลือกไว้ (จากข้อ 2) จากหลอดอาหารวุ้นเอียง Potato Dextrose Agar (PDA) อายุ 2-3 วัน ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ (อาหารเลี้ยงเชื้อข้อ 3.1)

โดยใช้อาหารปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง (Lee, *et al.*, 1993)

3.2 การเตรียมสปอร์เริ่มต้นของเชื้อรา

เตรียมสปอร์เริ่มต้น โดยเติมน้ำกลั่นที่ผสม Tween 80 ร้อยละ 0.1 (ฆ่าเชื้อที่ 121 °ซ นาน 15 นาที) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในอาหารวุ้นเอียง PDA ของเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aspergillus oryzae* และจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่คัดเลือกไว้ (ผลจากข้อ 2) อายุ 5 วัน นับสปอร์ให้ได้ปริมาณเท่ากับ 2.4 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Karim and Kamil, 1989)

3.3 การเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter

เติมเชื้อเริ่มต้นของยีสต์ หรือ สปอร์เริ่มต้นของเชื้อรา ปริมาณร้อยละ 10 ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter และเติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 (อารี กังแฮ, 2536) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร วางฟลาสก์บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่คัดเลือกไว้ (จากข้อ 2) เลี้ยงเชื้อทั้งที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่าง (ทั้งฟลาสก์) ที่เวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 วัน วัดพีเอช และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันในน้ำทิ้ง การลดลงของค่าซีโอดี และการเจริญของเชื้อโดยวัดค่าในรูปปริมาณมวลชีวภาพ เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถกำจัดน้ำมันปาล์มได้ดีที่สุด

4. การเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 8 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

เลี้ยงจุลินทรีย์ที่สามารถกำจัดน้ำมันปาล์มได้ดีที่สุด (ผลจากข้อ 3) ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่เติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร วางบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที (เบญจวรรณ ชิตมณี, 2534) ที่อุณหภูมิห้องหรือ 45 องศาเซลเซียส (ผลจากข้อ 3) เพื่อให้ได้น้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันปริมาณมากพอเพื่อใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย สังเคราะห์แสง *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เปรียบเทียบกับการเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบัด บ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

4.1 การเตรียมเชื้อเริ่มต้นของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

เขี่ยเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงจากหลอดอาหารวุ้นเอียง G5 ลงในอาหารเหลว G5 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตตร แล้วเติมพาราฟินเหลวหนาประมาณ 1 เซนติเมตร หรือปริมาตร 25 มิลลิลิตร เพื่อให้เกิดสภาวะไร้อากาศ-ให้แสงที่มีความเข้ม 3,000 ลักซ์ (มาริสา จาตุพรพิพัฒน์, 2537) เลี้ยงเป็นเวลา 72 ชม.

4.2 การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำทิ้ง

ศึกษาปัจจัยต่อไปนี้

4.2.1 พีเอชเริ่มต้นและสภาวะในการเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อราสาย ST 29 และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ปรับพีเอชเริ่มต้นท่ากับ 7.0 เปรียบเทียบกับการใช้น้ำทิ้งที่ไม่มีการปรับพีเอชเริ่มต้น (มีค่าพีเอชเท่ากับ 5.35 และ 8.82 ตามลำดับ) เลี้ยงเชื้อภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (ใช้น้ำทิ้งปริมาตร 200 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดทับด้วยพาราฟินเหลว ให้แสงที่ความเข้ม 3,000 ลักซ์) และสภาวะให้อากาศ-ไร้แสง (ใช้น้ำทิ้งปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที) โดยใช้เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง สุ่มตัวอย่างที่เวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 วัน วัดพีเอช วิเคราะห์หาค่าซีโอดีและปริมาณมวลชีวภาพ

4.2.2 อัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน (COD:N)

เติมไนโตรเจนในรูป $(NH_4)_2HPO_4$ ลงในน้ำทิ้งที่มีค่าพีเอชเหมาะสม (จากข้อ 4.1) ให้ได้ค่าซีโอดีต่อไนโตรเจน (COD:N) เท่ากับ 100:0, 100:0.5, 100:1.5 และ 100:2.5 (หรือให้มีไนโตรเจนร้อยละ 0, 0.5, 1.5 และ 2.5 ของค่าซีโอดีเริ่มต้น ตามลำดับ) เลี้ยงเชื้อภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง และให้อากาศ-ไร้แสง (เช่นเดียวกับข้อ 4.1) สุ่มตัวอย่างที่เวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 วัน วัดพีเอช และวิเคราะห์หาค่าปริมาณมวลชีวภาพ ซีโอดี ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส

5. การบำบัดน้ำทิ้งด้วยเชื้อรา และแบคทีเรียสังเคราะห์แสงภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และไม่ปลอดเชื้อ

เลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกไว้ (ผลจากข้อ 3) โดยเติมเชื้อเริ่มต้นปริมาตรร้อยละ 10 ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ปลอดเชื้อ (ผ่านการฆ่าเชื้อ) และที่ไม่ปลอดเชื้อ (ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่เติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 โดยเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณภูมิห้องหรือ 45 องศาเซลเซียส (ผลจากข้อ 3) เป็นเวลา 4 วัน แล้วทำการวัดพีเอช วิเคราะห์ค่าน้ำมันและกรีส ซีโอดี และปริมาณมวลชีวภาพ จากนั้นนำน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันแล้วไปแยกเซลล์ออกโดยการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,500 รอบต่อนาที (9,000 x *g*) นาน 15 นาที นำสารละลายส่วนใสไปเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 (ยกเว้นชุดเปรียบเทียบ) ภายใต้สภาพที่เหมาะสม (ผลจากข้อ 4) สุ่มตัวอย่างที่เวลาต่างๆจนการเจริญของเชื้อและการลดลงของค่าซีโอดีคงที่ วิเคราะห์ค่าต่างๆ เช่นเดียวกับข้อ 4.2

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

1. วิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter (ตารางที่ 7) พบว่ามีค่าเฉลี่ยดังนี้ พีเอช 4.7 ซีโอดี น้ำมันและกรีสเท่ากับ 35.50 และ 24.90 กรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด และของแข็งแขวนลอย มีค่าเท่ากับ 53.03 และ 33.10 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยค่าพีเอชใกล้เคียงกับค่าที่รายงานโดย พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ (2533) และอรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ (2537) ซึ่งรายงานไว้เท่ากันคือ 4.6 ส่วน Chin (1981), Chin และ Wong (1983), Ma และ Ong (1988) และ Borja และ Banks (1993) รายงานไว้เท่ากับ 4.5-5.0 ค่าซีโอดีใกล้เคียงกับการรายงานของพูนสุข ประเสริฐ-สรรพ์ และคณะ (2533) คือ 38.25 กรัมต่อลิตร ส่วนค่าน้ำมันและกรีสสูงกว่ารายงานของ PORIM/RRIM (1988 อ้างโดยอรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2537) และ Hwang และคณะ (1978) คือ 20.92 และ 20.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนของแข็งทั้งหมด และของแข็งแขวนลอยสอดคล้องกับค่าของน้ำทิ้งรวมซึ่งรายงานโดย Chin และ Wong (1983) คือ 54.00 และ 31.80 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และน้ำทิ้งจากเครื่อง separator ที่รายงานโดย Edewor (1986) คือ 54.70 และ 31.85 กรัมต่อลิตร ส่วน Ng และคณะ (1987) รายงานไว้เท่ากับ 56.00 และ 31.33 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สำหรับปริมาณแร่ธาตุในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม มีค่าเท่ากับ 0.90, 0.25, 4.14, 0.63 และ 0.39 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยค่าไนโตรเจนจะใกล้เคียงกับค่าไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากเครื่อง separator คือ 0.86 กรัมต่อลิตร (Borja and Banks, 1993), 0.90 กรัมต่อลิตร (Edewor, 1986), 1.00 กรัมต่อลิตร (Ng, *et al.*, 1987) และใกล้เคียงกับค่าไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากหม้อนึ่ง คือ 0.77 กรัมต่อลิตร (Ma and Ong, 1988) ค่าฟอสฟอรัส โปแทสเซียม และแมกนีเซียม สูงกว่าค่าในน้ำทิ้งจากเครื่อง separator ที่รายงานโดย Borja และ Banks (1993) คือ 0.16, 1.16 และ 0.39 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และรายงานโดย Wood (1977)

ตารางที่ 7 คุณลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter เปรียบเทียบกับน้ำทิ้งจากแหล่งอื่นของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

องค์ประกอบ	Decanter	1	2	3	4	5	6	7
สี	น้ำตาล	น้ำตาลดำ	-	-	-	น้ำตาลขุ่น		-
พีเอช	4.70 ± 0.02	4.61	4.61	4.90	4.40	4.00	4.35	-
ซีโอดี	35.50 ± 9.78	52.91	70.64	65.0	67.40	61.65	51.60	-
น้ำมันและกรีส	24.90 ± 4.60	4.7	11.10	-	-	35.00	-	8.00
ของแข็งทั้งหมด	53.03 ± 8.26	36.44	-	-	54.00	54.70	43.00	-
ของแข็งแขวนลอย	33.10 ± 4.71	11.60	17.50	22.80	31.80	31.85	31.33	19.00
ไนโตรเจน	0.90	0.52	-	0.85	1.00	0.78	0.80	0.77
ฟอสฟอรัส	0.25	-	-	0.16	-	0.13	0.19	0.35
โปแทสเซียม	4.14	-	-	1.16	-	1.79	-	-
แคลเซียม	0.39	-	-	0.50	-	0.36	-	-
แมกนีเซียม	0.63	-	-	0.39	-	0.29	-	-

หมายเหตุ : ทุกค่ามีหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร ยกเว้นสีและพีเอช

1 : พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ (2533) ใช้น้ำทิ้งจากเครื่อง decanter

2 : อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ (2537) ใช้น้ำทิ้งรวม

3 : Borja และ Banks (1993) ใช้น้ำทิ้งจากเครื่อง separator

4 : Chin และ Wong, (1983) ใช้น้ำทิ้งรวม

5 : Edewor (1986) ใช้น้ำทิ้งจากเครื่อง separator

6 : Ng และคณะ (1987) ใช้น้ำทิ้งจากเครื่อง separator

7 : Ma และ Ong (1988) ใช้น้ำทิ้งรวม

ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.11, 1.62 และ 0.30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ค่าฟอสฟอรัสใกล้เคียงกับที่รายงานโดย Ng และคณะ (1985) คือ 0.29 กรัมต่อลิตร ส่วนค่าแคลเซียมจะสอดคล้องกับการรายงานของ จารุวรรณ มณีศรี (2538) คือ 0.30 กรัมต่อลิตร และ Edewor (1986) ซึ่งศึกษาในน้ำทิ้งจากเครื่อง separator คือ 0.40 กรัมต่อลิตร

ระบบบำบัดน้ำเสียของบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด เป็นแบบบ่อดินมีทั้งหมด 7 บ่อ (รูปภาคผนวกที่ ค1) น้ำทิ้งรวมจากโรงงานไหลลงสู่บ่อดักน้ำมัน จากนั้นจะส่งต่อไปยังบ่อบำบัดบ่อที่ 1, 2, 3 และ 4 ซึ่งเป็นบ่อหมักไร้อากาศ แล้วไหลต่อไปยังบ่อบำบัดบ่อที่ 5, 6 และ 7 ซึ่งเป็นบ่อกึ่งไร้อากาศ โดยแต่ละบ่อ น้ำเสียจะไหลผ่านท่อที่วางต่ำจากคันบ่อประมาณ 1 เมตร ระยะเวลาที่น้ำเสียอยู่ในบ่อแต่และบ่อไม่แน่นอน

ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะของน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 พบว่ามีค่าต่ำกว่าน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter เนื่องจากผ่านการบำบัดมาแล้ว มีค่าต่างๆโดยเฉลี่ย (ตารางที่ 8) ดังนี้ พีเอช 8.8 ค่าซีโอดี น้ำมันและกรีส เท่ากับ 1.35 และ 0.27 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ของแข็งทั้งหมด และของแข็งแขวนลอยเท่ากับ 3.08 และ 0.61 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนค่าไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม เท่ากับ 0.40 0.05 1.44 0.20 และ 0.10 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่าพีเอช ซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งแขวนลอย และไนโตรเจน กับระบบการบำบัดแบบบ่อหมักไร้อากาศของ Chooi (1985) ซึ่งรายงานพีเอชไว้เท่ากับ 8.7 ค่าซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งแขวนลอย และไนโตรเจนเท่ากับ 1.00, 6.00, 0.45 และ 0.09 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการบำบัด 55 วัน จะเห็นว่าค่าที่ได้จากการวิเคราะห์นี้ มีค่าของแข็งทั้งหมดต่ำกว่า และมีค่าซีโอดี ของแข็งแขวนลอย และไนโตรเจนสูงกว่า

จากข้อมูลดังกล่าว เมื่อคำนวณจะได้ค่าซีโอดีที่ลดลงร้อยละ 98.50 (ซีโอดีเริ่มต้นของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter 35.50 ก/ล) เมื่อวิเคราะห์ค่าซีโอดีของตัวอย่างน้ำเสียรวมที่ไหลลงสู่บ่อบำบัดบ่อที่ 1 และ 3 ที่สุ่มมาในคราวเดียวกันพบว่ามีค่าเท่ากับ 103,000 และ 2,570 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ได้ค่าซีโอดีที่ลดลงร้อยละ 97.50 ค่าทั้งสองที่ได้ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากระบบบำบัดแบบกึ่งต่อเนื่องไร้อากาศของ Borja และ Banks (1993) และแบบบ่อหมักไร้อากาศของ Chooi (1985) คือซีโอดีลดลงร้อยละ 98 และ 99 ที่ระยะเวลาบำบัด 60 และ 55 วันตามลำดับ แม้ว่าระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานจะสามารถลดค่าซีโอดีได้สูงอยู่ในช่วงร้อยละ 97.50-98.50 แต่ค่าซีโอดีที่เหลือยังคงสูงมาก (ซีโอดีคงเหลือ 1.35-2.57

ตารางที่ 8 คุณลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

องค์ประกอบ	บ่อบำบัดบ่อที่ 3
สี	น้ำตาลใส
พีเอช	8.8 ± 0.10
ซีโอดี	1.35 ± 0.35
น้ำมันและกรีส	0.27 ± 0.08
ของแข็งทั้งหมด	3.08 ± 0.23
ของแข็งแขวนลอย	0.61 ± 0.15
ไนโตรเจน	0.40
ฟอสฟอรัส	0.05
โปแทสเซียม	1.44
แคลเซียม	0.10
แมกนีเซียม	0.20

หมายเหตุ : ทุกค่ามีหน่วยเป็น กรัมต่อลิตร ยกเว้นสีและพีเอช

ก/ล) นอกจากนี้เนื่องจากน้ำทิ้งจากโรงงานมีปริมาณน้ำมันอยู่สูง (ประมาณ 25 ก/ล) และโรงงานประสบกับปัญหาการกำจัดน้ำมันและไขมันที่เกิดเป็นตะกอนทับถมกันหนาในบ่อดักไขมัน บ่อบำบัดบ่อที่ 1 และ 2 โรงงานต้องใช้แรงงานและเสียค่าใช้จ่ายในการจัดการ ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดน้ำมันและไขมันที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำทิ้งด้วยวิธีการทางชีวภาพจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจ

2. การคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูงที่ผลิตไลเปสได้สูง

จากการเลี้ยงเชื้อทนอุณหภูมิสูง (45°ซ) ที่แยกได้จากโรงงานทักษิณปาล์ม จำกัด จำนวน 13 สายพันธุ์คือ ST 4, ST 7, ST 9, ST 13, ST 18, ST 20, ST 24, ST 29, ST 30, ST 40, ST 55, ST 60 และ ST 70 ในอาหารเหลวสังเคราะห์เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำไปทดสอบการผลิตเอนไซม์ไลเปสบนอาหารแข็งสังเคราะห์ โดยสังเกตุการเกิดวงใสรอบๆหลุมอาหาร วัดขนาดวงใสที่เวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าจาก 13 สายพันธุ์ มีเพียง 6 สายพันธุ์เท่านั้นที่สามารถใช้น้ำมัน และเกิดลักษณะวงใสอย่างชัดเจน คือ ST 4, ST 18, ST 24, ST 29, ST 30 และ ST 70 (ตารางที่ 9) ซึ่งทั้งหมดเป็นเชื้อรา ยกเว้นสายพันธุ์ ST 18 และ ST 70 เป็นแบคทีเรีย สายพันธุ์ ST 4, ST 29 และ ST 30 เริ่มเกิดลักษณะวงใสภายในเวลา 24 ชั่วโมง และมีระยะรัศมีส่วนใส (ระยะห่างระหว่างขอบรูที่เจาะกับขอบส่วนใส) เท่ากับ 1, 2 และ 2 มิลลิเมตร ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ (ทั้ง 3 สายพันธุ์) โดยสายพันธุ์รา ST 29 มีระดับความใสมากกว่าสายพันธุ์รา ST 4 และ ST 30 ที่เวลา 48 ชั่วโมง และมีระดับความใสเท่ากันทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่เวลา 72 ชั่วโมง ในขณะที่สายพันธุ์อื่นคือ ST 18, ST 24 และ ST 70 เริ่มเกิดลักษณะวงใสที่เวลา 48 ชั่วโมง มีรัศมี 1 มิลลิเมตร ตลอดการทดสอบ และมีระดับความใสน้อยกว่า ส่วน วิภูมิ แก้วทอง (2539) ได้ศึกษาการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียชอบด่างที่ผลิตไลเปส จากโรงงานทักษิณปาล์ม จำกัด โดยพบว่าหลังจากสทรีค (streak) เชื้อบนอาหารสังเคราะห์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดวงใส (วัดจากขอบโคโลนี) ได้ทั้งขนาดน้อยกว่าและมากกว่า 1 มิลลิเมตร นอกจากนี้ H-Kittikun และ Tani (1987) ศึกษาการผลิตไลเปสโดยการทดสอบการเกิดวงใสรอบๆรูที่เจาะ (รัศมี 7 มม) เนื่องจากการใช้น้ำมัน (ถั่วเหลือง) ของเชื้อยีสต์สายพันธุ์ Y001 ในอาหารสูตร A, B และ C พบว่าวงใสมีรัศมีเท่ากับ 3, 4 และ 4 มิลลิเมตร ตามลำดับ ที่เวลา 48 ชั่วโมง วิธีการทดสอบการผลิตไลเปส โดยการศึกษาลักษณะวงใสดังกล่าวนี้ จัดเป็นการทดสอบการ

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูง บนอาหารแข็งสังเคราะห์ บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

สายพันธุ์	ที่เวลา 24 ชม.		ที่เวลา 48 ชม.		ที่เวลา 72 ชม.	
	รัศมี (มม.)	ความใส	รัศมี (มม.)	ความใส	รัศมี (มม.)	ความใส
ST 4	1	+	2	+ +	2	+ + +
ST 18	-	-	1	+	1	+
ST 24	-	-	1	+	1	+
ST 29	1	+ +	2	+ + +	2	+ + +
ST 30	1	+	2	+ +	2	+ + +
ST 70	-	-	1	+	1	+

หมายเหตุ รัศมี เป็นระยะห่างระหว่างขอบรูที่เจาะกับขอบส่วนใส

เชื้อทุกสายพันธุ์เป็นเชื้อรา ยกเว้น ST 18 และ ST 70 ซึ่งเป็นแบคทีเรีย

ST คือ S = Surathanee T = Thermophile

+ , + + , + + + คือ มีความใสเล็กน้อย ใส และใสมาก ตามลำดับ

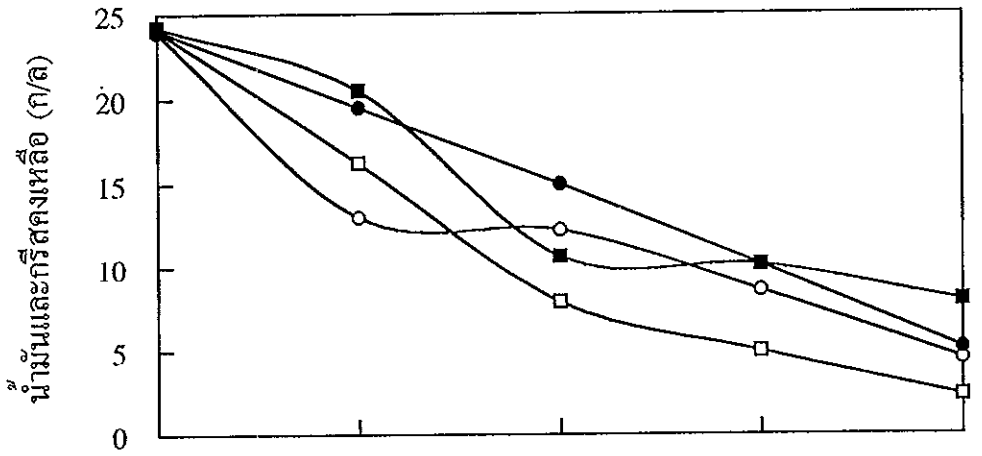
- ไม่เปลี่ยนแปลง

ผลิตไลเปส แม้จะให้ผลช้า แต่จัดเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับวิธีกาวัดความสามารถของจุลินทรีย์ ในการเปลี่ยนสี bromocresol purple (BCP) ที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ (กิตติเดช สุวรรณสนธิชัย และคณะ, 2534) จากผลการทดลองครั้งนี้ จึงคัดเลือกสายพันธุ์ ST 29 และ ST 4 ซึ่งให้ผลดีที่สุด และผลดีรองลงมาตามลำดับ เพื่อเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ต่อไป

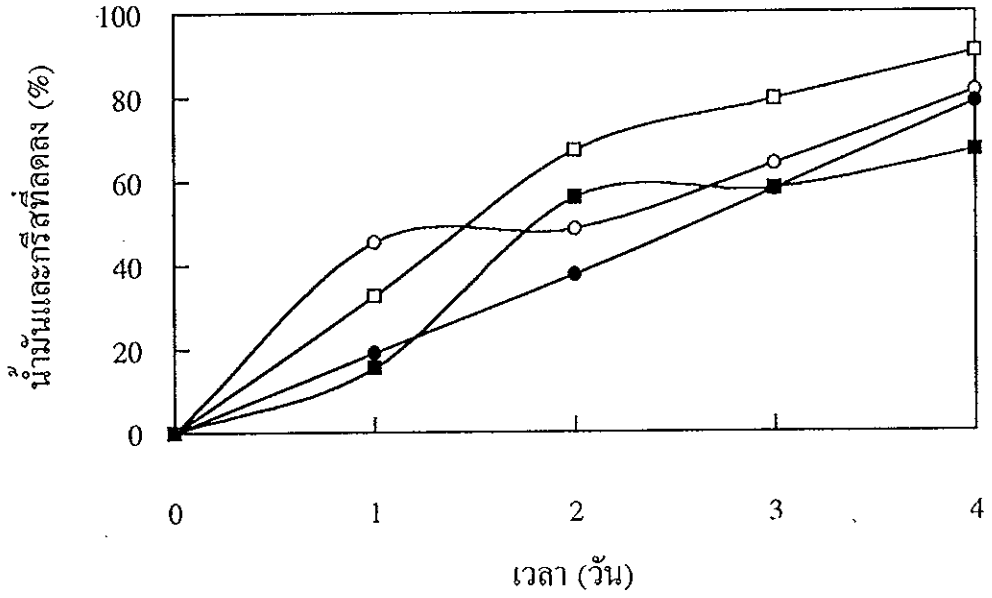
3. เปรียบเทียบการกำจัดน้ำมันในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยสายพันธุ์ยีสต์ รา และเชื้อราทนอุณหภูมิสูง

จากการเลี้ยงเชื้อ 6 สายพันธุ์คือ ยีสต์ 2 สายพันธุ์คือ *Candida tropicalis* F-129 และ *Candida palmeoliophila* Y-128 เชื้อรา 2 สายพันธุ์คือ *Aspergillus niger* ATCC 6275 และ *Aspergillus oryzae* และเชื้อราทนอุณหภูมิสูง 2 สายพันธุ์คือ ST 4 และ ST 29 ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่เติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 เลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน พบว่าเชื้อทั้ง 6 สายพันธุ์สามารถเจริญและใช้น้ำมันและกรีสในน้ำทิ้งได้เกือบหมดภายในเวลา 4 วัน โดยกลุ่มเชื้อยีสต์ คือ *Candida tropicalis* F-129 และ *Candida palmeoliophila* Y-128 ใช้น้ำมันและกรีสในการเจริญ และมีปริมาณเหลืออยู่หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน เท่ากับ 4.50 และ 5.16 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 5 ก) ตามลำดับ จากปริมาณเริ่มต้น 23.93 และ 24.10 กรัมต่อลิตร หรือลดลงร้อยละ 81.40 และ 78.59 (รูปที่ 5 ข) ความสามารถในการลดน้ำมันและกรีสของเชื้อ *Candida tropicalis* F-129 สอดคล้องกับรายงานของ Lee และคณะ (1993) ที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปาล์มร้อยละ 2 คือสามารถกำจัดน้ำมันและกรีสได้ร้อยละ 85 แต่ใช้เวลาน้อยกว่าคือ 12 ชั่วโมง โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมของยีสต์สายพันธุ์นี้ Koh และคณะ (1983) รายงานว่าเชื้อเจริญได้ดีที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณน้ำมันปาล์มร้อยละ 2 เป็นแหล่งคาร์บอน และเจริญได้ดีขึ้นเมื่อเติมสารอาหารโดยเฉพาะไลซีน (lysine) ได้มวลชีวภาพเพิ่มขึ้นร้อยละ 3.3 (Laborbe, *et al.*, 1989) นอกจากนี้ Okuda และคณะ (1991) ได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรีย และเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันจากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มอยู่ร้อยละ 1 พบว่าสายพันธุ์ 351 ซึ่งเป็น *Bacillus sp.* สามารถลดน้ำมันได้ มากกว่าร้อยละ 95 ภายในเวลา 24 ชั่วโมง สาเหตุที่ลดได้สูงอาจจะเนื่องจากมีปริมาณ น้ำมันอยู่น้อย ในขณะที่ในการทดลองนี้มีน้ำมันอยู่ร้อยละ 2.49 กลุ่มเชื้อราคือ *Aspergillus niger* ATCC 6275 และ *Aspergillus oryzae*

ก



ข



○ : *Candida tropicalis* F-129

● : *Candida palmeoliophila* Y-128

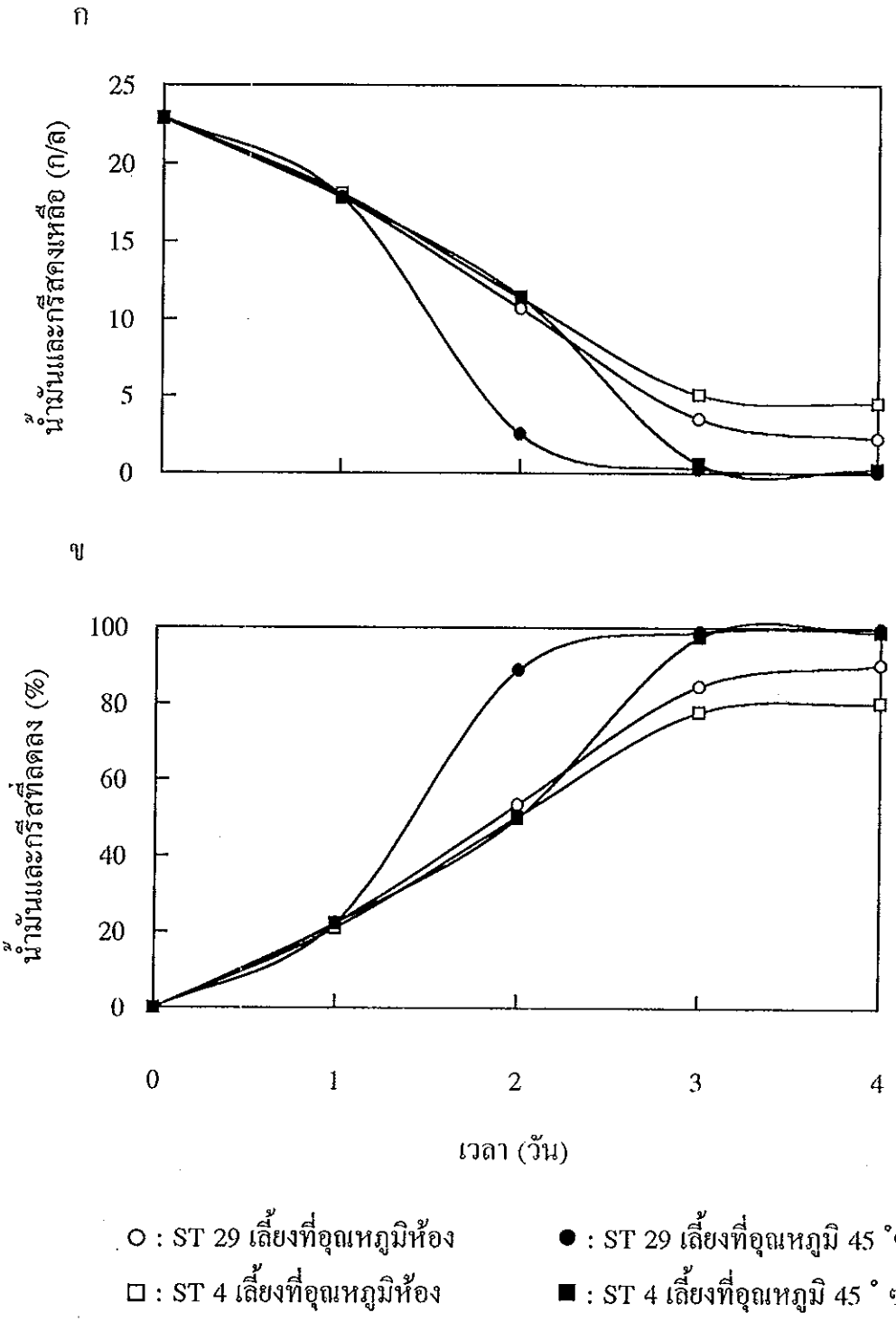
□ : *Aspergillus niger* ATCC 6275

■ : *Aspergillus oryzae*

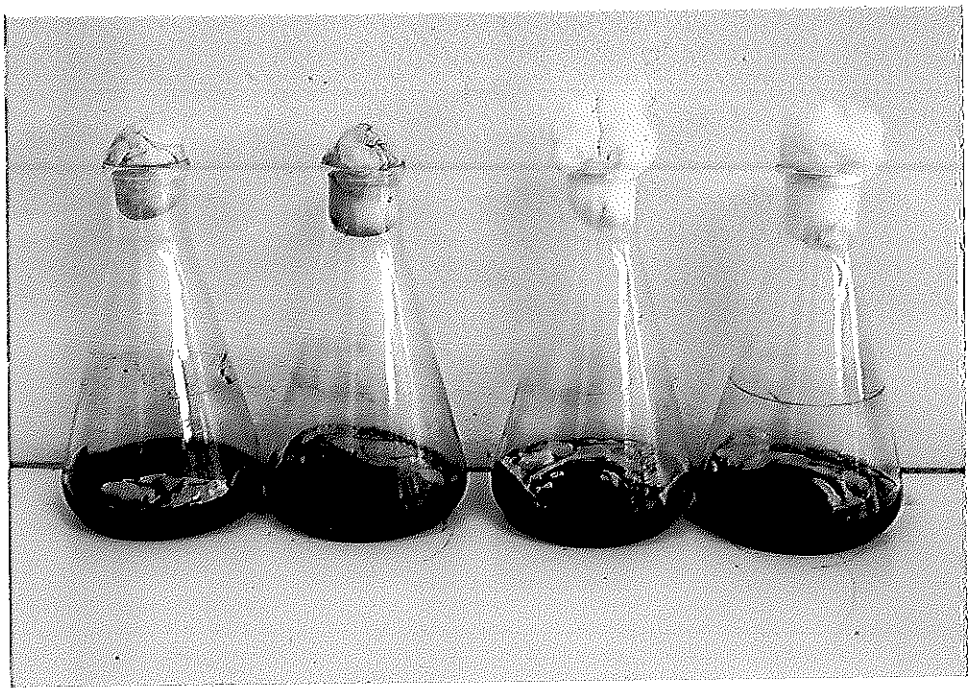
รูปที่ 5 ผลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ต่อการกำจัดน้ำมันและกรีส เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง

มีน้ำมันและกรีสคงเหลือ 2.30 และ 8.00 กรัมต่อลิตร หลังเลี้ยงเป็นเวลา 4วัน (รูปที่ 5 ก) หรือลดลงร้อยละ 90.45 และ 67.02 (รูปที่ 5 ข) ตามลำดับ จะเห็นว่าเชื้อ *Aspergillus niger* เริ่มกำจัดน้ำมันและกรีสได้มากขึ้น และมากกว่าสายพันธุ์อื่นๆที่ 2 วัน เนื่องจากเชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้สูงภายใน 2 วัน และ สูงสุดเมื่อเติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.2 (Pokorny, *et al.*, 1994)

ส่วนกลุ่มเชื้อราทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ ST 4 และ ST 29 ซึ่งมีการเลี้ยงที่ 2 สภาวะ คือ สภาวะอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าทั้งสองสภาวะ เชื้อทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญ และใช้น้ำมันและกรีสได้เป็นอย่างดี โดยที่เวลา 1 วัน สามารถลดน้ำมันและกรีสลงได้ใกล้เคียงกัน คือ ลดจาก 22-23 กรัมต่อลิตร เป็น 17-19 กรัมต่อลิตร หรือลดลงประมาณร้อยละ 21-23 (รูปที่ 6 ก, 6 ข) ในวันที่ 2 ของการเลี้ยง ความสามารถในการกำจัดน้ำมันและกรีสของเชื้อจะต่างกัน โดยเฉพาะสายพันธุ์ ST 29 ที่เลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สามารถกำจัดน้ำมันและกรีสได้สูง คือลดลงเหลือ 2.54 กรัมต่อลิตร หรือลดลงร้อยละ 88.93 ในขณะที่สภาวะอุณหภูมิห้องคงเหลือ 10.69 กรัมต่อลิตร หรือลดลงร้อยละ 53.42 ซึ่งใกล้เคียงกับผลที่ได้จากการเลี้ยงสายพันธุ์ ST 4 ในสภาวะอุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส มีค่าน้ำมันและกรีสเหลืออยู่ 11.37 และ 11.44 กรัมต่อลิตร หรือลดลงร้อยละ 50.28 และ 49.98 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามที่เวลา 3 และ 4 วันความสามารถในการกำจัดน้ำมันและกรีสของสายพันธุ์ ST 4 และ ST 29 ที่เลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะใกล้เคียงกัน คือคงเหลือ 0.58 กรัมต่อลิตร (ลดลงร้อยละ 97.46) และ 0.28 กรัมต่อลิตร (ลดลงร้อยละ 98.87) ที่เวลา 3 วัน และ 0.26 กรัมต่อลิตร (ลดลงร้อยละ 98.89) และ 0.08 กรัมต่อลิตร (ลดลงร้อยละ 99.65) ที่เวลา 4 วัน ตามลำดับ ในขณะที่การเลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิห้อง ความสามารถในการกำจัดน้ำมันและกรีสของสายพันธุ์ ST 29 สูงกว่า ST 4 คือลดลงร้อยละ 84.66 และ 77.87 ที่เวลา 3 วัน และร้อยละ 90.33 และ 80.33 ที่เวลา 4 วัน ตามลำดับ จากการสังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าการเลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เส้นใยของเชื้อรวมกันเป็นก้อน และมีสีดำ (รูปที่ 7) ภายในเวลา 2 วัน โดยภายในก้อนเส้นใยจะมีเศษตะกอนและน้ำมันรวมอยู่ด้วย ลักษณะเป็นก้อนไขมันเล็กๆสีเหลืองส้ม และสีดำ (รวมกับตะกอน) เมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและกรีสที่มีอยู่ในก้อนเส้นใยของสายพันธุ์ ST29 พบว่ามีน้ำมันและกรีส 0.04 กรัมต่อกรัมมวลชีวภาพ หรือ 1.79 กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 7.80 ของ



รูปที่ 6 ผลของอุณหภูมิต่อการกำจัดน้ำมันและกรีสของเชื้อรา ST 4 และ ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

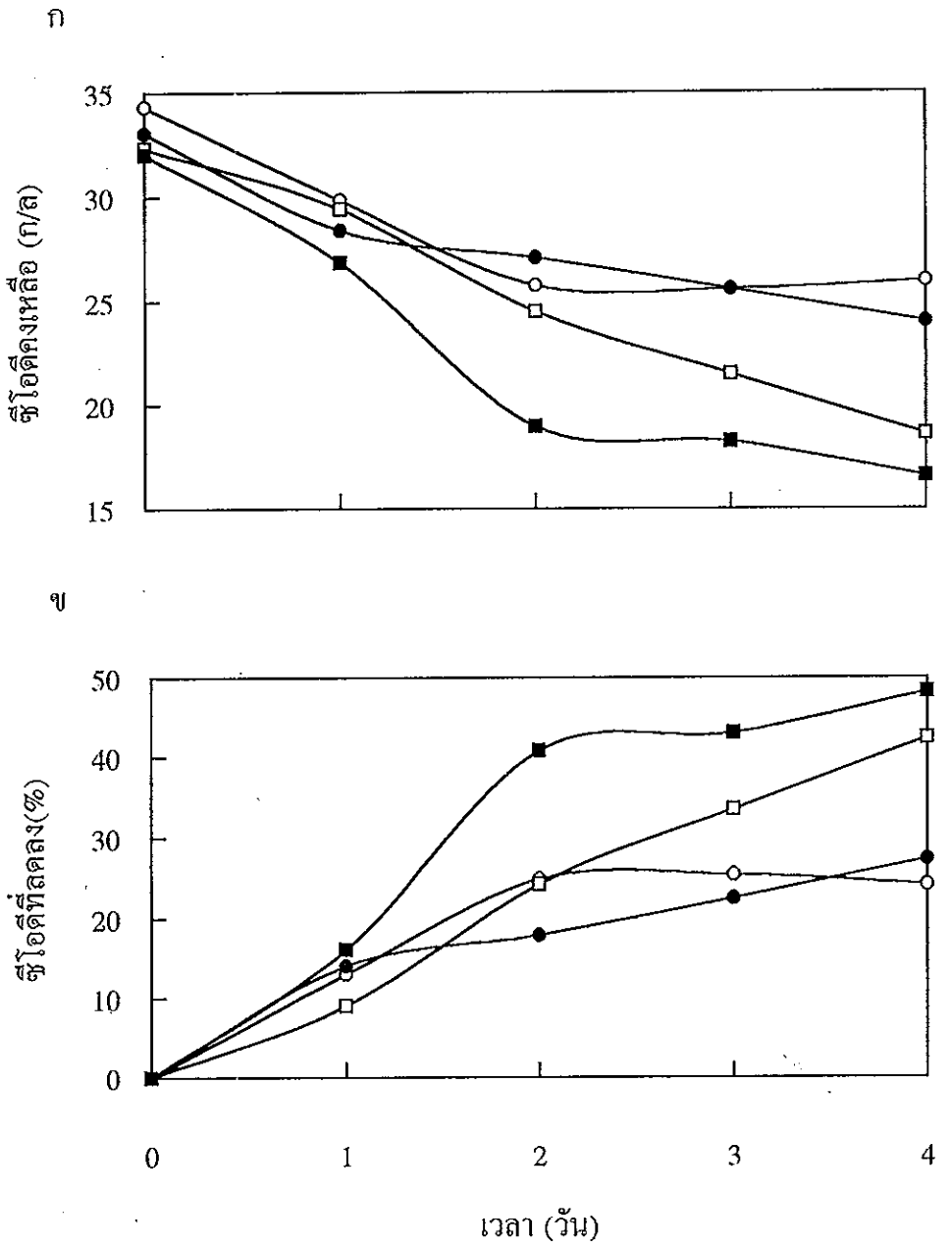


รูปที่ 7 ลักษณะเส้นใยที่รวมกันเป็นก้อนของเชื้อราทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ ST 29 อายุ 4 วัน

ปริมาณปริมาณน้ำมันเริ่มต้น แสดงว่าเชื้อรา ST 29 สามารถใช้น้ำมันได้จริงๆร้อยละ 91.85 ส่วนการเจริญในสภาวะอุณหภูมิห้อง พบว่าเชื้อไม่มีการเกาะกันเป็นกลุ่มก้อน แต่จะกระจายอยู่ในน้ำหมัก

จากค่าน้ำมันและกรีสที่ลดลงของเชื้อทั้ง 6 สายพันธุ์ดังกล่าว จะเห็นว่าสายพันธุ์ ST 29 ที่เลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิสูง 45 องศาเซลเซียส สามารถกำจัดน้ำมันและกรีสได้ดีที่สุด และแต่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ ข1) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากที่สภาวะอุณหภูมิสูง (45 °ซ) น้ำมันสามารถละลายได้ดี และจะอยู่ในรูปอิมัลชั่นในน้ำทิ้ง เชื้อสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานในการเจริญ (Laborbe, *et al.*, 1989; Lee, *et al.*, 1993; Montet, *et al.*, 1983) ได้ดีขึ้น การกำจัดน้ำมันและกรีสของเชื้อราทนอุณหภูมิสูง ซึ่งสามารถกำจัดน้ำมันได้ร้อยละ 91.85 ภายในเวลา 4 วัน ให้ผลใกล้เคียงกับการบำบัดน้ำทิ้งจากเครื่อง separator ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (มีน้ำมันปนอยู่ร้อยละ 2.8) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ อุณหภูมิสูง 45 องศาเซลเซียส ซึ่งลดค่าน้ำมันและกรีสลงได้ร้อยละ 99.82 ในระยะเวลา 10 วัน (Edewor, 1986)

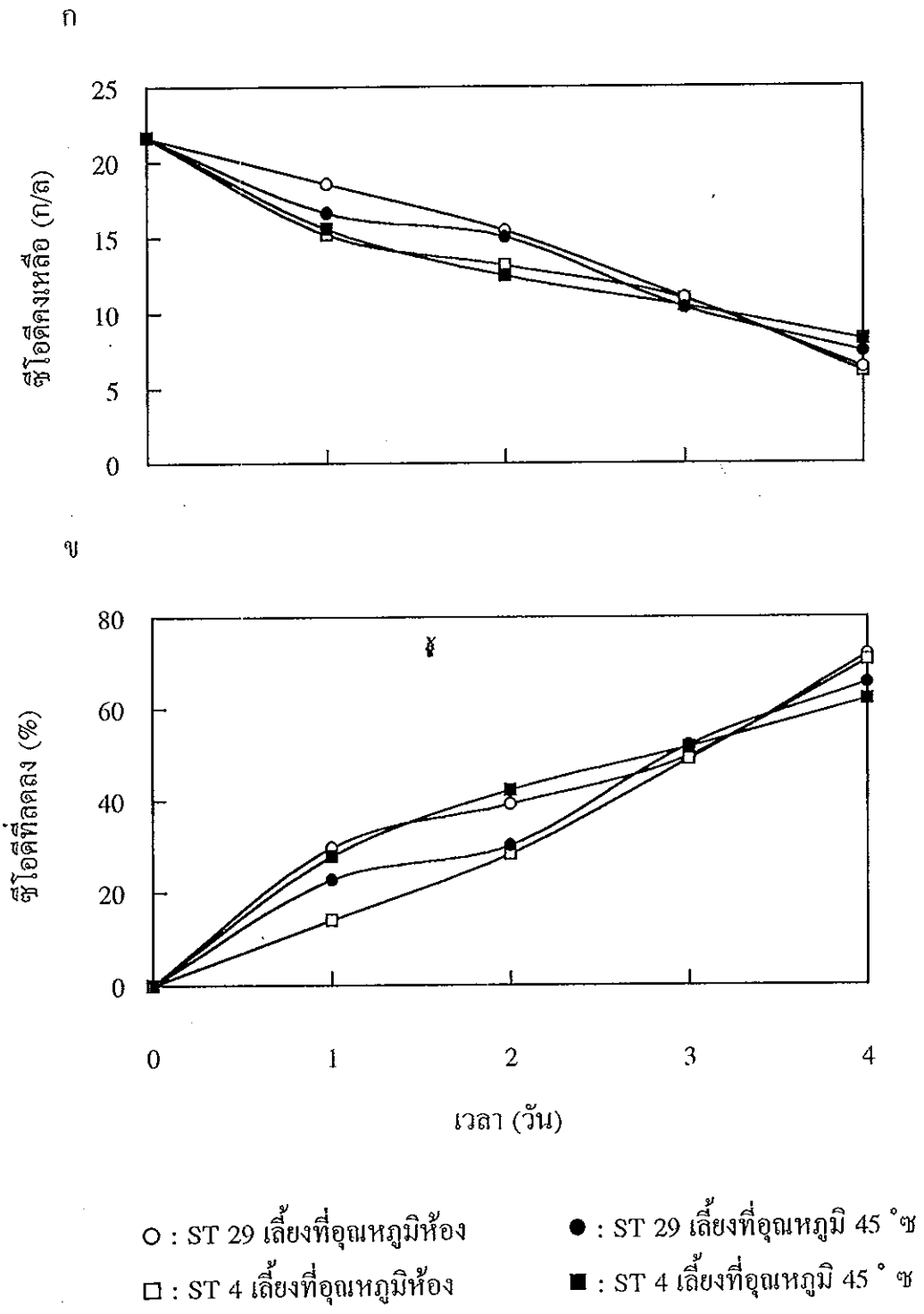
เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์ (วัดในรูปค่าซีโอดี) ของเชื้อ พบว่าหลังจากเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 วัน กลุ่มเชื้อยีสต์คือ *Candida tropicalis* F-129 และ *Candida palmeoliophila* Y-128 สามารถลดค่าซีโอดีลงเหลือประมาณ 26.00 และ 24.00 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 8 ก) หรือสามารถกำจัดได้ร้อยละ 24.24 และ 27.39 ตามลำดับ (รูปที่ 8 ข) โดยวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อ *Candida tropicalis* F-129 สามารถกำจัดซีโอดีได้สูงกว่า (ซีโอดีลดลงร้อยละ 24.91) และหลังจากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย คือมีค่าซีโอดีลดลงอยู่ในช่วงร้อยละ 24.24-25.41 ในขณะที่เชื้อ *Candida palmeoliophila* Y-128 ลดค่าซีโอดีได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบำบัด คือลดลงร้อยละ 14.07 ที่วันแรกของการเลี้ยง และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 17.94, 22.54 และ 27.38 ที่ระยะเวลา 2, 3 และ 4 วัน ตามลำดับ กลุ่มเชื้อราคือ *Aspergillus niger* ATCC 6275 และ *Aspergillus oryzae* สามารถกำจัดซีโอดีได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง โดยพบว่าหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน ค่าซีโอดีลดลงเหลือประมาณ 18.62 และ 16.59 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 8 ก) หรือกำจัดได้ร้อยละ 42.40 และ 48.22 (รูปที่ 8 ข) ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับค่าซีโอดีที่ลดลงร้อยละ 44 และ 95 ที่ระยะเวลา 4 และ 14 วัน ตามลำดับ หลังจากเลี้ยง *Trichoderma viride* ในน้ำทิ้งจากบ่อรวมน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (Karim and Kamil, 1989) แต่เมื่อ Church และคณะ (1973)



รูปที่ 8 ผลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ต่อการกำจัดซีโอดี เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง

นำเชื้อ *Trichoderma viride* ไปบำบัดน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมถั่วและข้าวโพดกระป๋องแบบให้อากาศ พบว่าสามารถลดซีโอดีมากกว่าร้อยละ 95 จากการทดลองนี้ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดซีโอดีของเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ดังกล่าว พบว่าเชื้อ *Aspergillus oryzae* กำจัดซีโอดีได้สูงกว่า คือ ภายในระยะเวลา 2 วัน สามารถกำจัดซีโอดีได้ร้อยละ 40.79 (หรือลดลงประมาณ 18.97 ก/ล) ในขณะที่สายพันธุ์ *Candida tropicalis* F-129, *Candida palmeoliophila* Y-128 และ *Aspergillus niger* ATCC 6275 ซีโอดีลดลงร้อยละ 24.91, 17.94 และ 24.22 ตามลำดับ การที่เชื้อมีความสามารถในการกำจัดซีโอดีได้ต่ำ อาจจะเนื่องมาจากเวลาในการบำบัดน้อยไป ปริมาณสารอาหารไม่เพียงพอ หรือชนิดของสารอาหารไม่เหมาะสมต่อการเจริญ โดยกระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีววิทยาจำเป็นต้องมีค่าซีโอดีต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (COD:N:P) มีค่าเท่ากับ 150:5:1 (เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์, 2536) แต่น้ำทิ้งที่ใช้ในการทดลองนี้มีค่าเท่ากับ 142:2.6:1 จะเห็นว่าค่าไนโตรเจนอยู่ในระดับต่ำทั้งที่มีการเติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 นอกจากนี้ยังมีการเติมในรูปสารไนโตรเจนโดยตรง (N) ใน ปริมาณ 27 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ P_2O_5 13.50 มิลลิกรัมต่อลิตร (Chin and Wong, 1983)

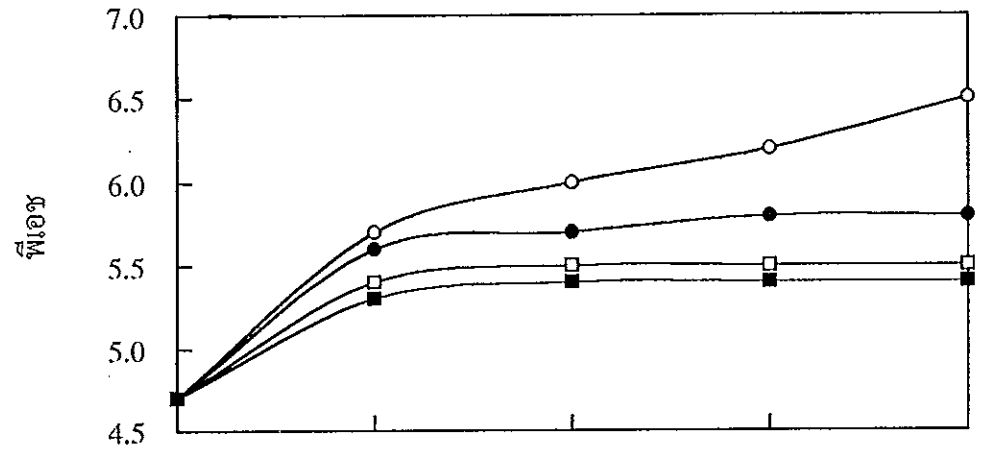
สำหรับกลุ่มเชื้อราทนอุณหภูมิสูง ST 4 และ ST 29 ที่เลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน สามารถลดค่าซีโอดีจากค่าซีโอดีเริ่มต้น 21.64 และ 21.59 กรัมต่อลิตร (ต่ำกว่าผลในข้อที่ 1 เนื่องจากเป็นน้ำทิ้งชุดใหม่) เหลือประมาณ 6.11 และ 6.37 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 9 ก) หรือกำจัดได้ร้อยละ 71.77 และ 70.50 (รูปที่ 9 ข) ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าที่สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส คือร้อยละ 61.97 และ 65.54 (หรือลดลงเหลือประมาณ 8.23 และ 7.44 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) ประสิทธิภาพการบำบัดในสภาวะอุณหภูมิห้องโดยเชื้อราทนอุณหภูมิสูงทั้งสองสายพันธุ์นี้เท่ากับค่าที่ได้จากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูง (55°ซ) ในสภาวะไร้อากาศซึ่งสามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 72 ที่ระยะเวลาการบำบัด 4 วัน ค่าซีโอดีของ Chin และ Wong (1983) ลดลงมากกว่าร้อยละ 90 เมื่อใช้ระยะเวลาการบำบัดเป็น 15 วัน การบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้จุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูง (55°ซ) นิยมบำบัดภายใต้สภาวะไร้อากาศ เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถกำจัดน้ำมันและลดสารอินทรีย์ได้สูงกว่าสภาวะให้อากาศ (Chua and Gian., 1986; Yeoh, 1986; Borja and Banks, 1993) แต่ระยะเวลาในการบำบัดจะนานกว่า จึงจำเป็นต้องใช้การบำบัดแบบให้อากาศ (Quah, *et al.*, 1982; Ibrahim, *et al.*, 1984; Sinnappa, 1979; Wong, *et al.*, 1980)



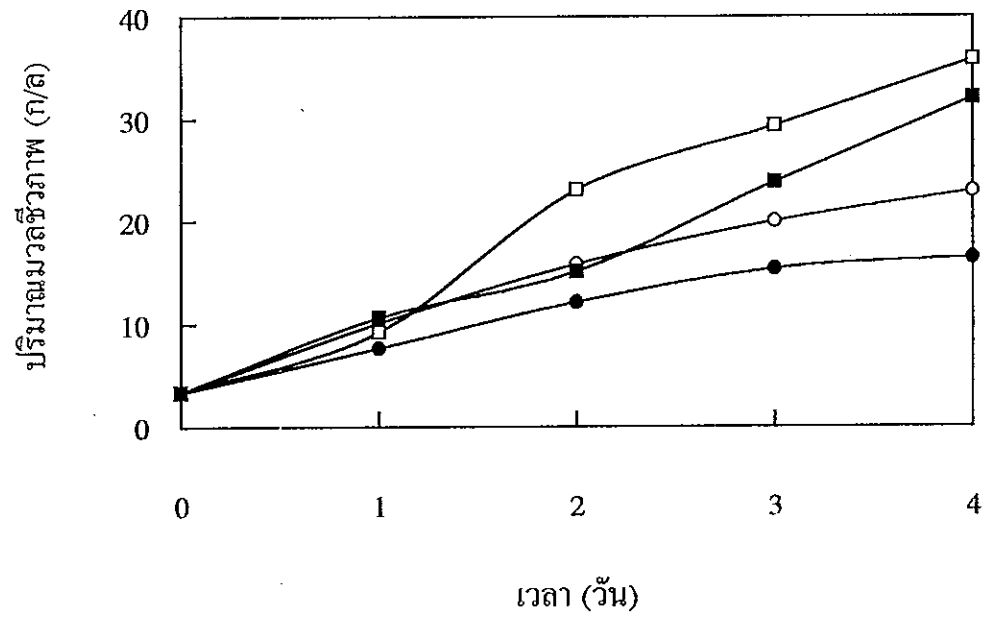
รูปที่ 9 ผลของอุณหภูมิต่อการกำจัดซีโอดีของเชื้อรา ST 4 และ ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

เมื่อศึกษาการเจริญของเชื้อโดยวัดในรูปปริมาณมวลชีวภาพ และการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช พบว่าเชื้อทั้ง 6 สายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีในน้ำทิ้ง และมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันแรกของการเลี้ยง ในกลุ่มเชื้อยีสต์ พีเอชเพิ่มจาก 4.7 เป็น 5.5-5.7 และมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 5.7-6.5 เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน (รูปที่ 10 ก) โดย *Candida tropicalis* F-129 มีพีเอชสูงกว่า คือ 6.5 และได้ปริมาณมวลชีวภาพ 22.93 กรัมต่อลิตร สูงกว่า *Candida palmeoliophila* Y-128 ซึ่งมีพีเอชเท่ากับ 5.7 และได้ปริมาณมวลชีวภาพ 16.39 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 10 ข) ผลจากการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Lee และคณะ (1993) ที่เลี้ยงเชื้อ *Candida tropicalis* F-129 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปาล์มในช่วงร้อยละ 0-5 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ พีเอช 6.0 ปริมาณน้ำมันปาล์มร้อยละ 2 (เท่ากับความเข้มข้นของน้ำมันในน้ำทิ้งที่ใช้ทดลองในครั้งนี้) อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณมวลชีวภาพประมาณ 18.00 กรัมต่อลิตร และยังพบว่า การเพิ่มปริมาณน้ำมันปาล์มจะทำให้ได้ปริมาณมวลชีวภาพเพิ่มขึ้น โดยที่ปริมาณน้ำมันปาล์มสูงสุดในการทดลอง (ร้อยละ 5) ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 35.43 กรัมต่อลิตร สำหรับกลุ่มเชื้อรา พบว่าพีเอชจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในช่วงวันแรกของการเลี้ยงเช่นกัน โดยพีเอชเพิ่มจาก 4.7 เป็น 5.3-5.4 และเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อย (ในช่วง 5.4-5.5) ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 4 วัน (รูปที่ 10 ก) ได้ปริมาณมวลชีวภาพ 35.76 และ 32.07 กรัมต่อลิตร จากการเลี้ยง *Aspergillus niger* และ *Aspergillus oryzae* ตามลำดับ (รูปที่ 10 ข) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ibrahim และ Noor (1991) ที่พบว่าเชื้อ *Aspergillus niger* เจริญได้ดีที่ช่วงพีเอช 4.5-5.5 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปาล์มร้อยละ 1 ได้น้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 24 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 24 ชั่วโมง แต่ Karim และ Kamil (1989) ศึกษาการใช้เชื้อรา *Trichoderma viride* บำบัดน้ำทิ้งรวมของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 พบว่า แม้จะใช้เวลาบำบัดนานกว่า (10 วัน) ก็ยังได้ปริมาณมวลชีวภาพ (1.29 ก/ล) ต่ำกว่าการทดลองนี้ ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากมีการเจือจางน้ำทิ้ง ให้มีซีโอดีเริ่มต้นประมาณ 1,100 กรัมต่อลิตร ก่อนการเลี้ยงเชื้อ แต่ Greenshields (1981) รายงานว่าการเจือจางน้ำทิ้งเป็นสองเท่า เชื้อ *Aspergillus niger* เจริญได้ดีขึ้น และการเติม KH_2PO_4 1.20 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4.7H_2O$ 0.60 กรัมต่อลิตร เชื้อ *Aspergillus oryzae* เจริญให้มวลชีวภาพสูงสุด (40 ก/ล) ภายใน 48 ชั่วโมง (Barker and Worgan, 1981)

ก



ข



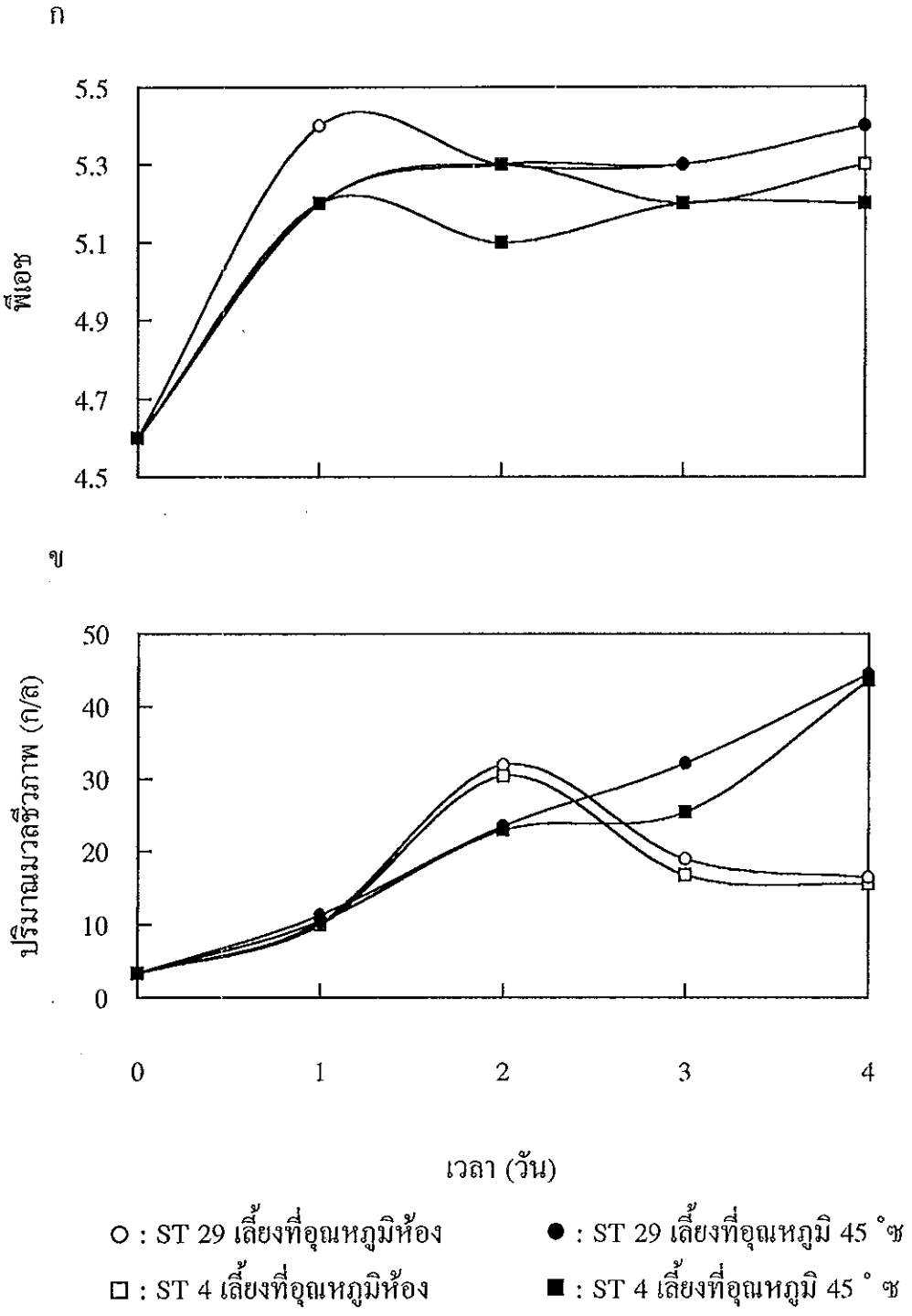
○ : *Candida tropicalis* F-129 ● : *Candida palmeoliophila* Y-128

□ : *Aspergillus niger* ATCC 6275 ■ : *Aspergillus oryzae*

รูปที่ 10 ผลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอช และปริมาณมวลชีวภาพ เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง

สำหรับเชื้อราทนอุณหภูมิสูงทั้งสายพันธุ์ ST 4 และ ST 29 พบว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องและ 45 องศาเซลเซียส พีเอชจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในช่วงวันแรกของการเลี้ยง คือเพิ่มจาก 4.6 เป็น 5.2-5.4 โดยสายพันธุ์ ST 4 ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องและ 45 องศาเซลเซียส และสายพันธุ์ ST 29 ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง มีค่าพีเอชที่ลดและเพิ่มไม่เสมำเสมอในขณะที่สายพันธุ์ ST 29 ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสค่าพีเอชเพิ่มขึ้นตลอดการเลี้ยงและสูงสุดที่เวลา 4 วัน คือ 5.4 (รูปที่ 11 ก) เมื่อพิจารณาถึงการเจริญที่วัดจากปริมาณมวลชีวภาพ พบว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง สายพันธุ์ ST 4 และ ST 29 เจริญได้สูงสุดภายในเวลา 2 วัน ได้ปริมาณมวลชีวภาพ 30.42 และ 31.98 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เชื้อให้ปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 22.96 และ 23.50 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 11 ข) แต่เมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเพิ่มขึ้น พบว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง การเจริญจะลดลงในขณะที่การเลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส การเจริญเพิ่มขึ้น โดยสายพันธุ์ ST 4 และ ST 29 ให้ปริมาณมวลชีวภาพ 43.63 และ 44.56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่ระยะเวลา 4 วัน (รูปที่ 11 ข) จะเห็นว่าการเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิเดียวกัน เชื้อทั้งสองสาย พันธุ์ให้ปริมาณมวลชีวภาพไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ ข4) สาเหตุที่ปริมาณมวลชีวภาพสูงขึ้นเนื่องจากเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง (45°ซ) และที่อุณหภูมิสูงการละลายของน้ำมัน ซึ่งเป็นแหล่งอาหารและพลังงานในการเจริญละลายได้ดีขึ้นเชื้อสามารถใช้ได้ง่ายขึ้น ลักษณะการเจริญของเชื้อจะเกาะกันเป็นก้อนได้ภายในเวลา 2 วัน ปกติการเจริญของเชื้อราในอาหารเหลวเมื่อมีการเขย่า เส้นใยจะรวมกันเป็นกระจุก ส่วนใหญ่จะเป็นเม็ดกลมๆแต่ในการทดลองนี้เส้นใยเกิดการรวมกันเป็นก้อนเดียว และห่อหุ้มตะกอนและน้ำมันบางส่วนที่ย่อยสลายไม่หมดไว้ สามารถเก็บเกี่ยวได้ง่ายโดยไม่จำเป็นต้องผ่านการกรองหรือการหมุนเหวี่ยง

จากการทดลองเบื้องต้น โดยนำน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันจากเชื้อทุกสายพันธุ์มาเลี้ยง *Rhodocyclus gelatinosus* R7 พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 เท่านั้น โดยสังเกตการเจริญของเชื้อจากสีแดงที่ปรากฏลักษณะของน้ำทิ้ง ที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน มีสีน้ำตาลดำ มีความใส ไม่มีตะกอนไม่มีคราบน้ำมันและไม่มีกลิ่นเหม็น นอกจากนี้ จากการสังเกตพบว่า น้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 ซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1- 2 เดือน จะมีการตกตะกอนของสีเกิดขึ้น โดยปรากฏสารละลายใสที่ไม่มีสีในส่วนบนประมาณร้อยละ 50 ของปริมาตร



รูปที่ 11 ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอช และปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อรา ST 4 และ ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ทั้งหมด ดังนั้น จึงเลือกเชื้อราทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ ST 29 เพื่อใช้กำจัดน้ำมันในน้ำทิ้งก่อนที่จะบำบัดต่อด้วยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodocyclus gelatinosus* R7

4. การเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

เลี้ยงแบคทีเรียงสังเคราะห์แสงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันพร้อมทั้งสารอินทรีย์บางส่วนด้วยเชื้อราทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ ST 29 เป็นเวลา 4 วัน ซึ่งมีคุณสมบัติและองค์ประกอบต่างๆของน้ำทิ้งดังกล่าวแสดงในตารางที่ 10 การลดลงนี้จะเปรียบเทียบกับการเลี้ยงเชื้อในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วย สำหรับจุดประสงค์ของการบำบัดขั้นนี้ เพื่อกำจัดสารอินทรีย์บางส่วนที่เหลือจากการบำบัดขั้นตอนแรก และได้เซลล์ของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงเป็นผลพลอยได้

4.1 <u>ผลของพีเอชเริ่มต้นและสภาวะในการเลี้ยง</u>

4.1.1 <u>น้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน</u>

การเลี้ยง *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 (พีเอช 5.35) และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 (พีเอช 8.8) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์) และให้อากาศ-ไร้แสง ได้ผลดังนี้

<u>สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง</u> การเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำแล้ว ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง พบว่าการไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น เชื้อสามารถเจริญได้ ค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเล็กน้อยอยู่ในช่วง 5.5-6.0 (รูปที่ 12 ก) ได้ปริมาณมวลชีวภาพ 1.85 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 12 ข) ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 21.77 (เหลือ 5.75 กรัมต่อลิตร) (รูปที่ 13) เมื่อทำการปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 พบว่าการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้น มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 7.0-7.6 ได้ปริมาณมวลชีวภาพ 2.81 กรัมต่อลิตร เพิ่มขึ้นร้อยละ 34.16 เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ปรับพีเอช ซีโอดีลดลงร้อยละ 53.87 (เหลือ 3.46 กรัมต่อลิตร) ดังนั้นการปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 จึงได้ผลดีกว่าไม่ปรับพีเอช

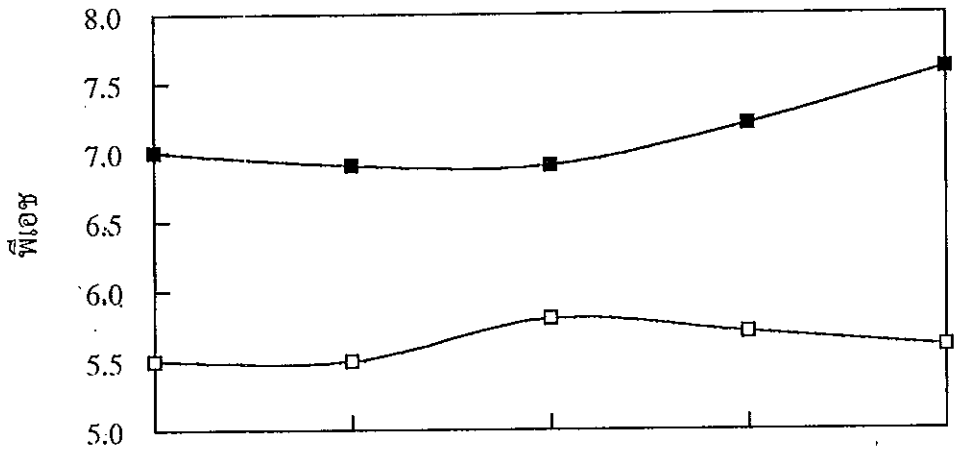
<u>สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง</u> การเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน โดยไม่มีการปรับพีเอชเริ่มต้น ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง เชื้อเจริญได้อย่างรวดเร็ว พีเอชมีค่าสูงสุด (6.9) ที่ระยะเวลา 2 วัน และลดต่ำลง (6.4) ที่ระยะเวลา 4 วัน (รูปที่ 14 ก) ปริมาณมวลชีวภาพเพิ่มขึ้นจาก 0.25 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลา 1 วัน เป็น 0.53 กรัมต่อลิตร ที่

ตารางที่ 10 คุณลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ก่อนและหลังการเลี้ยงเชื้อรา ST 29 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

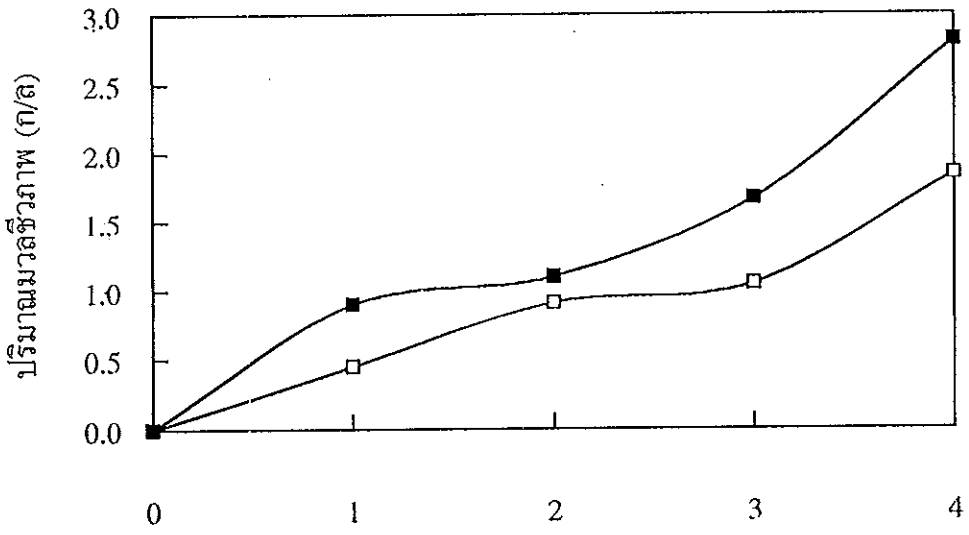
องค์ประกอบ	ก่อนการเลี้ยง	หลังการเลี้ยง	ลดลง (%)
สี	สีน้ำตาล	น้ำตาลดำ	-
พีเอช	4.7	5.4	-
ซีโอดี	21.59	7.44	65.54
น้ำมันและกรีส	22.95	0.08	99.65
ของแข็งทั้งหมด	51.25	24.30	52.59
ของแข็งแขวนลอย	32.40	0.50	98.46
ไนโตรเจน	1.02	0.62	39.22
ฟอสฟอรัส	0.28	0.07	75.00

หมายเหตุ ทุกค่ามีหน่วยเป็น กรัมต่อลิตร ยกเว้นสีและพีเอช

ก

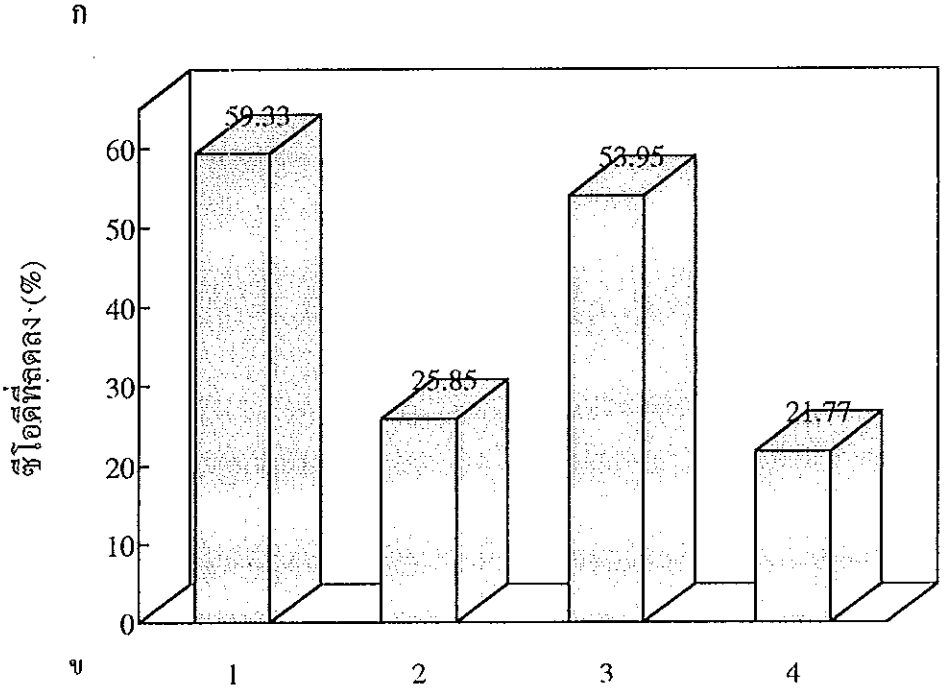


ข



■ : ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 □ : ไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น

รูปที่ 12 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์)



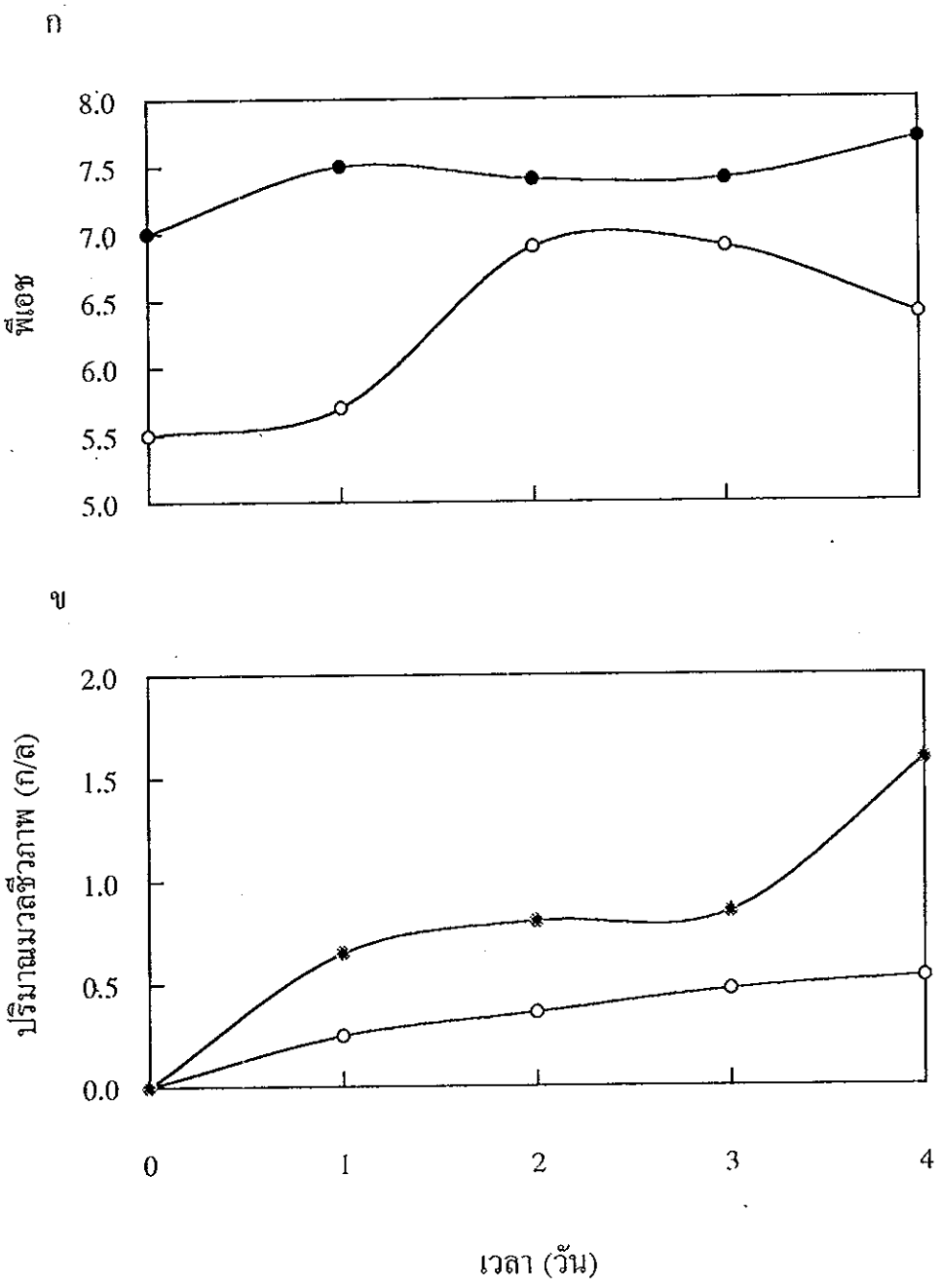
1 : ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง

2 : ไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง

3 : ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะ ไร้อากาศ-ให้แสง

4 : ไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง

รูปที่ 13 ผลของพีเอชเริ่มต้นและสภาวะการเลี้ยงต่อค่าซีโอดีที่ลดลงของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 เป็นเวลา 4 วัน



รูปที่ 14 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อราทนอุณหภูมิสูงST 29 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง

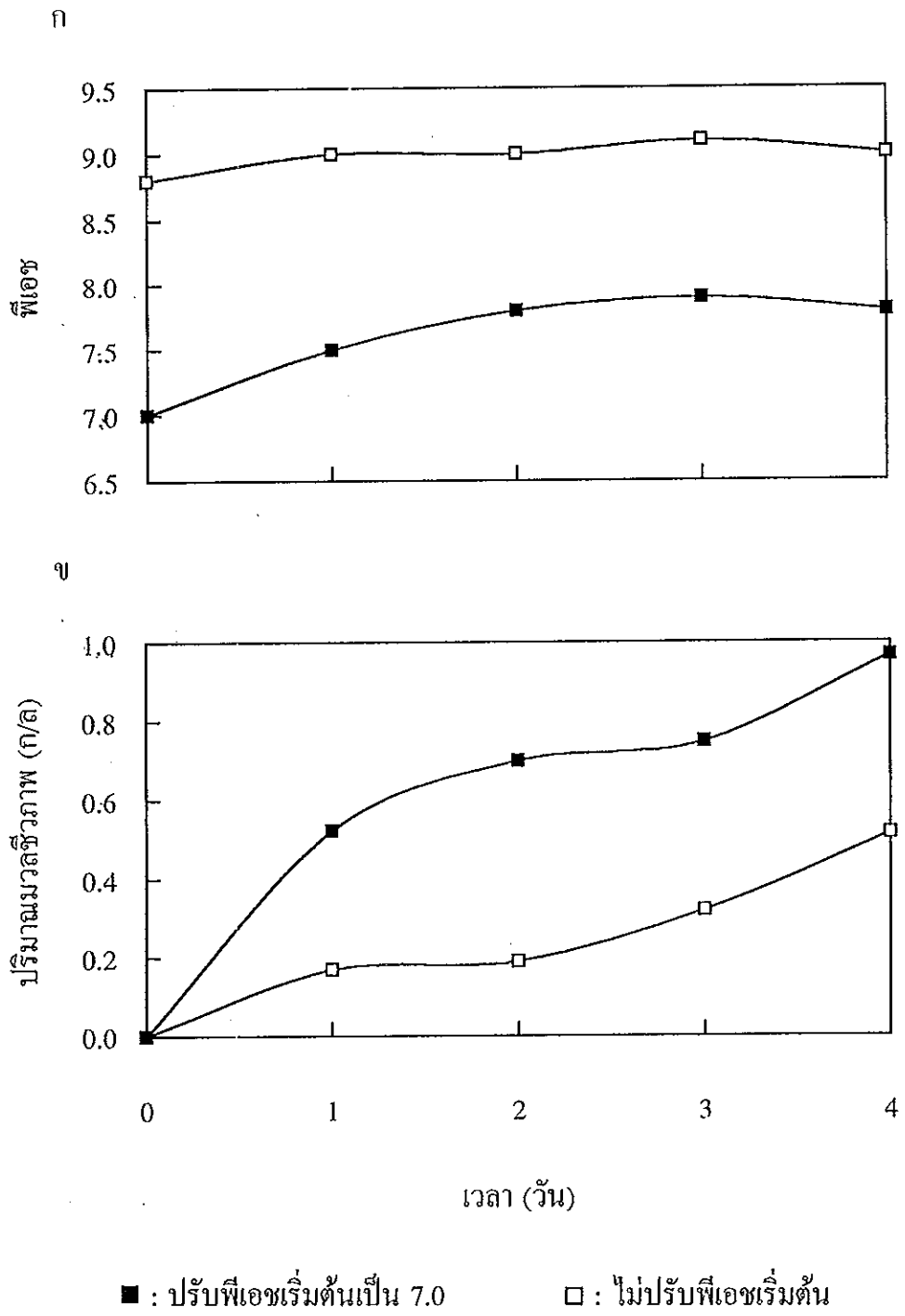
ที่ระยะเวลา 4 วัน (รูปที่ 14 ข) ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 25.85 (จาก 7.35 ก/ล เหลือ 5.45 ก/ล) (รูปที่ 13) และเมื่อทำการปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 พบว่าเชื้อมีการเจริญให้ปริมาณมวลชีวภาพเพิ่มขึ้นตลอดการเลี้ยง และเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง 4 วัน ได้ปริมาณมวลชีวภาพ 1.59 กรัมต่อลิตร หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 66.73 เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น ค่าพีเอชอยู่ในช่วง 7.0-7.7 ซีโอดีลดลงร้อยละ 59.33 (เหลือ 3.05 กรัมต่อลิตร)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสภาวะการเลี้ยงแบบให้อากาศ-ไร้แสงกับสภาวะไร้อากาศ-ให้แสง พบว่าเชื้อเจริญได้ดีกว่าในสภาวะไร้อากาศ-ให้แสง ทั้งที่มีการปรับและไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ ข5) และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงขึ้น แต่ไม่ได้ศึกษาต่อ เพราะการทดลองขั้นตอนต่อไป (ข้อ 5) จะศึกษาจนถึงระยะเวลาที่เชื้อเจริญสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์ พบว่าประสิทธิภาพในการลดค่าซีโอดีสูงขึ้นเมื่อทำการปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 และเลี้ยงภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง คือลดลงร้อยละ 59.33 ในขณะที่การเลี้ยงภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง ซีโอดีลดลงร้อยละ 53.95

4.1.2 <u>น้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3</u>

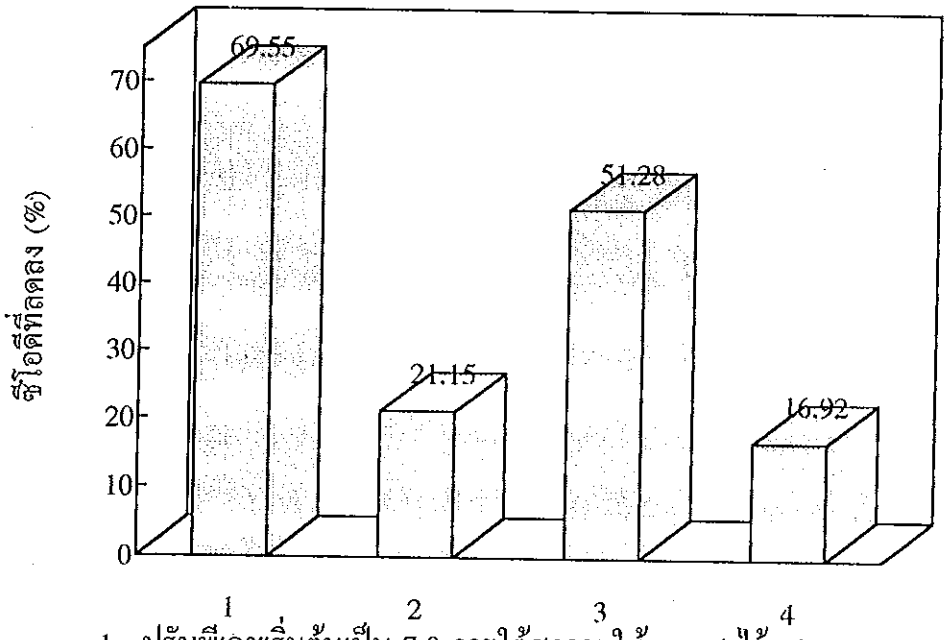
<u>สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง</u> การเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 พบว่าการปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 เชื้อเจริญได้อย่างรวดเร็วภายในวันแรกของการเลี้ยงเชื้อ และเพิ่มขึ้นตลอดการเลี้ยง ได้ปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 0.52, 0.70, 0.75 และ 0.97 กรัมต่อลิตร และมีค่าพีเอชเท่ากับ 7.5, 7.8, 7.9 และ 7.8 ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 วัน ตามลำดับ (รูปที่ 15) เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงที่ 4 วัน สามารถกำจัดซีโอดีได้ร้อยละ 51.28 (รูปที่ 16) ในขณะที่สภาวะไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น (พีเอช 8.8) การเจริญเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง แต่อยู่ในระดับต่ำกว่าค่าที่ได้จากสภาวะที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้น มีพีเอชอยู่ในช่วง 9.0-9.1 ได้ปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 0.17, 0.19, 0.32 และ 0.52 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 วัน ตามลำดับ ค่าซีโอดีลดลงเพียงเล็กน้อย คือร้อยละ 16.92 ที่เวลาการเลี้ยง 4 วัน

<u>สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง</u> จากการศึกษาพบว่าในสภาวะที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 เชื้อเจริญเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันแรกของการเลี้ยง ค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 8.6 (รูปที่ 17 ก) และได้ปริมาณมวลชีวภาพ 0.41 กรัมต่อลิตร และพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 8.8, 9.0 และ 9.1 ได้ปริมาณมวลชีวภาพ เท่ากับ 0.41, 0.44 และ 0.50 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 2, 3 และ 4



รูปที่ 15 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์)

ก



1 : ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง

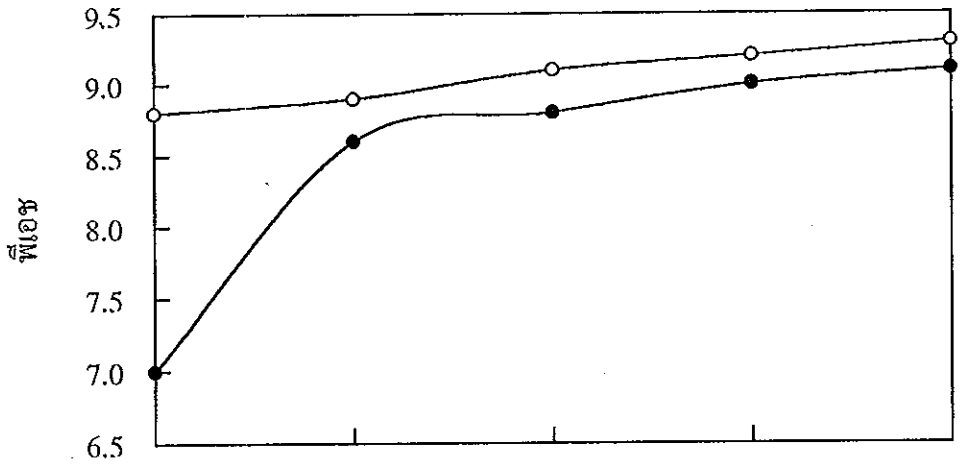
2 : ไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง

3 : ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง

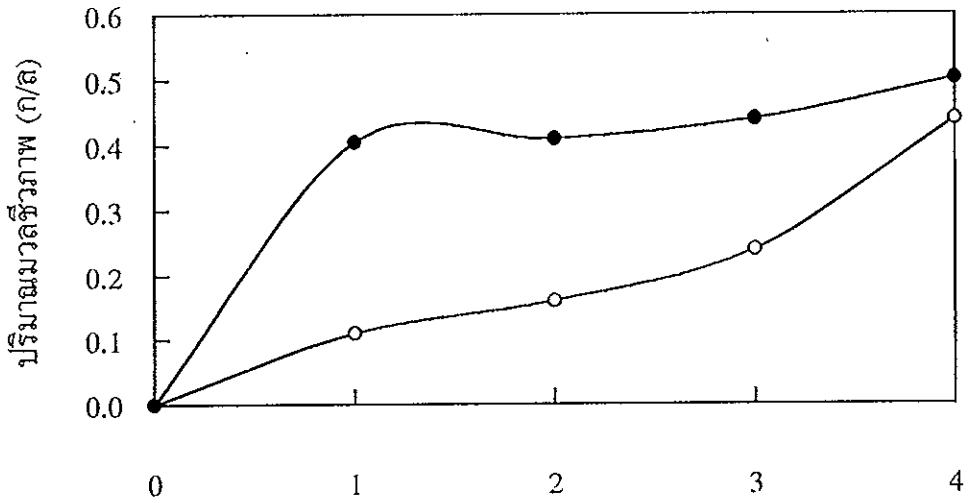
4 : ไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง

รูปที่ 16 ผลของพีเอชเริ่มต้นและสภาวะการเลี้ยงต่อค่าซีโอดีที่ลดลงของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เป็นเวลา 4 วัน

ก



ข



● : ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ○ : ไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น

รูปที่ 17 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง

วัน ตามลำดับ (รูปที่ 17 ข) เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงที่ 4 วันค่าซีโอดีได้ลดลงร้อยละ 69.17 (รูปที่ 16) ในขณะที่สภาวะไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น (พีเอช 8.82) การเจริญของเชื้อค่อยๆเพิ่มขึ้น มีพีเอช 8.9, 9.1, 9.2 และ 9.3 ได้ปริมาณมวลชีวภาพเพิ่มขึ้นเป็น 0.11, 0.16, 0.24 และ 0.44 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ 4 วัน ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงที่ 4 วัน ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 21.15 จะเห็นว่าที่ 4 วัน เมื่อเปรียบเทียบปริมาณมวลชีวภาพที่ได้จากการปรับพีเอชเริ่มต้น ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสงกับการไม่ปรับพีเอชเริ่มต้นภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ ข5) คือมีค่าเท่ากับ 0.50 และ 0.52 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

จากการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งทั้งสองแหล่งที่มีการปรับและไม่ปรับพีเอชเริ่มต้นทั้งสภาวะไร้อากาศ-ให้แสง และสภาวะให้อากาศ-ไร้แสง พบว่าเชื้อเจริญได้ดีในน้ำทิ้งที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 และเลี้ยงเชื้อภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานอื่นๆ (Pfennig, 1967; Shipman, *et al.*, 1977; Sasaki and Nagai, 1979; สุวิทย์ สุวรรณโณ, 2535) นอกจากนี้การเจริญของเชื้อในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันมาแล้วจะดีกว่าในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$) ยกเว้นในสภาวะให้อากาศ-ไร้แสงของน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันที่ไม่ปรับพีเอชเริ่มต้น กับน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ที่ปรับพีเอชเริ่มต้น ให้ปริมาณมวลชีวภาพไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ ข6) โดยได้ปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 0.53 และ 0.50 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

4.2 <u>ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน (COD:N)</u>

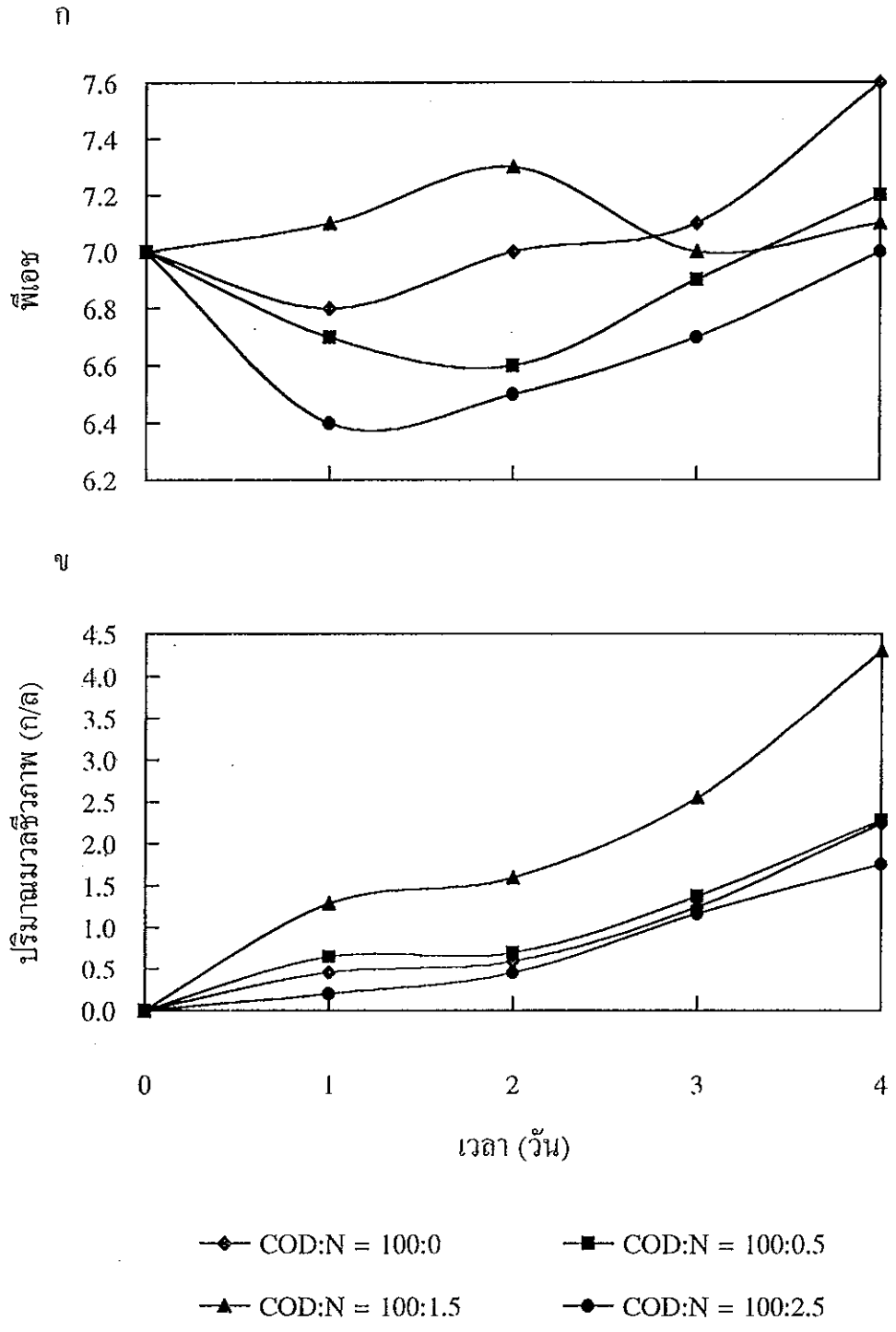
การเติมไนโตรเจนในรูปสารประกอบ $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับ COD:N เท่ากับ 100:0 100:0.5 100:1.5 และ 100:2.5 หรือระดับความเข้มข้นของไนโตรเจนร้อยละ 0, 0.5, 1.5, และ 2.5 ของค่าซีโอดีเริ่มต้นของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อราทนอุณหภูมิสูง ST 29 (ซีโอดี 7.44 ก/ล จากตารางที่ 10) และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 (ซีโอดี 1.35 ก/ล จากตารางที่ 8) ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 เลี้ยงเชื้อภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง และให้อากาศ-ไร้แสง

4.2.1 <u>น้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน</u>

<u>สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง</u> จากการเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารประกอบไนโตรเจนในอัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:0, 100:0.5, 100:1.5 และ 100:2.5 พบว่าเชื้อมีการเจริญ

เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาของการเลี้ยง โดยที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:1.5 เชื้อเจริญได้ดีกว่าที่อัตราส่วนอื่นๆ และในช่วง 2 วันแรกของการเลี้ยง ค่าพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 7.0 เป็น 7.3 และลดลง เป็น 7.0 และ 7.1 ที่เวลา 3 และ 4 วัน ตามลำดับ (รูปที่ 18 ก) ในขณะที่อัตราส่วนอื่นๆจะลดลงต่ำกว่า 7.0 หรืออยู่ในช่วง 6.4-6.9 ในวันแรก และเพิ่มสูงขึ้นอยู่ในช่วง 6.9-7.6 ที่ 4 วัน และที่อัตราส่วน 100:1.5 เชื้อมีการเจริญให้ปริมาณมวลชีวภาพสูงว่าที่อัตราส่วนอื่นๆเช่นกัน และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ ข9) คือได้ปริมาณมวลชีวภาพเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงที่ 4 วัน เท่ากับ 4.30 กรัมต่อลิตร ในขณะที่อัตราส่วน 100:0, 100:0.5 และ 100:2.5 ได้ปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 2.25, 2.29 และ 1.76 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 18 ข) ดังนั้นอัตราส่วนที่ 100:1.5 จัดเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ และสอดคล้องกับปริมาณไนโตรเจนที่ลดลงสูงสุด (ลดลงร้อยละ 20.63) ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:1.5 เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 11) หรือปริมาณไนโตรเจนถูกใช้ไปร้อยละ 1.44, 3.52, 20.63 และ 12.00 เมื่อเทียบกับค่าไนโตรเจนก่อนการเลี้ยงเชื้อคือ 0.625, 0.710, 0.882 และ 1.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีความแตกต่างจากอัตราส่วน COD:N อื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวก ข9) ในขณะที่ปริมาณฟอสฟอรัสเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง 4 วัน ปริมาณฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นจาก 0.073, 0.077, 0.084 และ 0.092 กรัมต่อลิตร เป็น 0.094, 0.099, 0.114 และ 0.094 กรัมต่อลิตร ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:0, 100:0.5, 100:1.5 และ 100:2.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 11) เหตุที่ปริมาณฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นอาจจะเนื่องจากใช้การวิเคราะห์โดยการวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดจากการใส่สารแอมโมเนียมโมลิบเดท (ammonium molybdate) ลงไปในน้ำทิ้งเกิดเป็นสีฟ้า การวิเคราะห์วิธีนี้ (Strickland and Parson, 1972) จัดเป็นการวัดปริมาณฟอสฟอรัสในรูปของ orthophosphate ซึ่งในระบบบำบัดน้ำเสียโดยทั่วๆไป ฟอสฟอรัสทั้งที่อยู่ในรูป polyphosphate และ orthophosphate จะถูกเปลี่ยนสภาพไปเป็นสารประกอบ orthophosphate ซึ่งเป็นรูปที่มีปริมาณมากกว่าอยู่ในรูปอื่นโดยเฉพาะน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดทางชีวภาพในขั้นต้น (เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์, 2536)

สำหรับการกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งพบว่าความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์ (ซีโอดี) จะลดลงตามอัตราส่วน COD:N ที่เพิ่มขึ้น คือซีโอดีลดลงร้อยละ 52.12, 40.55, 38.10 และ 36.80 ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:0, 100:0.5, 100:1.5 และ 100:2.5ตามลำดับ (ตารางที่ 11)



รูปที่ 18 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณเมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยง ในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อ ST 29 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์)

ตารางที่ 11 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อ ST 29 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์) เป็นเวลา 4 วัน

COD:N	ซีโอดี เริ่มต้น	ซีโอดี หลังเลี้ยงเชื้อ	ซีโอดี ที่ลดลง (%)	ไนโตรเจน เริ่มต้น	ไนโตรเจน หลังเลี้ยงเชื้อ	ไนโตรเจน ที่ลดลง (%)	ฟอสฟอรัส เริ่มต้น	ฟอสฟอรัส หลังเลี้ยงเชื้อ	ฟอสฟอรัส ที่ลดลง (%)
100:0	7.063	3.640	52.12	0.625	0.616	1.44	0.073	0.094	-
100:0.5	7.974	4.802	40.55	0.710	0.658	3.52	0.077	0.099	-
100:1.5	8.157	5.05	38.10	0.882	0.760	20.63	0.084	0.114	-
100:2.5	8.238	5.206	36.80	1.050	0.924	12.00	0.092	0.094	-

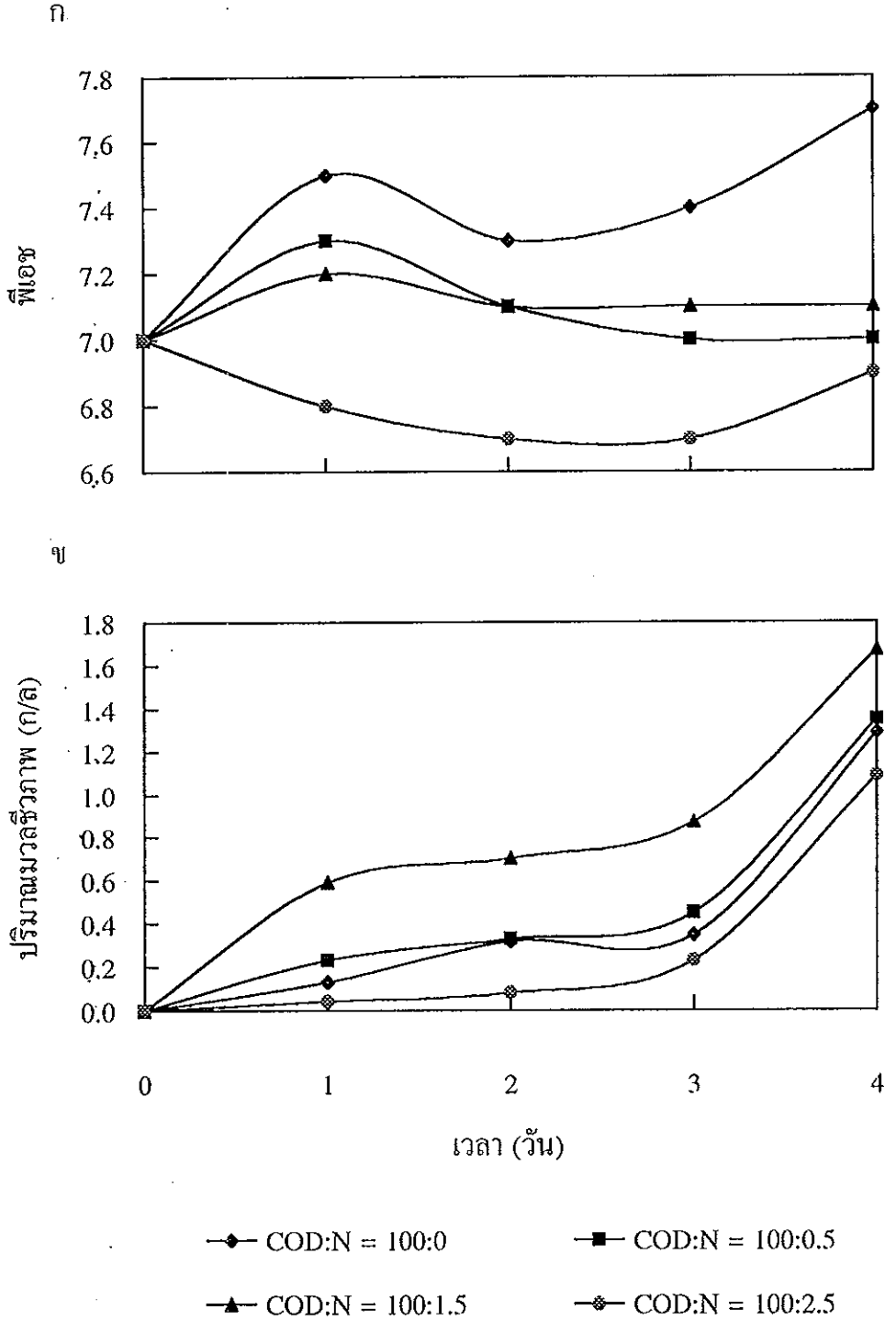
หมายเหตุ ทุกค่ามีหน่วยเป็น ก/ล ยกเว้นค่าร้อยละที่ลดลง

ใช้ไนโตรเจนในรูปของสารประกอบ $(NH_4)_2 HPO_4$

- ค่าติดลบ

สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง แนวโน้มการเจริญของเชื้อเป็นไปในทำนองเดียวกับการเลี้ยงภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง คือเชื้อเจริญและให้ปริมาณมวลชีวภาพสูงสุด (1.67 ก/ล) ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:1.5 รองลงไปคือที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:0, 100:0.5, 100:2.5 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณมวลชีวภาพที่ได้ต่ำกว่าการเลี้ยงในสภาวะไร้อากาศ-ให้แสง คือมีค่า 0.59, 0.70, 0.87 และ 1.67 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 1, 2, 3 และ4 วัน ตามลำดับ (รูปที่ 19 ข) ในขณะที่อัตราส่วน 100:0, 100:0.5 และ 100:2.5 ให้ปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 1.29, 1.35 และ 1.09 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 4 วัน และค่าพีเอชสุดท้ายเท่ากับ 7.7, 7.0 และ 6.9 ตามลำดับ (รูปที่ 19 ก) ความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน จะตรงกัน ข้ามกับผลที่ได้จากการเลี้ยงภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง คือ เมื่ออัตราส่วน COD:N สูงขึ้น การกำจัดสารอินทรีย์ (ซีโอดี) จะสูงขึ้น ไนโตรเจนที่ถูกใช้ไปมีค่าสูงขึ้น โดยค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 59.12, 60.32, 65.33 และ 71.45 ตามลำดับ ไนโตรเจนถูกใช้ไปร้อยละ 1.44, 3.38, 7.94 และ 25.33 (หรือมีไนโตรเจนคงเหลือเท่ากับ 0.616, 0.686, 0.812 และ 0.784 กรัมต่อลิตร) จะเห็นว่าถูกใช้ไปน้อยมาก ปกติไนโตรเจนเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ แต่จะใช้ในปริมาณที่น้อย และการที่ธาตุไนโตรเจนอยู่ในรูปที่แตกต่างกันเช่น N_2, NH_3, NH_4^+, NO_2^-, NO_3^-, ยูเรีย และแอมโมเนียม (เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์, 2536) มีผลต่อการที่จุลินทรีย์จะนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญ สารอินทรีย์ไนโตรเจนจะไม่มีประโยชน์จนกว่าได้ถูกย่อยสลายอยู่ในรูป alkanolamine และกรดอะมิโน จึงควรเติมในรูป $(NH_4)_2SO_4$, NH_4HPO_4 หรือ NH_4NO_3 (Symons, *et al.*, 1960) ส่วนฟอสฟอรัสถูกใช้ไปร้อยละ 15.07, 6.49, 5.95 และ 22.34 (หรือคงเหลือเท่ากับ 0.062, 0.072, 0.079 และ 0.073 กรัมต่อลิตร) ที่อัตราส่วน 100:0, 00:0.5 และ 100:2.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

จากการศึกษาอัตราส่วน COD:N ที่ระดับต่างๆในสภาวะไร้อากาศ-ให้แสง และให้อากาศ-ไร้แสง พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีที่สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:1.5 และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ ข9) อัตราส่วนของไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการ เลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสงเท่ากับ 100:0.5 โดยน้ำหนัก เมื่อใช้ $(NH_4)_2SO_4$ และ $(NH_4)_2CO_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจน (Morikawa, *et. al.*, 1971) การกำจัดซีโอดีและการใช้ไนโตรเจน



รูปที่ 19 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง

ตารางที่ 12 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อ ST 29 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง (เขย่าความเร็ว 250 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 4 วัน

COD:N	ซีโอดี เริ่มต้น	ซีโอดี หลังเลี้ยงเชื้อ	ซีโอดี ที่ลดลง (%)	ไนโตรเจน เริ่มต้น	ไนโตรเจน หลังเลี้ยงเชื้อ	ไนโตรเจน ที่ลดลง (%)	ฟอสฟอรัส เริ่มต้น	ฟอสฟอรัส หลังเลี้ยงเชื้อ	ฟอสฟอรัส ที่ลดลง (%)
100:0	7.603	3.108	59.12	0.625	0.616	1.44	0.073	0.062	15.07
100:0.5	7.974	3.164	60.32	0.71	0.686	2.4	0.077	0.072	6.49
100:1.5	8.157	2.828	65.33	0.882	0.812	7.94	0.084	0.079	5.95
100:2.5	8.238	2.352	71.45	1.050	0.784	25.33	0.092	0.073	22.34

หมายเหตุ ทุกค่ามีหน่วยเป็น ก/ล ยกเว้นค่าร้อยละที่ลดลง

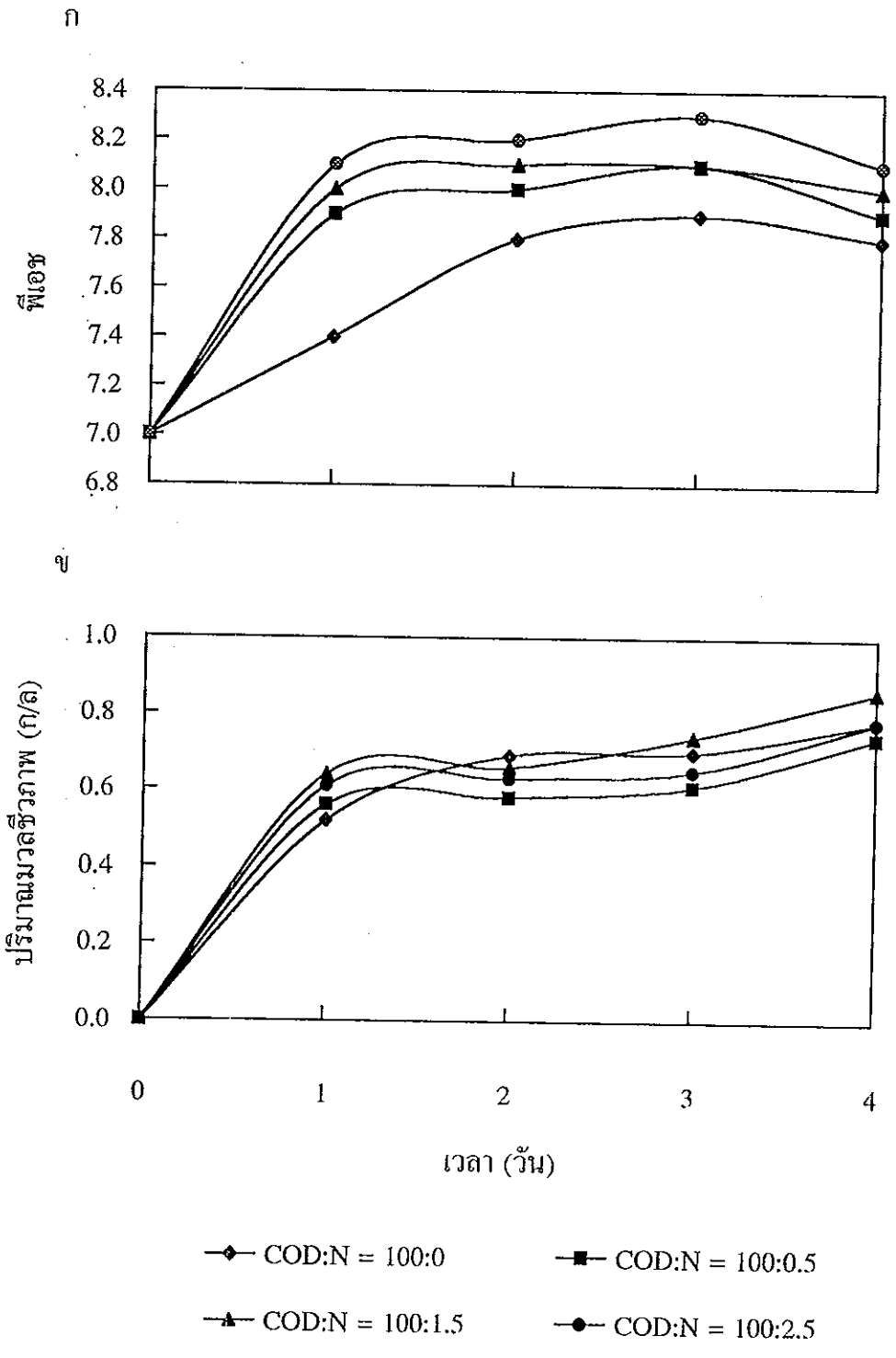
ใช้ไนโตรเจนในรูปของสารประกอบ $(NH_4)_2 HPO_4$

เหลือหลังจากเลี้ยงในสภาวะไร้อากาศ-ให้แสง สูงกว่าในสภาวะให้อากาศ-ไร้แสง เนื่องจากที่สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง เชื้อสามารถตรึงไนโตรเจน และใช้ไนโตรเจนจากกระบวนการสังเคราะห์แสงได้ (Gest and Kamen, 1949; Kobayashi and Haque, 1971) จึงไม่จำเป็นต้องเติมให้อีก ส่วนความสามารถในการลดค่าฟอสฟอรัสจะเกิดได้ดีที่สภาวะให้อากาศ-ไร้แสงที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:2.5

4.2.2 น้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3

สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง เชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันแรกของการเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของค่าซีโอดีที่ลดลง โดยที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:1.5 เชื้อเจริญให้ปริมาณมวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 0.858 กรัมต่อลิตร หลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 4 วัน (รูปที่ 20 ข) รองลงไปตามลำดับคือที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:0, 100:2.5 และ 100:0.5 ที่ 4 วัน ให้ปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 0.78, 0.78 และ 0.74 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีค่าพีเอชเท่ากับ 8.1, 7.8 และ 7.9 ตามลำดับ (รูปที่ 20 ก) สำหรับการกำจัดสารอินทรีย์ พบว่าเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อ (4 วัน) ค่าซีโอดีลดลงสูงสุด (ร้อยละ 52.63) ในสภาวะที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน รองลงไปคือ ที่อัตราส่วน 100:2.5, 100:1.5 และ 100:0.5 โดยซีโอดีลดลงร้อยละ 48.56, 44.58 และ 41.46 ตามลำดับ (ตารางที่ 13) สำหรับปริมาณไนโตรเจน พบว่าที่อัตราส่วน 100:2.5 ปริมาณไนโตรเจนถูกใช้ไปสูงสุดร้อยละ 61.58 รองลงไปคือ ที่อัตราส่วน 100:1.5, 100:0.5 และ 100:0 คือลดลงร้อยละ 46.55, 40.57 และ 35.06 ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณของฟอสฟอรัสถูกใช้ไปร้อยละ 3.85, 5.45, 9.52 และ 15.49 ตามลำดับ คือมีค่าเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วน COD:N ที่เพิ่มขึ้น

สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง การเจริญของเชื้อภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสงต่ำกว่าการเลี้ยงในสภาวะไร้อากาศ-ให้แสง เชื้อเจริญอย่างรวดเร็วภายในวันแรกของการเลี้ยงให้ปริมาณมวลชีวภาพในวันที่ 2 ของการเลี้ยงมีค่าเท่ากับ 0.53, 0.46, 0.44 และ 0.43 กรัมต่อลิตร ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:0, 100:0.5, 100:1.5 และ 100:2.5 ตามลำดับ (รูปที่ 21 ข) เมื่ออัตราส่วน COD:N สูงขึ้น การเจริญของเชื้อลดลงเล็กน้อย ได้ปริมาณมวลชีวภาพเท่ากับ 0.28, 0.27, 0.27 และ 0.26 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 4 วัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ ข9) ในขณะที่ค่าพีเอชไม่เปลี่ยนแปลง



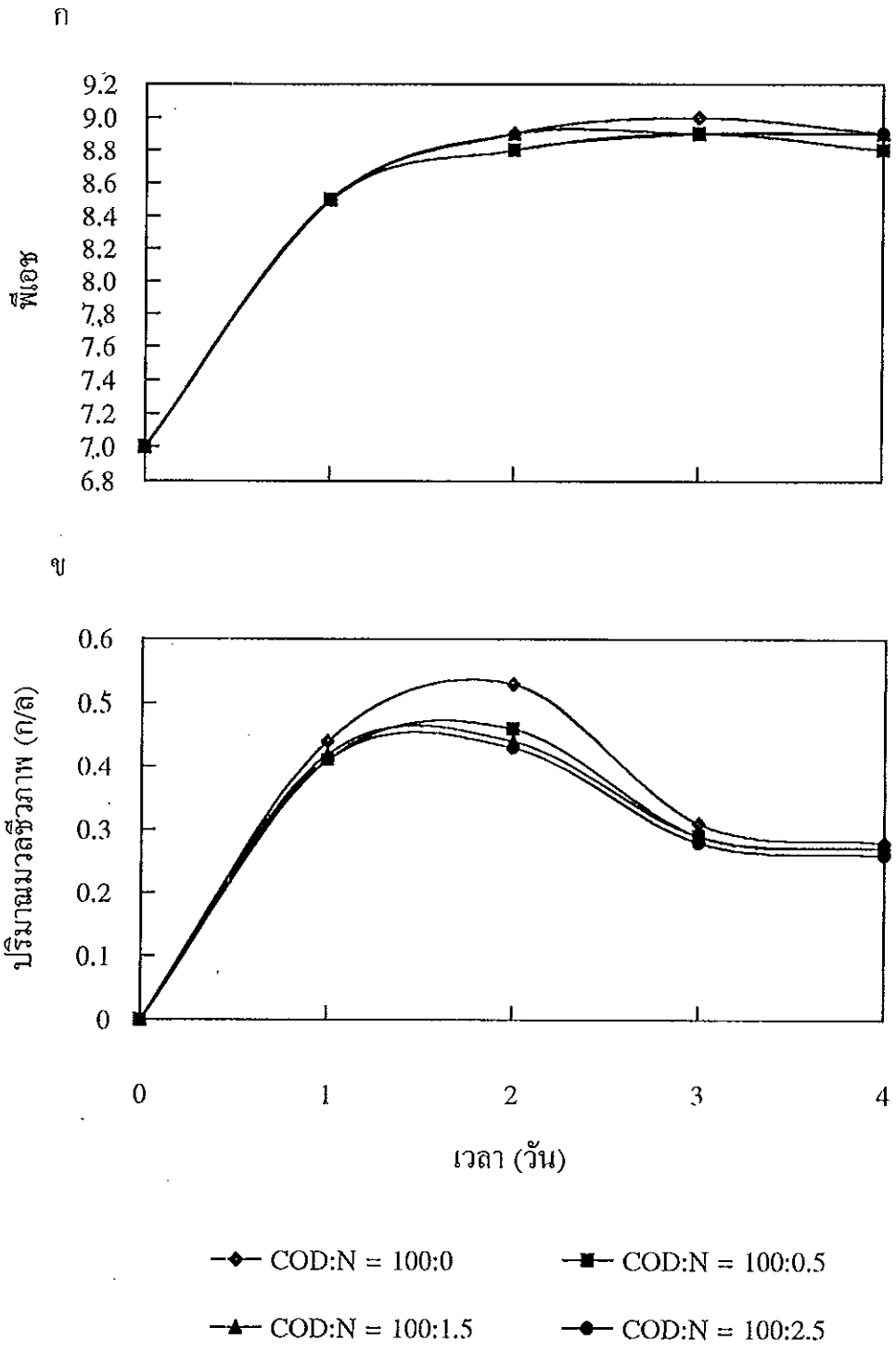
รูปที่ 20 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์)

ตารางที่ 13 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์) เป็นเวลา 4 วัน

COD:N	ซีโอดี เริ่มต้น	ซีโอดี หลังเลี้ยงเชื้อ	ซีโอดี ที่ลดลง (%)	ไนโตรเจน เริ่มต้น	ไนโตรเจน หลังเลี้ยงเชื้อ	ไนโตรเจน ที่ลดลง (%)	ฟอสฟอรัส เริ่มต้น	ฟอสฟอรัส หลังเลี้ยงเชื้อ	ฟอสฟอรัส ที่ลดลง (%)
100:0	1.368	0.648	52.63	0.385	0.250	35.06	0.052	0.050	3.85
100:0.5	1.476	0.864	41.46	0.424	0.252	40.57	0.055	0.052	5.45
100:1.5	1.624	0.900	44.58	0.550	0.294	46.55	0.063	0.057	9.52
100:2.5	1.944	1.000	48.56	0.583	0.224	61.58	0.071	0.060	15.49

หมายเหตุ ทุกค่ามีหน่วยเป็น ก/ล ยกเว้นค่าร้อยละที่ลดลง

ใช้ไนโตรเจนในรูปของสารประกอบ $(NH_4)_2 HPO_4$



รูปที่ 21 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบำบ่อที่ 3 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง

(รูปที่ 21 ก) การกำจัดสารอินทรีย์ลดลงเมื่ออัตราส่วนของไนโตรเจนสูงขึ้น คือมีค่าซีโอดีที่ลดลงร้อยละ 73.68, 65.85, 64.53 และ 62.96 ตามลำดับ (ตารางที่ 14) ไนโตรเจนถูกใช้ไปร้อยละ 38.18, 37.26, 59.27 และ 56.78 ตามลำดับ ในขณะที่ค่าฟอสฟอรัสถูกใช้ไปร้อยละ 9.62, 12.73, 22.22 และ 28.17 ตามลำดับ

จากการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งทั้งสองแหล่งที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 พบว่าการเลี้ยงในน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นด้วยเชื้อรา ST 29 เชื้อ สามารถเจริญได้ดีกว่าการเลี้ยงในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ทั้งสภาวะไร้อากาศ-ให้แสง และให้อากาศ-ไร้แสงเป็นเพราะน้ำทิ้งทีผ่านการกำจัดน้ำมันแล้ว มีองค์ประกอบหรือสารอินทรีย์ (ซีโอดี) ที่เชื้อจะใช้ในการเจริญสูงกว่าในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 การเติมไนโตรเจน [$(NH_4)_2HPO_4$] ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:1.5 มีผลให้เชื้อเจริญได้ดีกว่าที่อัตราส่วน 100:0, 100:0.5 และ 100:2.5 อย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $P<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ ข10) ทั้งสองสภาวะแสดงว่าอัตราส่วน COD:N ที่เหมาะสมมีค่าเท่ากับ 100:1.5 สำหรับประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์ พบว่าการเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งทั้งสองแหล่งภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์สูงกว่าการเลี้ยงภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง และมีค่าซีโอดีลดลงสูงสุดร้อยละ 73.68 ของน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ที่ไม่เติมไนโตรเจน และรองลงมาร้อยละ 71.45 ของน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:2.5

ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้น้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อราทนอุณหภูมิสูง ST 29 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 และเติมปริมาณไนโตรเจน [$(NH_4)_2HPO_4$] ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:1.5 ซึ่งเป็นสภาวะที่เชื้อเจริญสูงสุดและสามารถลดค่าซีโอดีได้มากกว่าร้อยละ 60

จากการบำบัดน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มทั้งระบบตั้งแต่ขั้นแรกที่กำจัดน้ำมันด้วยเชื้อราทนอุณหภูมิสูง และบำบัดต่อด้วยแบคทีเรียสังเคราะห์แสงได้คุณลักษณะของน้ำทิ้งดังตารางที่ 15

ตารางที่ 14 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจนที่มีผลต่อการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง (เขย่าความเร็ว 250 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 4 วัน

COD:N	ซีโอดี เริ่มต้น	ซีโอดี หลังเลี้ยงเชื้อ	ซีโอดี ที่ลดลง (%)	ไนโตรเจน เริ่มต้น	ไนโตรเจน หลังเลี้ยงเชื้อ	ไนโตรเจน ที่ลดลง (%)	ฟอสฟอรัส เริ่มต้น	ฟอสฟอรัส หลังเลี้ยงเชื้อ	ฟอสฟอรัส ที่ลดลง (%)
100:0	1.368	0.260	73.88	0.385	0.238	38.18	0.052	0.047	9.62
100:0.5	1.476	0.304	65.85	0.424	0.266	37.26	0.055	0.048	12.73
100:1.5	1.624	0.576	64.53	0.550	0.224	59.27	0.063	0.049	22.22
100:2.5	1.944	0.720	62.96	0.583	0.252	56.78	0.071	0.051	28.17

หมายเหตุ ทุกค่ามีหน่วยเป็น ก/ล ยกเว้นค่าร้อยละที่ลดลง

ใช้ไนโตรเจนในรูปของสารประกอบ $(NH_4)_2 HPO_4$

ตารางที่ 15 คุณลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อราทนอุณหภูมิสูง ST 29 และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodocyclus gelatinosus* R7

องค์ประกอบ	น้ำทิ้งจากเครื่อง	เลี้ยงเชื้อ ST 29		สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง [1]		สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง [1]	
	Decanter	หลังเลี้ยง 4 วัน	ลดลง (%)	หลังเลี้ยง 4 วัน	ลดลง (%)	หลังเลี้ยง 4 วัน	ลดลง (%)
สี	สีน้ำตาล	น้ำตาลดำ	-	น้ำตาลคล้ำ	-	น้ำตาลคล้ำ	-
พีเอช	4.7	5.4	-	7.1	-	7.1	-
ซีโอดี	21.59	7.44	65.54	5.05	38.10	2.83	65.33
น้ำมันและกรีส	22.95	0.08	99.65	-	-	-	-
ของแข็งทั้งหมด	51.25	24.30	52.59	-	-	-	-
ของแข็งแขวนลอย	32.40	0.50	98.46	-	-	-	-
ไนโตรเจน	1.02	0.62	39.22	0.70	20.63	0.81	7.94
ฟอสฟอรัส	0.28	0.07	75.00	0.11	-	0.08	5.95
ปริมาณมวลชีวภาพ	-	44.56	-	4.30	-	1.67	-

หมายเหตุ ทุกค่ามีหน่วยเป็น กรัมต่อลิตร ยกเว้นสี พีเอช และค่าร้อยละ

[1] เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อราทนอุณหภูมิสูง ST 29

- ไม่วิเคราะห์ หรือนำมาพิจารณา

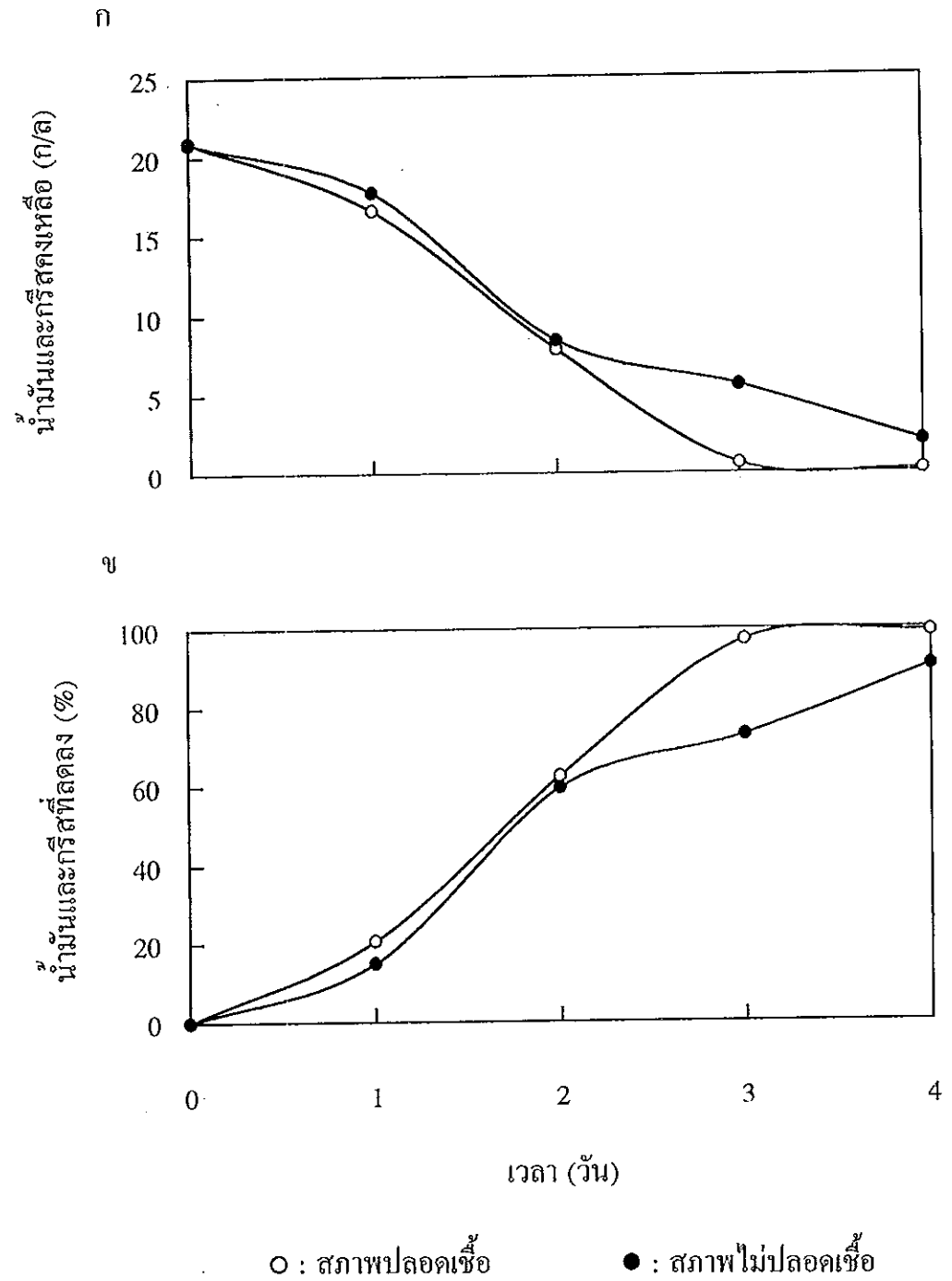
5. การบำบัดน้ำทิ้งด้วยเชื้อราและแบคทีเรียสังเคราะห์แสงภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และไม่ปลอดเชื้อ

5.1 การบำบัดด้วยเชื้อราทนอุณหภูมิสูง ST 29

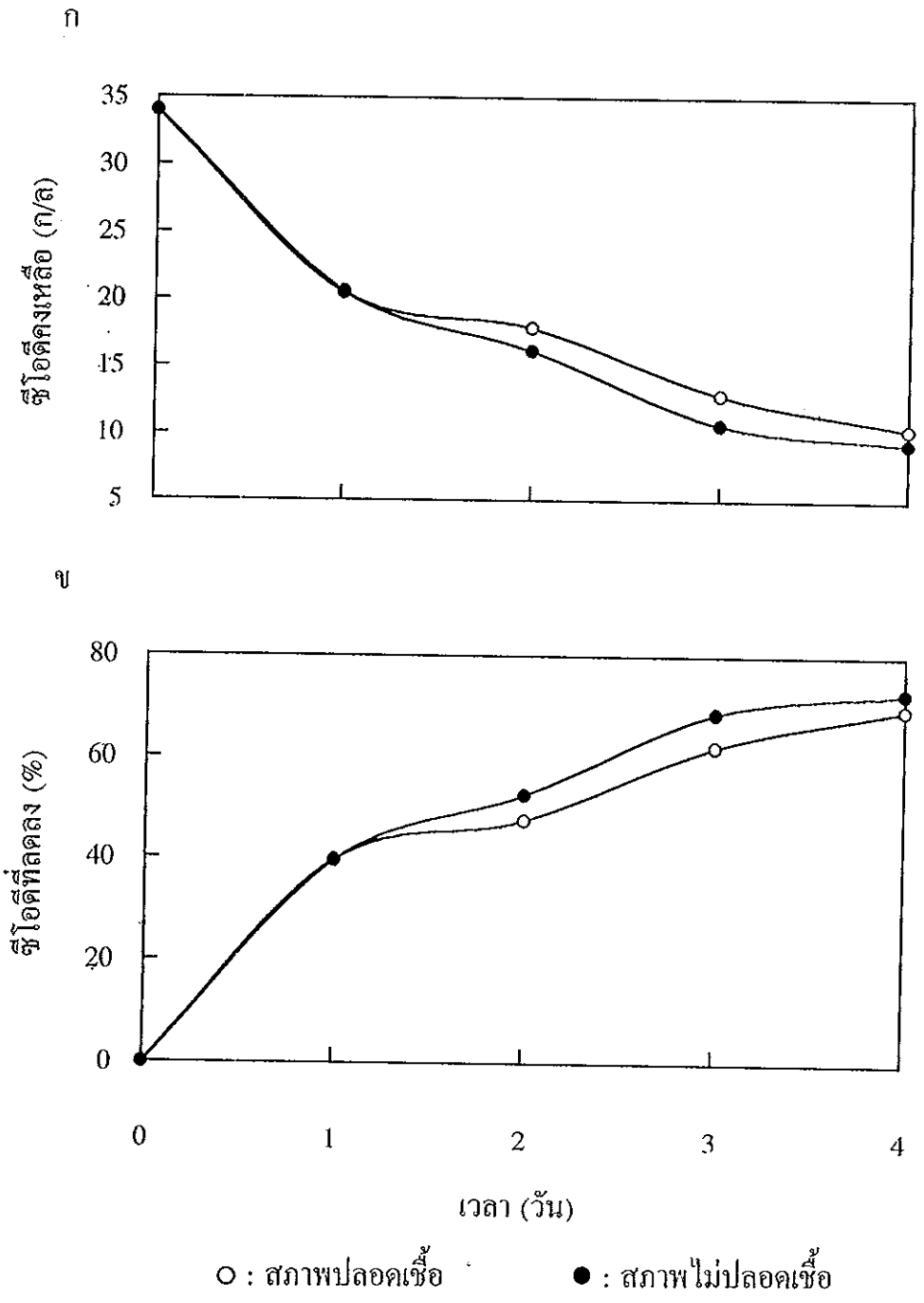
จากการเลี้ยงเชื้อราทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ ST 29 ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (สภาพปลอดเชื้อ) และการใช้น้ำทิ้งที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ (สภาพไม่ปลอดเชื้อ) เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าหลังการเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน การเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ เชื้อมีการเจริญและให้ประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและกรีสสูงใกล้เคียงกับการทดลองขั้นต้น (ผลในข้อ 3) คือน้ำมันและกรีสลดลงร้อยละ 99.04 (ลดลงจาก 20.90 กรัมต่อลิตรเหลือ 0.20 กรัมต่อลิตร) (รูปที่ 22) ซีโอดีลดลงร้อยละ 69.49 (ลดลงจาก 34.02 กรัมต่อลิตร เหลือ 10.38 กรัมต่อลิตร) (รูปที่ 23) พีเอชสุดท้าย 5.4 ได้ปริมาณมวลชีวภาพ 48.19 กรัมต่อลิตร ส่วนในสภาพไม่ปลอดเชื้อน้ำมันและกรีสลดลงร้อยละ 90.30 (ลดลงจาก 20.83 เหลือ 2.02 ก/ล) พีเอชสุดท้าย 6.3 ได้ปริมาณมวลชีวภาพ 44.87 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 24) จะเห็นว่าการเจริญของเชื้อราในสภาวะไม่ปลอดเชื้อจะต่ำกว่าในสภาวะปลอดเชื้อ แต่ประสิทธิภาพในการกำจัดสารอินทรีย์จะสูงกว่าการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ คือซีโอดีลดลงร้อยละ 72.73 (ค่าลดลงเหลือ 9.28 ก/ล)

5.2 การบำบัดน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน ด้วยแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

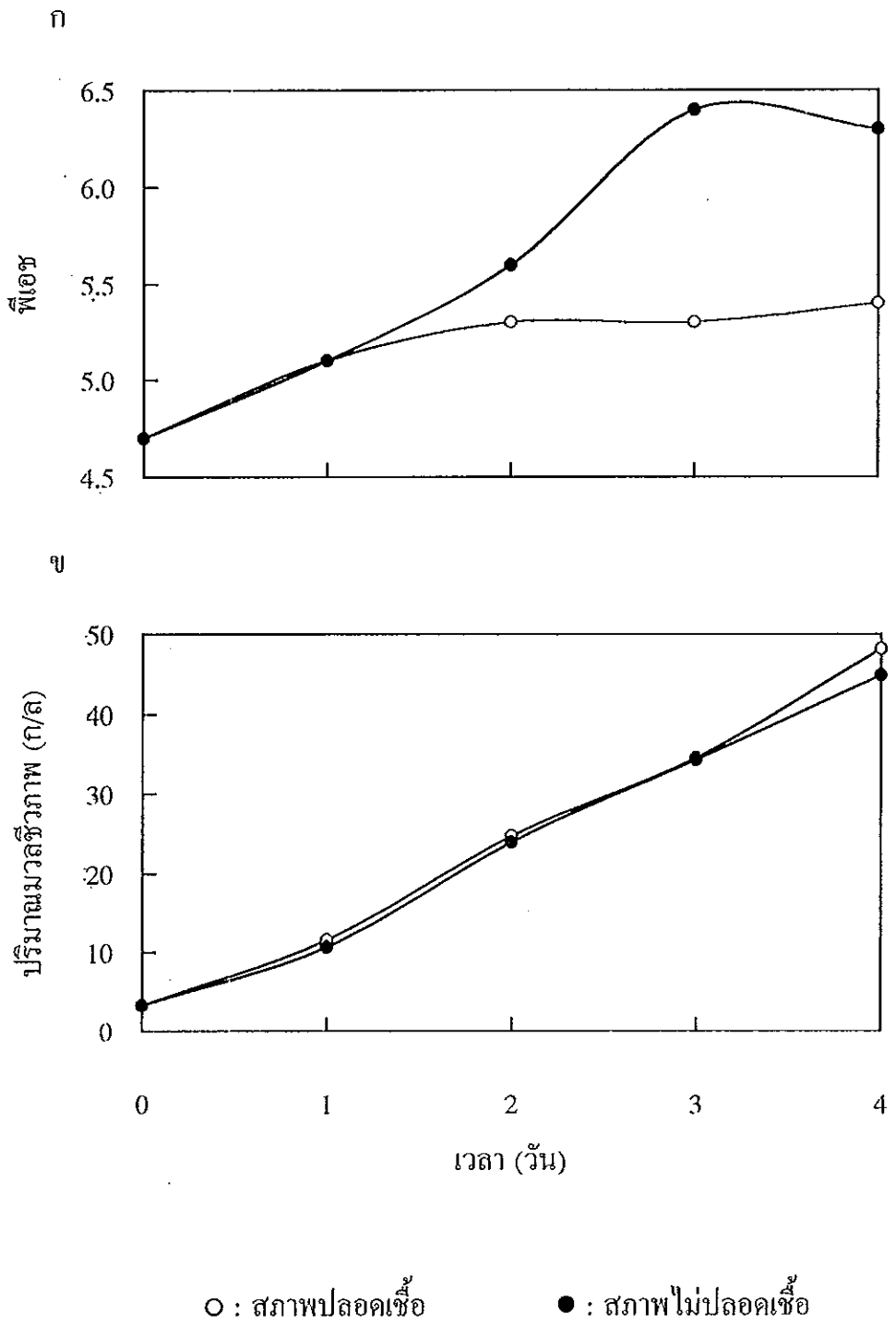
หลังจากผ่านการกำจัดน้ำมันด้วยเชื้อราทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ ST 29 ภายใต้สภาพปลอดเชื้อและสภาพไม่ปลอดเชื้อ นำน้ำทิ้งที่ได้มาเหวี่ยงเอาเซลล์ และตะกอนแขวนลอยต่างๆออก ปรับพีเอชเป็น 7.0 เติมไนโตรเจน [$(NH_4)_2HPO_4$] ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:1.5 และเลี้ยง *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในสภาพปลอดเชื้อและไม่ปลอดเชื้อ โดยมีชุดเปรียบเทียบแต่ละสภาพที่ไม่เติมเชื้อลงไป พบว่าการเลี้ยงทั้งสองสภาพดังกล่าวเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง (10 วัน) และเจริญสูงสุดในวันที่ 8 โดยในสภาพปลอดเชื้อ และไม่ปลอดเชื้อได้ปริมาณมวลชีวภาพ 2.87 และ 2.69 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ชุดเปรียบเทียบทั้งสองสภาพ ไม่มีการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากไม่มีการเจริญของเชื้อ ค่าพีเอชของการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และไม่ปลอดเชื้อเท่ากับ 7.4 และ 7.5 ในขณะที่ชุดเปรียบเทียบมีค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 และ 7.1 ตามลำดับ (รูปที่ 25) ค่าซีโอดีลดลงได้ดีในสภาพไม่ปลอดเชื้อ คือลดลงร้อยละ 60.78 (ลดลงจาก 10.20 ก/ล เหลือ 4.00 ก/ล) และ



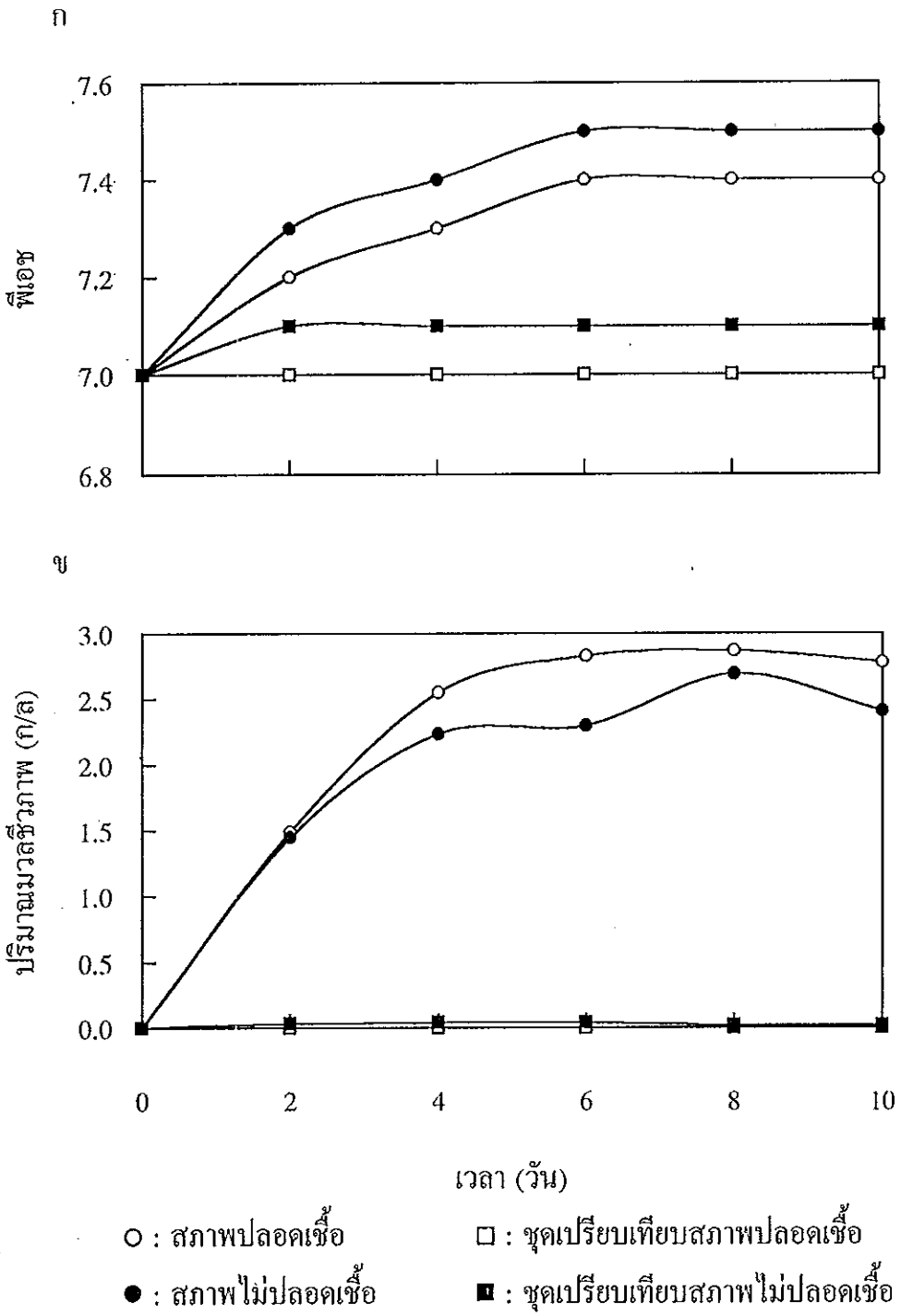
รูปที่ 22 ผลของสภาพการเลี้ยงต่อการกำจัดน้ำมันและกรีสของเชื้อรา ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส



รูปที่ 23 ผลของสภาพการเลี้ยงต่อการกำจัดซีโอดีของเชื้อ ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

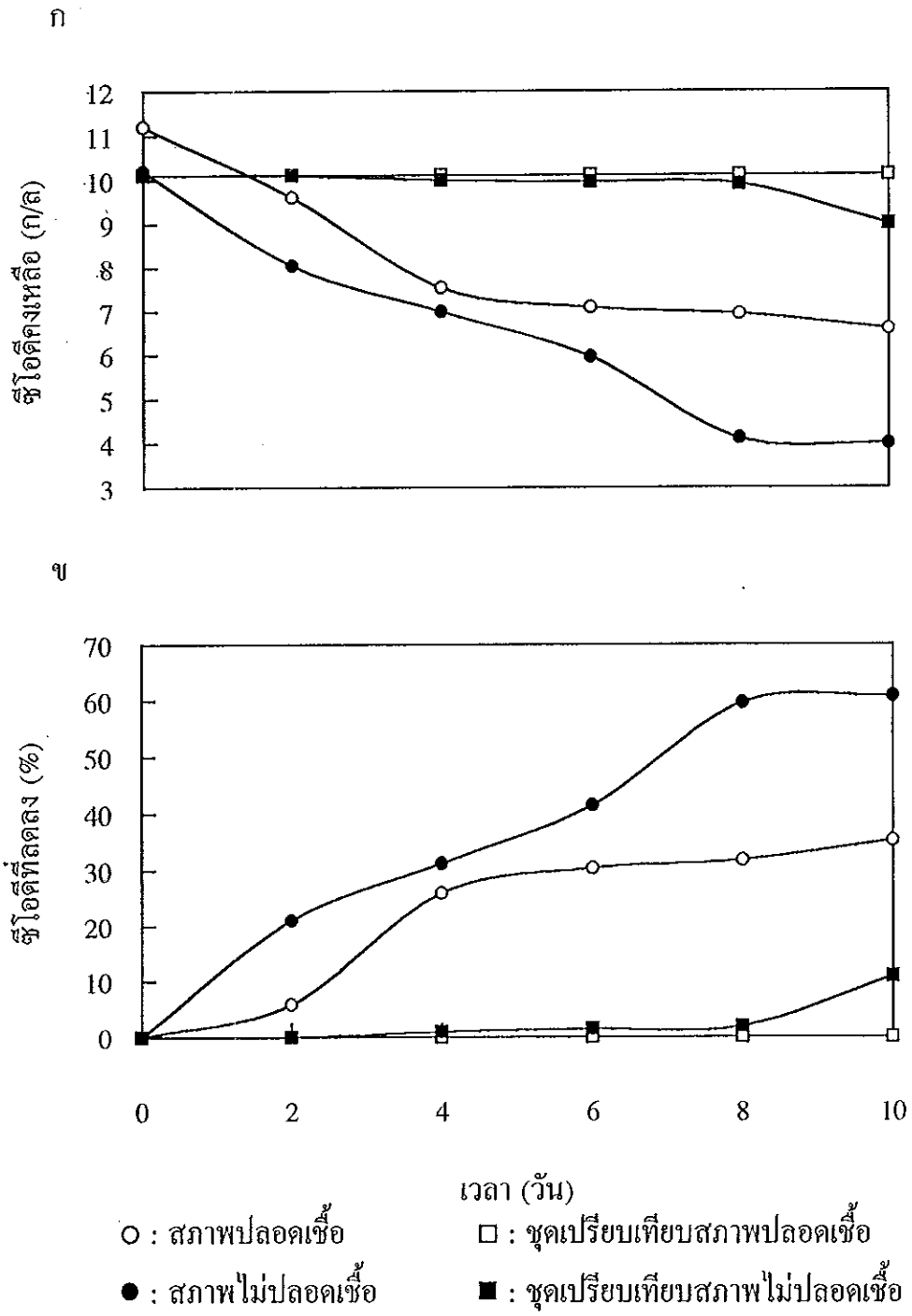


รูปที่ 24 ผลของสภาพการเลี้ยงต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อรา ST 29 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส



รูปที่ 25 ผลของสภาพการเลี้ยงต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชและปริมาณมวลชีวภาพของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 เติมไนโตรเจน [$(NH_4)_2HPO_4$)] 100:1.5 (COD:N) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์)

ในสภาพปลอดเชื้อ ซีโอดีลดลงเท่ากับร้อยละ 41.07 (ลดจาก 11.20 เหลือ 6.60 ก/ล) (รูปที่ 26) ส่วนชุดเปรียบเทียบพบว่า ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 10.89 (คงเหลือประมาณ 9.00 ก/ล) ในสภาพไม่ปลอดเชื้อ ในขณะที่สภาวะปลอดเชื้อค่าซีโอดีไม่มีการเปลี่ยนแปลง ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากสภาพไม่ปลอดเชื้อและไม่เติมเชื้อ (*Rhodocyclus gelatinosus* R7) อาจมีเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ ST 29 ที่หลงเหลืออยู่ และจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นที่เจริญในน้ำทิ้งตามธรรมชาติ มีการใช้สารอินทรีย์ไปบางส่วน ทำให้ค่าซีโอดีลดลง สำหรับค่าไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของน้ำทิ้งที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อในสภาพไม่ปลอดเชื้อ มีค่าเท่ากับ 0.52, 0.71 กรัมต่อลิตร ที่เลี้ยงเชื้อในสภาพปลอดเชื้อมีค่าเท่ากับ 0.72, 0.80 กรัมต่อลิตร ตามลำดับดับที่ระยะเวลาการเลี้ยง 8 วัน (เชื้อเจริญสูงสุด) และการเลี้ยงเชื้อทั้งสองสภาพ ให้เซลล์ที่มีโปรตีนร้อยละ 29-30



รูปที่ 26 ผลของสภาพการเลี้ยงต่อการกำจัดซีโอดีของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 เติมไนโตรเจน [$(NH_4)_2HPO_4$)] 100:1.5 (COD:N) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์)

บทที่ 4

สรุป

1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พบว่าน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter มีค่าเฉลี่ยดังนี้ พีเอช 4.7 ซีโอดี 35.50 กรัมต่อลิตร น้ำมันและกรีส 24.90 กรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด และของแข็งแขวนลอย เท่ากับ 53.03 และ 33.10 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีแร่ธาตุต่างๆได้แก่ ไนโตรเจน 0.90 กรัมต่อลิตร ฟอสฟอรัส 0.25 กรัมต่อลิตร โปแทสเซียม 4.14 กรัมต่อลิตร แคลเซียม 0.39 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียม 0.63 กรัมต่อลิตร

ส่วนน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 มีค่าต่างๆโดยเฉลี่ยดังนี้ พีเอช 8.8 ซีโอดี 1.35 กรัมต่อลิตร น้ำมันและกรีส 0.27 กรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด และของแข็งแขวนลอยเท่ากับ 3.08 และ 0.61 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ไนโตรเจน 0.40 กรัมต่อลิตร ฟอสฟอรัส 0.05 กรัมต่อลิตร โปแทสเซียม 1.44 กรัมต่อลิตร แคลเซียม 0.10 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียม 0.20 กรัมต่อลิตร

2. การคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ทนอุณหภูมิสูง (45 องศาเซลเซียส) จำนวน 13 สายพันธุ์ พบว่ามีเพียง 6 สายพันธุ์ที่สามารถใช้น้ำมันในการทดสอบบนอาหารแข็ง และคัดเลือกได้เชื้อราสายพันธุ์ ST 4 และ ST 29 สำหรับการทดสอบในขั้นต่อไป

3. จากการเปรียบเทียบการกำจัดน้ำมันในน้ำทิ้งโดยยีสต์ (*Candida tropicalis* F-129 และ *Candida palmeoliophila* Y-128) รา (*Aspergillus niger* ATCC 6275 และ *Aspergillus oryzae*) และเชื้อราทนอุณหภูมิสูงที่คัดเลือกไว้ (ST 4 และ ST 29) พบว่าเชื้อ ST 29 ซึ่งเลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สามารถกำจัดน้ำมันได้สูงสุด (ร้อยละ 99.65) ได้ปริมาณมวลชีวภาพ 44.56 กรัมต่อลิตร น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดมีคุณสมบัติดังนี้ คือ มีสีน้ำตาลดำ ไม่มีคราบน้ำมัน พีเอช 5.4 ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 65.54 (เหลือ 7.44 ก/ล) ของแข็งทั้งหมด และของแข็งแขวนลอย ลดลงร้อยละ 52.59 และ 98.46 ตามลำดับ ปริมาณไนโตรเจน และ

ฟอสฟอรัสลดลงร้อยละ 39.22 และ 75.00 ตามลำดับ (เหลือ 0.62 และ 0.70 มก/ล ตามลำดับ) หลังการเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน

4. การเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมัน

เมื่อบำบัดน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน (พีเอช 5.4) และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (พีเอช 8.8) ด้วย *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์) และให้อากาศ-ไร้แสง (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 250 รอบต่อนาที) ได้ผลดังนี้

4.1 ผลของพีเอชและสภาวะการเลี้ยง

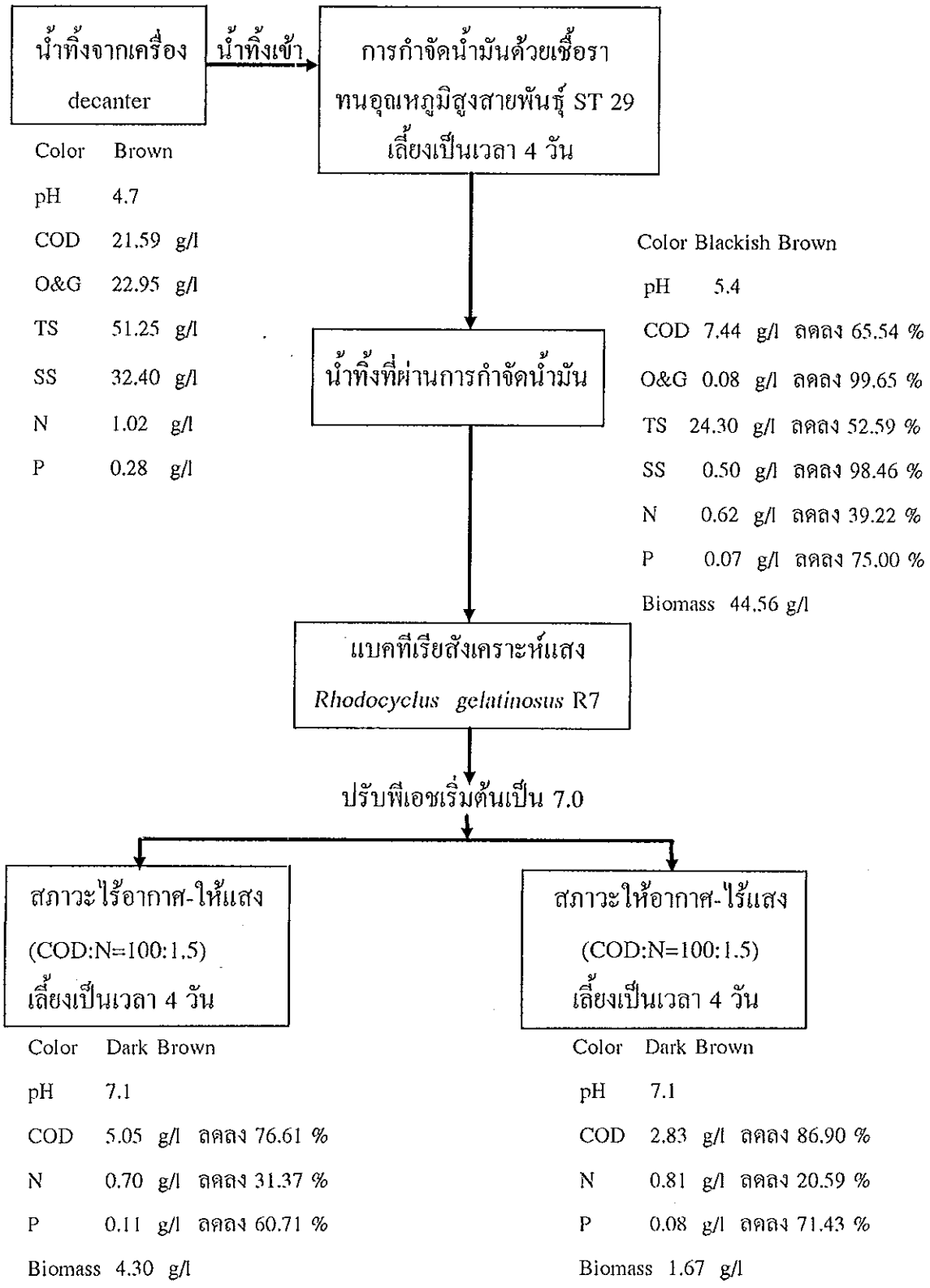
เชื้อเจริญและบำบัดน้ำทิ้งทั้งสองแหล่งได้ดีกว่าเมื่อมีการปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 และภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง และเชื้อเจริญในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันได้ดีกว่าในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 53.87 และ 51.28 ได้ปริมาณมวลชีวภาพสูงสุด 2.81 และ 0.97 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

4.2 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน (COD:N)

ในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน COD:N ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเท่ากับ 100:1.5 ทั้งสองสภาวะ โดยการเลี้ยงในสภาวะไร้อากาศ-ให้แสงจะให้ปริมาณมวลชีวภาพ (4.30 ก/ล) สูงกว่าที่สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง (1.67 ก/ล) แต่อัตราส่วน COD:N ที่เหมาะสมในการกำจัดสารอินทรีย์คือ 100:2.5 ภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง โดยมีค่าซีโอดีลดลงสูงสุดร้อยละ 71.45 ซึ่งสูงกว่าค่าซีโอดีที่ลดลงสูงสุด (ร้อยละ 52.12) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง ที่อัตราส่วน COD:N เท่ากับ 100:0

การบำบัดน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ทั้ง 2 ขั้นตอนโดยใช้เชื้อราทนอุณหภูมิสูง ST 29 และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *R. gelatinosus* R7 สรุปผลแสดงดังรูปที่ 27

สำหรับในน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 เชื้อสามารถเจริญและให้ปริมาณมวลชีวภาพสูงสุด (0.86 ก/ล) ที่ COD:N เท่ากับ 100:1.5 ที่สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง และที่สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง (0.53 ก/ล) COD:N ที่เหมาะสมในการกำจัดสารอินทรีย์ คือ ที่อัตราส่วน 100:0 โดยการเลี้ยงภายใต้สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง มีค่าซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ 73.88) สูงกว่าที่สภาวะไร้อากาศ-ไร้แสง (ร้อยละ 52.63)



รูปที่ 27 แผนผังแสดงการบำบัดน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter โดยใช้เชื้อราทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ ST 29 และแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodocyclus gelatinosus* R7

5. การบำบัดน้ำทิ้งด้วยเชื้อรา และแบคทีเรียสังเคราะห์แสงภายใต้สภาพปลอดเชื้อ และไม่ปลอดเชื้อ

การเลี้ยงเชื้อ ST 29 ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ในสภาพปลอดเชื้อ ให้ค่าน้ำมันและกรีสที่ลดลง (ร้อยละ 99.04) สูงกว่าการเลี้ยงในสภาพไม่ปลอดเชื้อ (ร้อยละ 90.30) และได้ปริมาณมวลชีวภาพ 48.19 และ 44.87 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่การกำจัดสารอินทรีย์ในสภาพไม่ปลอดเชื้อ (ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 72.73) สูงกว่าในสภาพปลอดเชื้อ (ซีโอดีลดลงร้อยละ 69.49)

เมื่อบำบัดต่อด้วยแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในสภาพปลอดเชื้อและไม่ปลอดเชื้อ พบว่าในสภาพไม่ปลอดเชื้อ ค่าซีโอดีลดลง (ร้อยละ 60.78) สูงกว่าในสภาพปลอดเชื้อ (ร้อยละ 41.07) ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 10 วัน ซีโอดีสุดท้ายมีค่า 6.6 และ 4.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เชื้อเจริญและให้ปริมาณมวลชีวภาพสูงสุด (2.87 ก/ล) ในสภาพปลอดเชื้อสูงกว่าการเลี้ยงในสภาพไม่ปลอดเชื้อ (2.69 ก/ล) ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 8 วัน

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์มมีค่าของแข็งสูงมาก จึงควรมีการบำบัดขั้นต้นด้วยวิธีการทางกายภาพก่อน เช่น การกรองแยกตะกอนออก
2. ควรเพิ่มระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ ST 29 เพื่อให้ทราบถึงประสิทธิภาพ และความสามารถสูงสุดของเชื้อ ในการกำจัดสารอินทรีย์ โดยเฉพาะค่าซีโอดี
3. น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดยังคงมีค่าสารอินทรีย์ (ซีโอดี) สูง (2.83-5.09 ก/ล) และลักษณะของสี (น้ำตาลคล้ำ) ที่ไม่สามารถปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้ จึงควรหาแนวทางบำบัดต่อไปเพื่อให้ได้คุณลักษณะของน้ำทิ้งใกล้เคียงกับค่ากำหนดในมาตรฐานน้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรม เช่น นำไปเลี้ยงสาหร่าย หรือพืชน้ำชนิดต่างๆ
4. ในการศึกษาเพื่อเพิ่มปริมาณมวลชีวภาพของแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ควรเพิ่มปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญให้มากขึ้น เช่น ชนิด และปริมาณของสารอาหาร

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ สิริสิงห. 2522. เคมีของน้ำ น้ำโสโครกและการวิเคราะห์. คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 387 หน้า.

กิตติเดช สุวรรณสนธิชัย, วิเชียร กิจปรีชาวานิช, ลาวัณย์ ไกรเดช และ เลอลักษณ์ จิตรดอน. 2534. วิธีการที่รวดเร็วสำหรับคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตไลเปสได้สูง. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 25 : 162-168.

เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์. 2536. วิศวกรรมการกำจัดน้ำเสีย. มิตรนราการพิมพ์. กรุงเทพฯ. ล.1. 122หน้า.

จารุวรรณ มณีศรี. 2538. การผลิตและการประยุกต์ใช้ไซลาเนสและเซลลูเลสจากกากปาล์มและกากสลัดจ์โดยเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275. วิทยานิพนธ์วิทยศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 119 หน้า.

เฉลา ศรีทวี. 2535. สารอาหารที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตน้ำอัดลมด้วยระบบ Aerated Lagoon. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 88 หน้า.

ธีระ เกรอต. 2537. ระบบบ่อบำบัดน้ำเสียกลางแจ้ง การควบคุมและดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย. ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 448 หน้า.

เบญจวรรณ ชิตมณี. 2534. การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในน้ำทิ้งของโรงงานน้ำมันปาล์มโดยเชื้อราที่แยกได้. วิทยานิพนธ์วิทยศาสตรมหาบัญฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 131 หน้า.

ผาสุข กุลละวณิชย์, สัณห์ชัย กลิ่นพิกุล, สุมณฑา กุลละวณิชย์ และสุรเชษฐ์ ธีระมณี. 2534. โครงการแปรรูปผลิตภัณฑ์และพัฒนาด้านการตลาดของโรงงานหีบน้ำมันปาล์มขนาดเล็กตามพระราชดำริ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 475 หน้า.

พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล และอรัญ หันพงศ์กิตติกุล. 2533.กระบวนการใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้งและคุณสมบัติของน้ำเสียของโรงงานน้ำมันปาล์ม. ว. สงขลานครินทร์. 12(2) : 169-176.

มาริสา จตุพรพิพัฒน์. 2537. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสังเคราะห์รงควัตถุของ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ที่เลี้ยงในน้ำนึ่งปลาทูน่า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 137 หน้า.

วิภูมิ แก้วทอง. 2539. การคัดเลือกและศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสจากแบคทีเรียชอบด่าง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 100 หน้า.

สุดารัตน์ เตชะศรีประเสริฐ. 2538. ข่าวเศรษฐกิจ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 467(41) : 26.

✓สุรพล สายพานิช. 2537. ระบบการบำบัดน้ำเสียแบบ Activated การควบคุมและดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย. ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 448 หน้า.

สุวิทย์ สุวรรณโณ. 2535. การเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำเสียของโรงงานแปรรูปอาหารทะเล. วิทยานิพนธ์วิทยศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 119 หน้า.

เสริมพล รัตสุข และไชยยุทธ กลิ่นสุคนธ์. 2524. การกำจัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและแหล่งชุมชน. สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 136 หน้า.

ศูนย์เศรษฐกิจอุตสาหกรรมภาคใต้. 2537. ทำเนียบโรงงานอุตสาหกรมที่สำคัญของภาคใต้ สิ้นปี 2536 : ชุดที่ 2 อุตสาหกรรมน้ำมันพืช. ศูนย์เศรษฐกิจอุตสาหกรรมภาคใต้ กองเศรษฐกิจอุสาหกรรมภาคใต้ สำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม. 33 หน้า.

ศูนย์สถิติการเกษตร. 2537. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปีเพาะปลูก 2536/37. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร. 266 หน้า.

อรัญ หันพงศ์กิตติกูล, พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, กัลยา ศรีสุวรรณ, เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล และ วีระศักดิ์ ทองลิมป์. 2537. การศึกษาวิธีการแยกน้ำมันในน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม : เอกสารประกอบการประชุมสัมมนา การลดการสูญเสียน้ำมันในอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 7 เมษายน 2537 ณ โรงแรมสยามธานี สุราษฎร์ธานี. 96 หน้า.

อรัญ หันพงศ์กิตติกูล, พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และ กัลยา ศรีสุวรรณ. 2539. แนวทางการจัดการสิ่งแวดล้อมสำหรับอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์ม. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 81 หน้า.

อารี กังแฮ. 2536. การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนสจากวัสดุเศษเหลือโรงงานน้ำมันปาล์มโดยเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่. 127 หน้า.

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 15th ed. The Association of Official Analytical Chemists. Inc. Verginia. 648 pp.

APHA, AWWA and WPCF. 1985. Standard Methods for the Examination of Water and WasteWater. 16th ed. American Public Health Association, Washington, D. C. 1193 pp.

Barker, T. W., and Worgan, J. T. 1981. The utilization of palm oil processing effluent as substrate of microbial protein by the fungus *Aspergillus oryzae*. Eur. J. Appl. Microbiol. 11 : 234-240.

Barker, T. W., Drouliscos, N. J. and Worgan, J. T. 1981. Composition and nutritional evaluation of *Aspergillus oryzae* biomass grown on palm oil mill effluent. J. Sci. Food Agric. 32 : 1014-1020.

Borja, P. R. and Banks, C. L. 1993. Thermophilic semi-continuous anaerobic of palm oil mill effluent. Biotechnol. Lett. 15(7) : 761-766.

Cail, R. G. and Barford, J. P. 1985. Mesophilic semi-continuous anaerobic digestion of palm oil mill effluent. Biomass. 7 : 287-295.

Cheah, S. C., Ma, A. N., Ooi, L. C. L. and Ong, A. S. H. 1988. Biotechnology applications for the utilization of wastes from palm oil mills. Fat. Sci. Technol. p. 535-540.

Chin, K. K. 1981. Anaerobic treatment kinetics of palm oil sludge. Water Res. 15 : 199-202.

Chin, K. K. and Wong, K. K. 1981. Palm oil refinery wastes treatment. Water Res. 15 : 1087-1092.

Chin, K. K. and Wong, K. K. 1983. Thermophilic anaerobic digestion of palm oil mill effluent. Water Res. 17(9) : 993-995.

Chooi, C. F. 1985. Ponding system for palm oil mill effluent treatment. Proceeding of Workshop on Review of Palm Oil Mill Effluent Boustead Technology Estates Agency San. Bhd. p. 53-62.

Chua, N. S. and Gian, H. L. 1986. Biogas production and utilization-keck seng's experience. National workshop on recent development in palm oil milling technology and pollution control. 5-6 August. p. 1-9.

Church, B. B., Erichson, E. E. and Widmer, C. M. 1973. Fungal digestion of food processing wastes. Food Technol. 27 : 36

Edewor, J. O. 1986. A comparison of treatment methods for palm oil mill effluent (POME) wastes. J. Chem. Technol. Biotechnol. 36 : 213-218.

ESCAP. 1982. Industrial Pollution Control Guide Lines IV. Palm Oil Industry United Nation, Economic and Social Commission for Asia and the Pacific Enviromental and Development Series.

Forster, C. F. 1992. Oils fat and grease in waste-water treatment. J. Chem. Technol. Biotechnol. 55 : 402-404.

Gaudy, A. F., Jr. and Engelbrecht, R. S. 1969. Quantitative and qualitative shock loading of activated sludge systems. JWPCF. 3(8) : 800.

Gest, H. and Kamen, M. D. 1949 . Studies on the metabolism of photosynthetic bacteria IV photochemical production of molecular hydrogen by growing culture of photosynthetic bacteria. J. Bacteriol. 58 : 239-245.

Greenshields, R.N. 1981. Review of progress of tower fermentation system for treatment of palm oil mill effluent. proc. 3 MOPGC Symp. Treat. Disp. Palm Oil Mill Effluent. 1977-78. part C. p. 178-185.

Ho, C. C., and Tan, Y. K. 1983. Centrifugal fractionation studies on the particulates of palm oil mill effluent. Water. Res. 17 (6) : 613-618.

Ho, C. C., and Tan, Y. K. 1985. Anaerobic treatment of palm oil mill effluent by tank digesters. J. Chem. Technol. Biotechnol. 35B : 155-164.

Hwang, T. K. Ong, S. M., Scow, C. C. and Tan, H. K. 1978. Chemical composition of palm oil mill effluent. Planter. 54 : 749-756.

Ibrahim, A., Yeoh, B. G., Cheah, S. C., Ma. A. N., Ahmad. S., Chew, T. Y., Raj, R. and Wahid, M. J. A. 1984. Thermophilic anaerobic contact digestion of palm oil mill effluent. Fat. Sci. Technol. 17 : 155-166.

Ibrahim, C. O. and Noor, I. N. J. 1991. Production of on exogenous lipase by *Aspergillus niger* grown on palm oil medium. J. Biosci. 2(1-2) : 15-26.

Karim, M. I. A. and Kamil, A. Q. A. 1989. Biological
effluent using *Trichoderma viride*. Biological Was

Kobayashi, M. and Haque, M. 1971. Contribution to nitrogen and so
photosynthetic bacteria. Plant and Soil. Special Vo. p. 443-456.

Kobayashi, M. and Kurata, S. 1978. The mass culture and cell utilization of photosynthetic bacteria. Process Biochem. 13(9) : 27-30.

Koh, J. S., Kodama, T. and Minoda, Y. 1983. Screening of yeasts and cultural condition for *Torulopsis candida* cell production from palm oil. Agric. Biol. Chem. 47 : 1207-1212.

Koh, J. S., Yamakawa, T. Kodama, T. and Minoda, T. 1985. Cultural condition for *Torulopsis candida* cell production from palm oil. Agric. Biol. Chem. 49(1) : 215-216.

Laborbe, J. M., Dwek, C., Rotomahenina, R. Pina, M., Graille, J. and Galzy, P. 1989. Production of single-cell protein from palm oil using *Candida rugosa*. J. Microbiol. Biotechnol. 5 : 517-523.

Lee, C., Yamakawa, T. and Kodama, T. 1993. Rapid growth of a thermotolerrant yeast on palm oil. World J. Microbiol. Biotechnol. 9 : 187-190.

Ma, A. N., and Ong, A. S. H. 1987. Potential biomass energy from palm oil industry. PORIM Bulletin. 14 : 10-15.

Ma, A. N., and Ong, A. S. H. 1988. Treatment of palm oil sterilizer condensate by an anaerobic process. Biol. Wates. 23 : 85-97.

Montet, R. P. and Rotomahenina, R., Ba, A., Pina, M., Graille, J. and Galzy, P. 1983.Production of single cell protein from vegetable oil-rape seed oil and palm oil culture medium for 9 lipolytic yeast strains including *Candida rugosa*. J. Ferment. Technol. 61 : 417-420.

Morikawa, H., Hayashi, M. and Kamikubo, T. 1971. Utilization of hydrocarbons by microorganisms (IV) utilization of hydrocarbons and vitamin B_{12} production by *Rhodopseudomanas spheroides*. J. Ferment. Technol. 44(9) : 803-808.

Ng, W. J., Chin, K. K. and Wong, K. K. 1987. Energy yields from anaerobic digestion of palm oil mill effluent. Biol. Wastes. 19 : 257-266.

Ng, W. J., Wong, K. K. and Chin, K. K. 1985. Two-phase anaerobic treatment kinetics of palm oil wastes. Water Res. 19(5) : 667-669.

Okuda, S. I., Ito, K., Ozawa, H. and Izaki, K. 1991. Treatment of lipid-containing waste water using bacteria which assimilate lipids. J. Ferment. Bioeng. 71(6) : 414-429.

Panda, T. 1989. Simulation of shake condition in bioreactor for the biosynthesis of cellulase and xylanase by a mixed culture of *Trichoderma reesei* D1-6 and *Aspergillus wentii* PT2804. Process Biochem. p. 104-108.

Petitpierre, G. 1982. Palm oil effluent production of biogas. Oleagineux. 37(7) : 367-375.

Pfennig, N. 1967. Photosynthetic bacteria. Ann. Rev. Microbiol. 21 : 285-324.

Pokorny, D., Friedrich, J. and Cimerman, A. 1994. Effect of nutritional factors on lipase biosynthesis by *Aspergillus niger*. Biotechnol. Lett. 16(4) : 363-366.

Quah, S. K., Lim, K. H., Gillies, D. and Wood, B. J. 1982. Sime Dar by palm oil mill effluent treatment and land application system. Presented at the PORIM Workshop in palm oil mill technology and effluent treatment, Kuala Lumpur.

Rossi, J. and Clement, A. 1985. Protein productiom by *Schwanniomyces castelli* on starchy substrates in liquid and solid cultivation. J. Food Technol. 20 : 319-330.

Sasaki, K. and Nagai, S. 1979. The optimum pH and temperature for the aerobic growth of *Rhodopseudomanas gelatinosa*, and vitamin B_{12} and ubiquinone formation on a starch medium. J. Ferment. Technol. 57(5) : 383-386.

Shipman, R. H., Fan, L. T. and Kao, I. C. 1977. Single-cell protein production by photosynthetic bacteria. Adv. Appl. Microbiol. 21 : 161-181.

Sinnappa, S. 1979. Treatment studies of palm oil mill waste effluent. Proceedings of the International Conferance on Water Pollution Control in Developing Countries. Bangkok Asian Institute of Technology, pp. 525-537.

Strikland, J. D. H. and Parson, T. R. 1972. A Practical Hand Book of Seawater Analysis. Fisheries Researh Board of Canada. Ontario. p. 49-435.

Symons, J. M., Frame, J. D. and Wald, J. P. 1960. A procedure for determination of biological treatability of industrial wastes. JWPCF. 32(8) : 841-852.

Wase, D. A. J., McManamey, W. J., Raymahasay, S., and Vaid, A. K. 1985. Comparisons between cellulase production by *Aspergillus fumigatus* in agitated vessels and in an air-lift fermentor. Biotechnol. Bioeng. 27 : 1166-1172.

Wong, K.K., Zaim, O. M. and Abdullah, R. 1980. A national design for a once through thermophillic anaerobic digestion of palm oil mill effluent. J. Inst. Engrs. Malaysia. 27 : 8-18.

Wood, B. J. 1977. A review of current methods for dealing palm oil mill effluent. Planter. 53 : 477-495.

Yeoh, B. G. 1986. A kinetic-based design for thermophilic anaerobic treatment of a high-strength agro industrial waste water. Selanger, Malaysia. p. 220-228.

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

1. ปริมาณมวลชีวภาพ (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1. ภาชนะอลูมิเนียม (moisture can)
2. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส
3. โถดูดความชื้น (desiccator)
4. เครื่องชั่งชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. ตวงตัวอย่างประมาณ 50-60 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง
2. นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 15 นาที
3. แยกเอาส่วนใสออก แล้วทำการล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น นำไปหมุนเหวี่ยงที่สภาวะเดียวกับข้อ 2
4. นำตะกอนเซลล์ที่ได้มาใส่ในภาชนะอลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส จนแห้งหรือประมาณ 5-6 ชั่วโมง
5. นำออกจากตู้อบ ใส่ในโถดูดความชื้น ตั้งทิ้งไว้จนเย็นเท่าอุณหภูมิห้องแล้วชั่ง

การคำนวณ

$$\text{น้ำหนักมวลชีวภาพ (มก/ล)} = \frac{\text{มิลลิกรัมน้ำหนักมวลชีวภาพหลังอบ} \times 1{,}000}{\text{มิลลิลิตรของตัวอย่าง}}$$

2. ของแข็งทั้งหมด (total solids) (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

อุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้องสำหรับระเหย
2. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส
3. อ่างไอน้ำ
4. โถดูดความชื้น (desiccator)
5. เครื่องชั่งชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. ล้างถ้วยระเหยให้สะอาด อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้นชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ตวงตัวอย่างประมาณ 50 มิลลิลิตร หรือน้อยกว่า ใส่ในถ้วยระเหยที่ทราบน้ำหนักแน่นอน
3. นำไประเหยให้แห้งในอ่างไอน้ำ
4. อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง
5. ปล่อยให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น หรือประมาณ 45 นาที
6. ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (มก/ล)} = \frac{\text{มิลลิกรัมของของแข็ง} \times 1{,}000}{\text{มิลลิลิตรของตัวอย่าง}}$$

3. ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (total suspended solids) (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

อุปกรณ์

1. Glass fibre filter disk (Whatman GF/C, 5.5 cm.)
2. filter holder อาจจะใช้ Menbrane filter holder หรือ gooch crucible
3. เครื่องดูดสูญญากาศ
4. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส
5. โถดูดความชื้น (desiccator)
6. เครื่องชั่งชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. การเตรียม gooch crucible วางกระดาษกรองลงใน gooch crucible ผ่านน้ำกลั่นลงไปใช้เครื่องดูดอากาศดูดให้แห้ง นำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก
2. สำหรับตัวอย่างที่มีสารห้อยแขวนมากทำให้กรองได้ช้า ให้เลือกปริมาตรของตัวอย่างที่จะใช้ซึ่งจะต้องเท่ากับ 14 มิลลิลิตรต่อลูกบาศก์เซนติเมตรของกระดาษกรอง
3. นำเอา gooch crucible ซึ่งเตรียมใส่ในที่สำหรับดูดอากาศ ทำกระดาษกรองให้เปียกด้วยน้ำกลั่น เปิดเครื่องดูด วัดปริมาตรตัวอย่างโดยใช้ปิเปตปลายกว้างหรือกระบอกตวงหรือ volumetric flask แล้วกรองล้าง 3 ครั้งด้วยน้ำกลั่น ครั้งละ 10 มิลลิลิตร ใช้เครื่องดูดอากาศดูดจนแห้ง นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น
4. ทำการชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน

การคำนวณ

$$\text{ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (มก/ล)} = \frac{\text{มิลลิกรัมของแข็งแขวนลอย} \times 1{,}000}{\text{มิลลิลิตรของตัวอย่าง}}$$

4. ปริมาณน้ำมันและกรีส (Oil & Grease) ในน้ำทิ้งและในก้อนเส้นใย (mycelium) (ดัดแปลงจากกรรณิการ์ สิริสิงห, 2522)

อุปกรณ์

1. เครื่องมือที่ใช้สำหรับสกัด (soxhlet)
2. เครื่องดูดสูญญากาศ
3. Buchner funnel
4. ขวดสกัดขนาด 250 มิลลิลิตร
5. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส
6. โถดูดความชื้น (desiccator)
7. เครื่องชั่งชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. ปิโตเลี่ยมอีเทอร์ (petroleum ether)
2. กระดาษกรองเบอร์ 40
3. Diatomaceous-silica filter aid suspension 10 กรัมต่อลิตรน้ำกลั่น
4. ผ้าขาวบาง

วิธีการ

1. วางกระดาษกรองใน Buchner funnel แล้วเทสารละลาย filter aid ที่เตรียมไว้ 100 มิลลิลิตร ใช้เครื่องดูดสูญญากาศดูดแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นประมาณ 200-250 มิลลิลิตร เพื่อให้สาระลาย filter aid จับตัวกันแน่นขึ้น เปิดเครื่องดูดสูญญากาศดูดจนกระทั่งแห้ง
2. กรองสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ประมาณ 20-30 มิลลิลิตร กรณีหาในก้อนเส้นใยของเชื้อรา จะใช้ก้อนเส้นใยทั้งก้อนวางบนเครื่องดูดสูญญากาศ ดูดให้แห้ง
3. ใช้ปากคีมหยิบกระดาษกรองออกมา และเช็ดข้างๆที่กรองให้เกลี้ยง ม้วนกระดาษกรองเข้าด้วยกัน แล้วห่อด้วยผ้าขาวบาง นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3-4 ชั่วโมง
4. นำเอาห่อผ้าขาวบางที่บรรจุกระดาษกรองใส่ใน thimble ของชุดสกัด
5. เติมสารตัวทำละลายปิโตเลี่ยมอีเทอร์ประมาณ 150 มิลลิลิตร ลงในขวดสกัดไขมันที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

6. ประกอบอุปกรณ์สกัดพร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน โดยปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
7. ใช้เวลาในการสกัด 4 ชั่วโมง เมื่อครบแล้วกลั่นเก็บสารละลายจนเหลือสารละลายในขวดสกัดเพียงเล็กน้อย
8. นำขวดสกัดไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส จนกระทั่งแห้ง ใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น
9. ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของกรีสหรือน้ำมัน (มก/ล)} = \frac{\text{มิลลิกรัมของสารที่สกัดได้ x 1,000}}{\text{มิลลิลิตรของตัวอย่าง}}$$

5. ปริมาณโปรตีนในเซลล์โดยวิธี Kjeldahl method (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1. หลอดย่อยตัวอย่างขนาด 2.5 x 31 ซม.
2. หลอดกลั่นตัวอย่างขนาด 4.0 x 30 ซม.
3. เครื่อง Kjeltech ซึ่งประกอบด้วย เครื่องย่อย เครื่องกลั่น และเครื่องจับไอกรด

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)
2. สารช่วยเร่งการย่อย (catalyst) ประกอบด้วย $CuSO_4$ 1 ส่วนและ K_2SO_4 10 ส่วน
3. โซเดี่ยมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้นร้อยละ 40
4. กรดบอริก (H_3BO_3) เข้มข้นร้อยละ 2
5. mixed indicator
   5.1 ชั่ง 0.125 กรัม เมทิลเรด และ 0.082 กรัม เมทิลีนบลู ละลายในเอทิลแอลกอฮอร์ 95 เปอร์เซนต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
   5.2 ชั่ง 0.1 กรัม โปรโมครีซอลารีนละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

5.3 ผสมสารละลายข้อ 1 และ 2 ในอัตราส่วนสารข้อ 1 : สารข้อ 2 เท่ากับ 5:1

วิธีการ

การย่อยตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 0.2-0.5 กรัมหรือ 5-10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดย่อยตามปริมาณในโตรเจนที่คาดว่าจะมี ถ้ามีมากก็ใช้น้อย มีน้อยใช้มาก (ทำ blank ทุกครั้ง)
2. ใส่สารช่วยเร่งการย่อย (catalyst) 1-2 กรัม
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5-10 มิลลิลิตร สวมและเปิดเครื่องจับไอกรด
4. ย่อยที่อุณหภูมิเริ่มต้นประมาณ 200 องศาเซลเซียส (หมายเลข 3-5) ประมาณ 1 ชั่วโมงและเพิ่มขึ้นจนถึง 350 องศาเซลเซียส (หมายเลข 8-9) จะใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง
5. เมื่อย่อยจนใสหรือได้สารละลายสีฟ้าหรือสีเขียวอมฟ้า ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
6. นำไปกลั่น

การกลั่นตัวอย่าง

1. ใส่ตัวอย่างลงในหลอดกลั่น เติมน้ำประมาณ 60-100 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆเพื่อผสมกรด
2. ใส่หลอดเข้ากับเครื่องกลั่นที่พร้อมจะกลั่น เปิดน้ำหล่อเย็นอัตราการไหลประมาณ 3-4 ลิตร ต่อนาที
3. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 % ลงไปช้าๆจนได้สารละลายสีดำ
4. เริ่มกลั่นโดยใช้กรดบอริค (2 %) ที่มีการเติม mixed indicator (2-3 หยด) ประมาณ 10 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร รองรับ condensate โดยให้ปลายท่อจมอยู่ใต้กรด
5. กลั่นให้ได้ condensate ประมาณ 100-150 มิลลิลิตร ก่อนเสร็จการกลั่นในแต่ละครั้งให้เลื่อนฟลาสก์เก็บตัวอย่างลงให้พ้นของเหลว กลั่นต่อประมาณ 1 นาที เพื่อล้างเครื่องกลั่น
6. ไทเทรตกับ 0.02-0.1 N HCl หรือ H_2SO_4 หักค่า blank ออกเพื่อนำไปคำนวณ

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (\%)} = \frac{\text{ปริมาณกรด x นอร์มัลลิตี้ x 14}}{\text{ปริมาณตัวอย่าง}}$$

6. ปริมาณฟอสฟอรัส (Strickland and parson, 1972)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง (ควรแช่กรดและล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนนำมาใช้) พร้อมจุกยาง
2. ไปเปตขนาด 1 และ 5 มิลลิลิตร
3. เครื่องสเปคโตรโฟมิเตอร์

สารเคมี

1. สารละลายแอมโมเนี่ยมโมลิบเดท

   ละลาย $(NH_4)_6\ MO_7O_{24}\ .4H_2O$ 15 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดพลาสติกในที่มืด)

2. สารละลายกรดซัลฟูริก

   เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 140 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เก็บในขวดแก้ว

3. สารละลายกรดแอสคอบิก

   ละลาย $C_6H_6O_6$ 13.5 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดพลาสติกและแช่เย็งไว้)

4. สารละลายโพแทสเซียมแอนติโมนิลทาเรต

   ละลาย $K(SbO)C_4H_4O_6$ 0.34 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร ถ้าไม่ละลายให้อุ่นบนไฟ

5. สารผสม

   ผสมสารละลายแอมโมเนี่ยมโมลิบเดท 100 มิลลิลิตร สารละลายกรดซัลฟูริก 250 มิลลิลิตร สารละลายกรดแอสคอบิก 100 มิลลิลิตร และสารละลายโพแตสเซียมแอนติโมนิลทาเทรต 50 มิลลิตร (เก็บไว้ได้ไม่เกิน 6 ชั่วโมงหลังผสม)

6. สารละลายมาตรฐาน

   ละลาย KH_2PO_4 (anhydrous อบที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่งโมง ก่อน

นำมาใช้) 0.816 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร (ใส่ chlorofrom 1 มิลลิลิตร สามารถเก็บไว้ได้นานหลายเดือน)

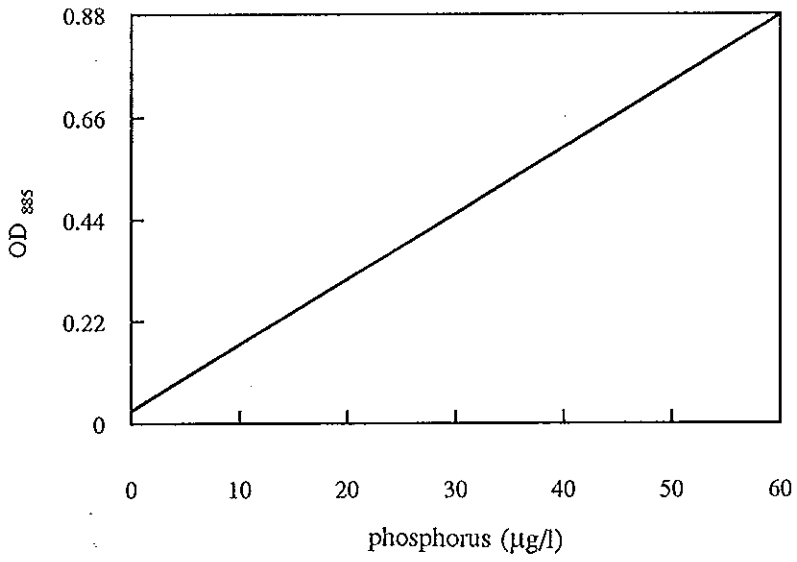
1 มิลลิลิตร = 6 ไมโครกรัมอะตอม P

7. สารละลายเจือจาง

สารละลายมาตรฐานเจือจางให้ได้ความเข้มข้นระดับต่างๆ เช่น 60, 4.8, 2.4, 1.2, 0.6 และ 0.3 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

วิธีการ

1. ไปเปตน้ำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เติมสารผสม 1 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันทิ้งไว้ 5 นาที (ไม่เกิน 2-3 ชั่วโมง)
2. นำไปวัดด้วยเครื่องสเปคโตรมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 885 นาโนเมตร
3. blank และสารละลายมาตรฐานเจือจาง solution ทำเช่นเดียวกบน้ำตัวอย่าง



กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟอสฟอรัส กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 885 นาโนเมตร

7. ซีโอดี (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์กลั่นไหลกลับ
   - ขวดหาซีโอดีขนาด 250 มิลลิลิตร
   - เครื่องควบแน่น
   - เตาให้ความร้อน (hot plate)
2. บิวเรต

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.25 นอร์มอล
   ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) ซึ่งอบแห้งที่ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จำนวน 12.259 กรัมในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟามิก (NH_2SO_3H) 0.12 กรัม แล้วเจือจางจนได้ปริมาตร 1 ลิตร
2. Sulfulic acid reagent
   ละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 22 กรัม ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น บรรจุขวดขนาด 1 ปอนด์ (2.65 ลิตร) เนื่องจากซิลเวอร์ซัลเฟตละลายยากมาก อาจใช้เวลา 1-2 วัน จึงจะละลายหมด
3. สารละลายเฟอร์โรอิน
   ละลาย 1-10 ฟีแนนโทรลีนโมโนเดรต ($C_{12}H_6N_2 \cdot H_2O$) จำนวน 1.485 กรัม และเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) จำนวน 0.695 กรัม เติมน้ำจนปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
4. ซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) ชนิดผง
5. เมอร์คิวรี่ซัลเฟต (Hg_2SO_4) ชนิดผลึกบริสุทธิ์หรือเป็นผง ใช้เป็นตัวกำจัดอนุภาคคลอไรด์ (Cl^-) ในอัตราส่วน Hg_2SO_4 ต่อ Cl^- = 10:1
6. กรดซัลฟามิก (Sulfamic acid) ใช้ในกรณีที่กำจัดไนเตรดเท่านั้น
7. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนี่ยมซัลเฟตเข้มข้น 0.10 นอร์มัล

7.1 การเตรียมสารละลาย

ละลายเฟอร์รัสแอมโมเนี่ยมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$) จำนวน 39 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร ทำให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

7.2 การหาความเข้มข้นของสารละลาย

ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (0.25 นอร์มัล) จำนวน 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร เติม Sulfulic acid reagent 30 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น ไทเทรตด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนี่ยมซัล-เฟตโดยหยดเฟอร์โรอิน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์

$$\text{ความเข้มข้น (นอร์มอล)} = \frac{\text{ปริมาณสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (มล.)} \times 0.25}{\text{ปริมาณสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนี่ยมซัลเฟต (มล.)}}$$

วิธีการ

1. เติมเมอร์คิวรี่ซัลเฟต 0.4 กรัม ลงในขวดหาซีโอดี
2. เติมตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร หรือสัดส่วนที่เหมาะสมของตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 20 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซี่ยมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร และลูกแก้ว (glass bead) 3-5 เม็ด
4. ค่อยๆเติม Sulfulic acid reagent 30 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเพื่อละลายเมอร์คิวซัลเฟต ควรทำให้เย็นในขณะเขย่า เพื่อหลีกเลี่ยงการสูญเสียของสารที่เป็นไอในตัวอย่าง (อาจจะแช่ในอ่างน้ำ)
5. ประกอบเข้ากับชุดอุปกรณ์กลั่นทำการกลั่นนานประมาณ 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็น
6. ไทเทรตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่เกินพอดี ด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ใช้เฟอร์โรอีนเป็นอินดิเคเตอร์ เมื่อถึงจุดยุติสีจะเปลี่ยนจากสีเขียวปนน้ำเงินเป็นสีน้ำตาลปนแดง
7. ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตรแทนตัวอย่างน้ำ ทำเช่นเดียวกับตัวอย่าง (ข้อ1-6)

การคำนวณ

$$\text{ซีโอดี (มก./ล.)} = \frac{(A-B) \times N \times 8{,}000}{\text{ปริมาณตัวอย่าง (มล.)}}$$

A คือ ปริมาณสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรต blank

B คือ ปริมาณสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (นอร์มัล)

ภาคผนวก ข

ผลการทดลอง

ตารางภาคผนวกที่ ข1 ผลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ต่อการกำจัดน้ำมันและกรีสในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส

จุลินทรีย์	น้ำมันและกรีสคงเหลือ (ก/ล) ที่ระยะเวลาต่างๆ (วัน)				
	0	1	2	3	4
Candida tropicalis	23.93	13.00	12.27	8.61	4.50
C. palmioliophila	24.10	19.51	15.00	10.15	5.16
Aspergillus niger	24.10	16.22	7.92	4.98	2.30
Aspergillus oryzae	24.26	20.50	10.65	10.15	8.00
ST 4	22.87	18.07	11.37	5.06	4.50
ST 4*	22.87	17.81	11.44	0.58	026
ST 29	22.95	17.86	10.69	3.52	2.22
ST 29*	22.95	17.83	2.54	0.28	0.08
จุลินทรีย์	น้ำมันและกรีสที่ลดลง (%) ที่ระยะเวลาต่างๆ (วัน)				
Candida tropicalis	-	45.67 ^{a}	48.73 ^{g}	64.02 ^{f}	81.40 ^{d}
C. palmeoliophila	-	19.05 ^{e}	37.76 ^{h}	57.88 ^{h}	78.59 ^{f}
Aspergillus niger	-	32.70 ^{b}	67.14 ^{b}	79.34 ^{d}	90.46 ^{c}
Aspergillus oryzae	-	15.50 ^{f}	56.10 ^{e}	58.16 ^{g}	67.02 ^{g}
ST 4	-	20.99 ^{d}	50.28 ^{e}	77.87 ^{e}	80.33 ^{e}
ST 4*	-	22.13 ^{c}	49.98 ^{f}	97.46 ^{b}	98.89 ^{b}
ST 29	-	22.18 ^{c}	53.42 ^{d}	84.66 ^{c}	90.33 ^{c}
ST 29*	-	22.31 ^{c}	88.93 ^{a}	98.87 ^{a}	99.65 ^{a}

หมายเหตุ ในสดมภ์เดียวกันที่อักษรเหมือนกัน หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$)

* คือ เลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ตารางภาคผนวกที่ ข2 ผลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆต่อการกำจัดซีโอดีในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส

จุลินทรีย์	ซีโอดีคงเหลือ (ก/ล) ที่ระยะเวลาต่างๆ (วัน)				
	0	1	2	3	4
Candida tropicalis	34.32	29.85	25.77	25.60	26.00
C. palmeoliophila	33.05	28.40	27.12	25.60	24.00
Aspergillus niger	32.33	29.41	24.50	21.48	18.62
Aspergillus oryzae	32.04	26.87	18.97	18.25	16.59
ST 4	21.64	15.19	13.17	10.92	6.11
ST 4*	21.64	15.60	12.50	10.48	8.23
ST 29	21.59	18.55	15.46	11.02	6.37
ST 29*	21.59	16.66	15.05	10.36	7.44
จุลินทรีย์	ซีโอดีที่ลดลง (%) ที่ระยะเวลาต่างๆ (วัน)				
Candida tropicalis	-	24.67 ^{c}	24.91 ^{f}	25.41 ^{g}	24.24 ^{h}
C. palmeoliophila	-	14.07 ^{f}	17.94 ^{g}	22.54 ^{h}	27.38 ^{g}
Aspergillus niger	-	9.03 ^{g}	24.22 ^{f}	33.56 ^{f}	42.41 ^{f}
Aspergillus oryzae	-	16.14 ^{e}	40.79 ^{b}	43.04 ^{e}	48.22 ^{e}
ST 4	-	29.81 ^{a}	39.14 ^{c}	49.54 ^{c}	71.77 ^{a}
ST 4*	-	27.91 ^{b}	42.24 ^{a}	51.57 ^{b}	61.97 ^{d}
ST 29	-	14.08 ^{f}	28.39 ^{e}	48.96 ^{d}	70.50 ^{b}
ST 29*	-	22.83 ^{d}	30.29 ^{d}	52.01 ^{a}	65.54 ^{c}

หมายเหตุ ในสดมภ์เดียวกันที่อักษรเหมือนกัน หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$)

* คือ เลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ตารางภาคผนวกที่ ข3 ผลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชในระหว่างการเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์จุลินทรีย์	พีเอช ที่ระยะเวลาต่างๆ(วัน)				
	0	1	2	3	4
Candida tropicalis	4.7	5.7	6.0	6.2	6.5
C. palmeoliophila	4.7	5.6	5.7	5.6	5.7
Aspergillus niger	4.7	5.4	5.5	5.5	5.5
Aspergillus oryzae	4.7	5.3	5.4	5.4	5.4
ST 4	4.6	5.2	5.3	5.2	5.3
ST 4*	4.6	5.2	5.1	5.2	5.2
ST 29	4.6	5.4	5.3	5.3	5.5
ST 29*	4.6	5.2	5.3	5.3	5.4

หมายเหตุ ในสดมภ์เดียวกันที่อักษรเหมือนกัน หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$)

* คือ เลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ตารางภาคผนวกที่ ข4 ผลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ต่อปริมาณมวลชีวภาพในระหว่างการเลี้ยงในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์จุลินทรีย์	ปริมาณมวลชีวภาพ (ก/ล) ที่ระยะเวลาต่างๆ(วัน)			
	1	2	3	4
Candida tropicalis	10.15 ^{ab}	15.76 ^{c}	19.98 ^{c}	22.93 ^{c}
C. palmeoliophila	7.68 ^{b}	12.11 ^{c}	15.35 ^{d}	16.39 ^{d}
Aspergillus niger	9.23 ^{ab}	23.10 ^{b}	29.39 ^{a}	35.76 ^{b}
Aspergillus oryzae	10.61 ^{a}	15.11 ^{c}	23.82 ^{b}	32.07 ^{b}
ST 4	9.97 ^{ab}	30.42 ^{a}	16.75 ^{cd}	15.53 ^{d}
ST 4*	10.50 ^{a}	22.96 ^{b}	25.45 ^{b}	43.63 ^{a}
ST 29	10.33 ^{ab}	31.98 ^{a}	18.98 ^{c}	16.41 ^{d}
ST 29*	11.33 ^{a}	23.50 ^{b}	32.20 ^{a}	44.56 ^{a}

หมายเหตุ ในสดมภ์เดียวกันที่อักษรเหมือนกัน หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$)

* คือ เลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ตารางภาคผนวกที่ ข5 ผลของพีเอชเริ่มต้นและสภาวะการเลี้ยงต่อปริมาณมวลชีวภาพ (ก/ล) ของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่ระยะเวลา (วัน) ต่างๆ

สภาวะการเลี้ยง	พีเอชเริ่มต้น	ผ่านการกำจัดน้ำมันโดย ST 29 [1]				น้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 [2]			
		1	2	3	4	1	2	3	4
ไร้อากาศ-ให้แสง [3]	ไม่ปรับ	0.45 [c]	0.91 [b]	1.05 [b]	1.85 [b]	0.17 [c]	0.19 [c]	0.32 [c]	0.52 [b]
	ปรับ	0.90 [a]	1.10 [a]	1.67 [a]	2.81 [a]	0.52 [a]	0.70 [a]	0.75 [a]	0.97 [a]
ให้อากาศ-ไร้แสง [4]	ไม่ปรับ	0.25 [d]	0.36 [d]	0.47 [d]	0.53 [d]	0.11 [d]	0.16 [d]	0.24 [d]	0.44 [c]
	ปรับ	0.65 [b]	0.81 [c]	0.85 [c]	1.59 [c]	0.41 [b]	0.41 [b]	0.44 [b]	0.50 [b]

หมายเหตุ ในสดมภ์เดียวกันที่อักษรเหมือนกัน หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$)

[1] คือ พีเอชที่ไม่ปรับเท่ากับ 5.50 และพีเอชที่ปรับเท่ากับ 7.0

[2] คือ พีเอชที่ไม่ปรับเท่ากับ 8.82 และพีเอชที่ปรับเท่ากับ 7.0

[3] คือ ให้แสง 3,000 ลักซ์

[4] คือ เขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที

ตารางภาคผนวกที่ ข6 ผลของพีเอชเริ่มต้นและแหล่งน้ำทิ้งต่อปริมาณมวลชีวภาพ (ก/ล) ของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์) และสภาวะให้อากาศ-ไร้แสง (เขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที) ที่ระยะเวลา (วัน) ต่างๆ

แหล่งน้ำทิ้ง	พีเอชเริ่มต้น	สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง				สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง			
		1	2	3	4	1	2	3	4
กำจัดน้ำมัน	ไม่ปรับ[1]	0.45 [c]	0.91 [b]	1.05 [b]	1.85 [b]	0.25 [c]	0.36 [c]	0.47 [b]	0.53 [b]
โดย ST 29	ปรับ[2]	0.90 [a]	1.10 [a]	1.67 [a]	2.81 [a]	0.65 [a]	0.81 [a]	0.85 [a]	1.59 [a]
บ่อบำบัด	ไม่ปรับ[3]	0.17 [d]	0.19 [d]	0.32 [d]	0.52 [d]	0.11 [d]	0.16 [d]	0.24 [c]	0.44 [c]
บ่อที่ 3	ปรับ[2]	0.52 [b]	0.70 [c]	0.75 [c]	0.97 [c]	0.41 [b]	0.41 [b]	0.44 [b]	0.50 [b]

หมายเหตุ ในสดมภ์เดียวกันที่อักษรเหมือนกัน หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$)

[1] คือ พีเอชที่ไม่ปรับเท่ากับ 5.50

[2] คือ พีเอชที่ปรับเท่ากับ 7.0

[3] คือ พีเอชที่ไม่ปรับเท่ากับ 8.82

ตารางภาคผนวกที่ ช7 ผลการเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ที่มีการปรับและไม่ปรับพีเอชเริ่มต้นภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์) และสภาวะให้อากาศ-ไร้แสง (ขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที)

เวลา (วัน)	เลี้ยงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อ ST 29							
	สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง				สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง			
	พีเอช	พีเอช *	ซีโอดี	ซีโอดี *	พีเอช	พีเอช *	ซีโอดี	ซีโอดี *
0	5.5	7.0	7.35	7.50	5.5	7.0	7.35	7.50
1	5.5	6.9	-	-	5.7	7.5	-	-
2	5.8	6.9	-	-	6.9	7.4	-	-
3	5.9	7.2	-	-	6.9	7.4	-	-
4	6.0	7.6	5.75	3.46	6.4	7.7	5.45	3.05
ซีโอดีที่ลดลง (%)			21.77	53.87			25.85	59.33
	เลี้ยงในน้ำทิ้งจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3							
0	8.8	7.0	1.30	1.33	8.8	7.0	1.30	1.33
1	9.0	7.5		-	8.9	8.6	-	-
2	9.0	7.8	-	-	9.1	8.8	-	-
3	9.1	7.9	-	-	9.2	9.0	-	-
4	9.0	7.8	1.08	0.65	9.3	9.1	1.03	0.41
ซีโอดีที่ลดลง (%)			16.92	51.28			21.15	69.17

หมายเหตุ ทุกค่ามีหน่วยเป็น ก/ล ยกเว้นพีเอชและร้อยละของซีโอดีที่ลดลง

* ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.00

\- ไม่วิเคราะห์

ตารางภาคผนวกที่ ข8 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน และสภาวะการเลี้ยงที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพีเอชของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อ ST 29 และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ที่เวลาต่างๆ (วัน)

สภาวะการเลี้ยง	COD:N	น้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน					น้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
ไร้อากาศ -ให้แสง	100:0	7.0	6.8	7.0	7.1	7.6	7.0	7.4	7.8	7.9	7.8
	100:0.5	7.0	6.4	6.6	6.9	7.2	7.0	7.9	8.0	8.1	7.9
	100:1.5	7.0	7.1	7.3	7.0	7.1	7.0	8.0	8.1	8.1	8.0
	100:2.5	7.0	6.4	6.5	6.7	7.0	7.0	8.1	8.2	8.3	8.1
ให้อากาศ -ไร้แสง	100:0	7.0	7.5	7.3	7.4	7.7	7.0	8.5	8.9	9.0	8.9
	100:0.5	7.0	7.3	7.1	7.0	7.0	7.0	8.5	8.8	8.9	8.8
	100:1.5	7.0	7.2	7.1	7.1	7.1	7.0	8.5	8.9	8.9	8.9
	100:2.5	7.0	6.8	6.7	6.7	6.9	7.0	8.5	8.8	8.9	8.9

ตารางภาคผนวกที่ ข9 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน และสภาวะการเลี้ยงที่มีผลต่อปริมาณมวลชีวภาพ (ก/ล) ของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 และน้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 ที่เวลาต่างๆ (วัน)

สภาวะการเลี้ยง	COD:N	น้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมัน				น้ำเสียจากบ่อบำบัดบ่อที่ 3			
		1	2	3	4	1	2	3	4
ไร้อากาศ -ให้แสง	100:0	0.46 ^{d}	0.59 ^{c}	1.25 ^{c}	2.25 ^{c}	0.52 ^{c}	0.69 ^{a}	0.70 ^{b}	0.78 ^{b}
	100:0.5	0.65 ^{b}	0.72 ^{b}	1.38 ^{b}	2.29 ^{b}	0.56 ^{b}	0.58 ^{c}	0.61 ^{d}	0.74 ^{c}
	100:1.5	1.29 ^{a}	1.60 ^{a}	2.56 ^{a}	4.30 ^{a}	0.64 ^{a}	0.66 ^{ab}	0.74 ^{a}	0.86 ^{a}
	100:2.5	0.20 ^{e}	0.45 ^{d}	1.17 ^{d}	1.76 ^{d}	0.61 ^{a}	0.63 ^{b}	0.65 ^{c}	0.78 ^{b}
ให้อากาศ -ไร้แสง	100:0	0.13 ^{f}	0.32 ^{e}	0.35 ^{g}	1.29 ^{g}	0.44 ^{d}	0.53 ^{d}	0.31 ^{e}	0.28 ^{d}
	100:0.5	0.23 ^{e}	0.32 ^{e}	0.45 ^{f}	1.35 ^{f}	0.41 ^{e}	0.46 ^{e}	0.29 ^{e}	0.27 ^{d}
	100:1.5	0.59 ^{c}	0.70 ^{b}	0.87 ^{e}	1.67 ^{e}	0.42 ^{de}	0.44 ^{e}	0.29 ^{e}	0.27 ^{d}
	100:2.5	0.04 ^{g}	0.08 ^{f}	0.23 ^{h}	1.09 ^{h}	0.41 ^{de}	0.43 ^{e}	0.28 ^{e}	0.26 ^{d}

หมายเหตุ ในสดมภ์เดียวกันที่อักษรเหมือนกัน หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ข10 ผลของอัตราส่วนซีโอดีต่อไนโตรเจน และแหล่งน้ำทิ้ง (ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0) ที่มีผลต่อปริมาณมวลชีวภาพ (ก/ล) ของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เมื่อเลี้ยงภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์) และสภาวะให้อากาศ-ไร้แสง (เขย่าที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที) ในเวลาต่างๆ (วัน)

แหล่งน้ำทิ้ง	COD:N	สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง				สภาวะให้อากาศ-ไร้แสง			
		1	2	3	4	1	2	3	4
ผ่านการ	100:0	0.46 ^{f}	0.59 ^{e}	1.25 ^{c}	2.25 ^{c}	0.13 ^{e}	0.32 ^{d}	0.35 ^{c}	1.29 ^{c}
กำจัด	100:0.5	0.65 ^{b}	0.72 ^{b}	1.38 ^{b}	2.29 ^{b}	0.23 ^{d}	0.32 ^{d}	0.45 ^{b}	1.35 ^{b}
น้ำมัน	100:1.5	1.29 ^{a}	1.60 ^{a}	2.56 ^{a}	4.30 ^{a}	0.59 ^{a}	0.70 ^{a}	0.87 ^{a}	1.67 ^{a}
	100:2.5	0.20 ^{g}	0.45 ^{f}	1.17 ^{d}	1.76 ^{d}	0.04 ^{f}	0.08 ^{e}	0.23 ^{e}	1.09 ^{d}
	100:0	0.52 ^{e}	0.69 ^{c}	0.70 ^{f}	0.78 ^{f}	0.44 ^{b}	0.53 ^{b}	0.31 ^{d}	0.28 ^{e}
บ่อบำบัด	100:0.5	0.56 ^{d}	0.58 ^{e}	0.61 ^{h}	0.74 ^{g}	0.41 ^{c}	0.46 ^{c}	0.29 ^{d}	0.27 ^{e}
บ่อที่ 3	100:1.5	0.64 ^{bc}	0.66 ^{cd}	0.74 ^{e}	0.86 ^{e}	0.42 ^{bc}	0.44 ^{c}	0.29 ^{d}	0.27 ^{e}
	100:2.5	0.61 ^{c}	0.63 ^{d}	0.65 ^{g}	0.78 ^{f}	0.41 ^{c}	0.43 ^{c}	0.28 ^{d}	0.26 ^{e}

หมายเหตุ ในสดมภ์เดียวกันที่อักษรเหมือนกัน หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ที่ $p<0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ข11 ผลการเลี้ยงเชื้อราทนอุณหภูมิสูง ST 29 ในน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานน้ำมันปาล์ม เติม NH_4NO_3 ร้อยละ 0.06 ในสภาพปลอดเชื้อ และไม่ปลอดเชื้อ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

เวลา (วัน)	พีเอช	น้ำมันและกรีส (ก/ล)	น้ำมันและกรีสที่ลดลง (%)	ซีโอดี (ก/ล)	ซีโอดีที่ลดลง (%)	มวลชีวภาพ (ก/ล)
สภาพปลอดเชื้อ [1]						
0	4.7	20.90	-	34.02	-	3.35
1	5.1	16.57	20.72	20.52	39.68	11.63
2	5.3	7.84	62.49	17.89	47.41	24.73
3	5.3	0.61	97.08	12.89	62.11	34.58
4	5.4	0.20	99.08	10.38	69.49	48.19
สภาพไม่ปลอดเชื้อ [2]						
0	4.7	20.83	-	34.03	-	3.35
1	5.1	17.71	14.98	20.60	39.47	10.73
2	5.6	8.41	59.63	16.18	52.45	24.01
3	6.4	5.63	72.97	10.70	68.56	34.36
4	6.3	2.02	90.30	9.28	72.73	44.87

หมายเหตุ [1] คือใช้น้ำทิ้งที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องซาเซลเซียส นาน 15 นาที
[2] คือใช้น้ำทิ้งที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ

ตารางภาคผนวกที่ ข12 ผลของการเลี้ยง *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำทิ้งที่ผ่านการกำจัดน้ำมันโดยเชื้อรา ST 29 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 7.0 เติมไนโตรเจน [$(NH_4)_2HPO_4$] 100:1.5 (COD:N) ในสภาพปลอดเชื้อและไม่ปลอดเชื้อ ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-ให้แสง (3,000 ลักซ์)

เวลา (วัน)	พีเอช	พีเอช *	ซีโอดี (ก/ล)	ซีโอดี * (ก/ล)	ซีโอดีที่ลดลง (%)	ซีโอดีที่ลดลง (%) *	มวล (ก/ล)	มวล* (ก/ล)
สภาพปลอดเชื้อ [1]								
0	7.0	7.0	11.20	10.10	-	-	-	-
2	7.2	7.0	9.60	-	5.88	0	1.49	0
4	7.3	7.1	7.55	-	25.98	0	2.55	0
6	7.4	7.1	7.10	-	30.39	0	2.83	0
8	7.4	7.0	6.95	-	31.86	0	2.87	0
10	7.4	7.0	6.60	-	35.29	0	2.78	0
สภาพไม่ปลอดเชื้อ [2]								
0	7.0	7.0	10.20	10.10	-	-	-	-
2	7.3	7.1	8.05	10.10	21.08	0.00	1.45	0.03
4	7.4	7.1	7.01	10.00	31.27	1.00	2.24	0.04
6	7.5	7.1	5.96	9.95	41.57	1.49	2.30	0.04
8	7.5	7.1	4.12	9.90	59.61	1.98	2.69	0.02
10	7.5	7.1	4.00	9.00	60.78	10.89	2.41	0.02

หมายเหตุ [1] คือใช้น้ำทิ้งที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

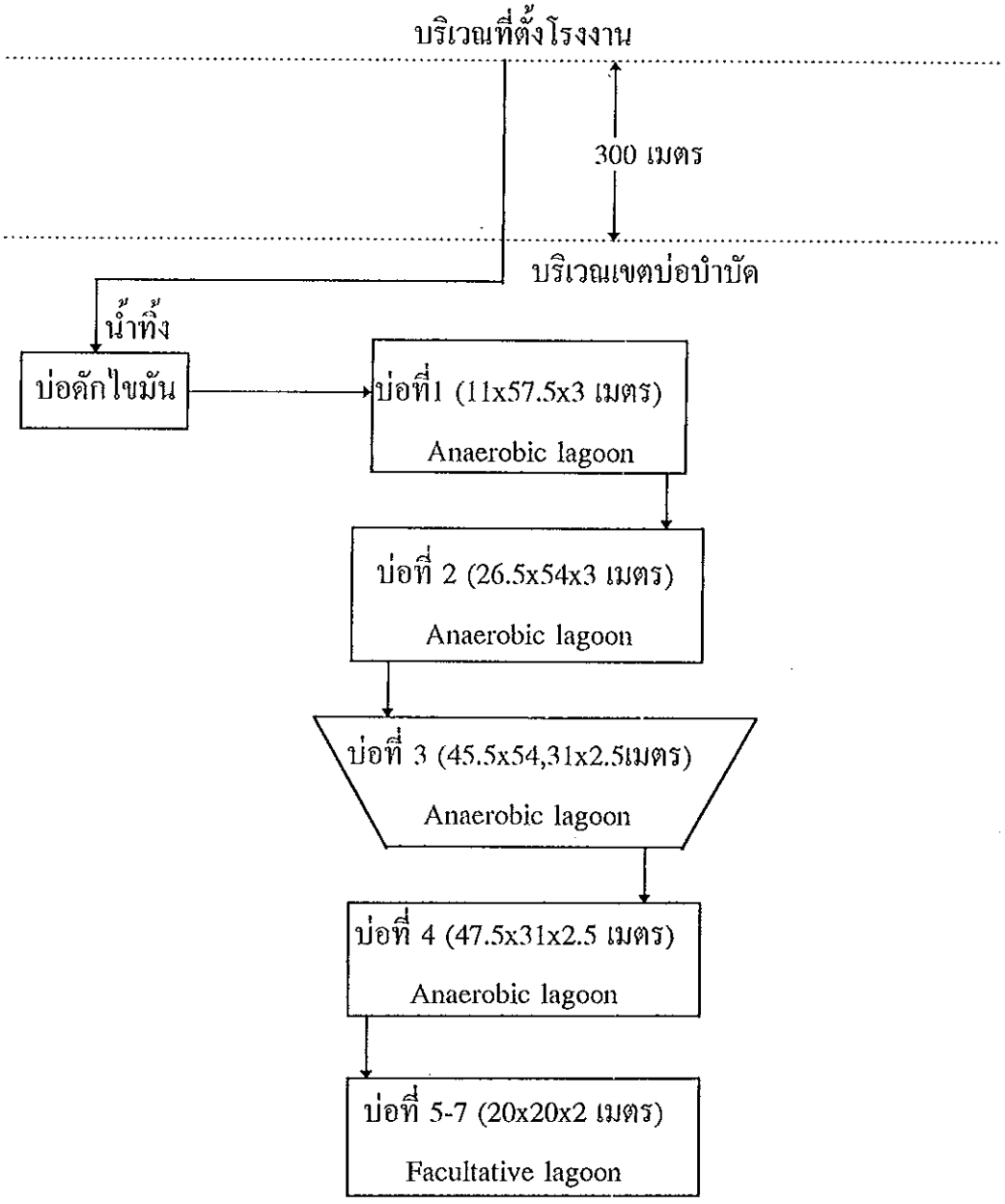
[2] คือใช้น้ำทิ้งที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ

* คือชุดเปรียบเทียบที่ไม่เติมเชื้อ

- คือไม่เปลี่ยนแปลง

มวล คือปริมาณมวลชีวภาพ

ภาคผนวก ค



รูปภาคผนวกที่ ค1 แผนผังแสดงระบบบ่อบำบัดน้ำเสียจากโรงงานน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด

หมายเหตุ มีการเติมสารไมโครไนซ์ในบ่อที่ 1 และ 3 ประมาณ 300 มล/2 สัปดาห์ เมื่อเกิดกลิ่นเหม็น น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วจะไม่ปล่อยออกสู่ภายนอก

บ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 1

บ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 2

รูปภาคผนวกที่ ค2 บ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 1 และ 2 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

รูปภาคผนวกที่ ค3 บ่อบำบัดน้ำเสียบ่อที่ 3 ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม