ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์และการลดความเข้มของสี

Factors Influencing on the Separation of Suspended Solids and Oil from Palm Oil Mill Effluent by Enzymes and Decolorization

โสภา จันทภาโส

Sopha Chantaphaso

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biotechnology

Prince of Songkla University

2542

Order Key 18610
BIB Key 156138

เลขหมู่ TP248.15.E59 ส794 2542 ค.2
เลขทะเบียน
5 1 ส.ค. 2542

ชื่อวิทยานิพนธ์	ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์และการลดความเข้มของสี
ผู้เขียน	นางสาวโสภา จันทภาโส
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2541

คณะกรรมการที่ปรึกษา

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

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญ หันพงศ์กิตติกุล)

คณะกรรมการสอบ

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

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญ หันพงศ์กิตติกุล)

ป่วยและอยู่ระหว่างการพักฟื้น.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วัลลี สุวจิตตานนท์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ก้าน จันทร์พรหมมา)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์และการลดความเข้มของสี
ผู้เขียน	นางสาวโสภา จันทภาโส
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2541

บทคัดย่อ

จากผลการวิจัยเบื้องต้นพบว่าเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275 สามารถแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งของโรงงานน้ำมันปาล์มหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง งานวิจัยนี้จึงศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter ในลักษณะตะกอนเบา พบว่าคุณลักษณะของน้ำทิ้งจาก decanter โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณน้ำมันและสารแขวนลอยที่มีอยู่จะมีผลต่อการเกิดตะกอนเบา (bulking solids) จึงเลือกใช้ตัวอย่างน้ำทิ้งที่มีค่าสารแขวนลอยสูงและมีปริมาณน้ำมันต่ำ (9,500 มิลลิกรัมต่อลิตร) เพื่อศึกษาต่อไป ผลการทดลองพบว่าน้ำทิ้งต้องมีปริมาณน้ำมันไม่ต่ำกว่า 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตรจึงจะทำให้เกิดตะกอนเบาจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ (มีค่าแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) หลังการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ความเข้มข้นต่ำสุดของเอนไซม์จาก *A. niger* ATCC 6275 และ เอนไซม์ไซลาเนสทางการค้า (Meicellase) คือ 200 และ 600 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสสามารถลดระยะเวลาการบ่มเหลือ 1 ชั่วโมง และระดับพีเอชที่เหมาะสมคือ พีเอช 4.5 กระบวนการแยกโดยใช้เอนไซม์นี้สามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 35 และกำจัดน้ำมันได้ร้อยละ 95 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

เมื่อนำสารละลายส่วนใส (สีน้ำตาล) หลังการแยกสารแขวนลอยออกแล้วมาทดลองลดความเข้มของสีด้วยวิธีการต่างๆ พบว่าวิธีการทางเคมีโดยใช้สารช่วยตกตะกอนมีประสิทธิภาพในการลดความเข้มของสีได้สูงกว่าวิธีการทางชีวภาพ (ใช้เอนไซม์ทางการค้า ได้แก่ เปอร์ออกซิเดส และจุลินทรีย์ ได้แก่ *Phanerochaete chrysosporium* และ *Coriolus*

versicolor) และวิธีการทางกายภาพ (โดยการดูดซับด้วย activated carbon และ เมล็ดยางพารา และการกรองด้วยถังทราย) ในบรรดาสารตกตะกอนที่ทดสอบที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรสามารถลดความเข้มของสีได้สูงสุดร้อยละ 84.5 และลดค่าซีโอดีในสารละลายส่วนใสได้ร้อยละ 86.5

Thesis Title	Factors Influencing on the Separation of Suspended Solids and Oil from Palm Oil Mill Effluent by Enzymes and Decolorization
Author	Miss Sopha Chantaphaso
Major Program	Biotechnology
Academic Year	1998

Abstract

Preliminary study revealed that the enzymes from *Aspergillus niger* ATCC 6275 was able to separate the suspended solids and oil from palm oil mill effluent after incubation at 40^0C for 24 h. This investigation was therefore carried out to study factors affecting the separation of suspended solids and oil from the decanter effluent as bulking solids. It was found that the characteristics of the effluent, especially the concentrations of oil and suspended solids, had a great influence on the occurrence of bulking solids and the sample containing high suspended solids and low oil concentration (9,500 mg/l) was chosen for further studies. Results indicated that the effluent must contain oil not less than 15,000 mg/l so that the bulking solid would occur from the reaction of the enzyme (with xylanase activity of 200 U/ml) after incubation at 40°C for 6 h. Minimum concentrations of enzyme from *Aspergillus niger* ATCC 6275 and

commercial xylanase were 200 and 600 U/ml, respectively. Incubation at 60^0C could reduce the incubation time to 1 h. The optimum pH was 4.5. This enzymatic separation process resulted in the COD reduction of 35% and oil removal of 95% under the optimum conditions.

Studies on the decolorization of the supernatant after the separation of bulking solids revealed that the chemical method was more promising than the biological method (using the commercial enzyme ; peroxidase, and microorganisms ; *Phanerochaete chrysosporium* and *Coriolus versicolor*) and physical method (activated carbon and Para rubber seed adsorption and sand tank filter). Among the coagulants and concentrations tested, polyferric sulfate at 10 ml/l with CaO (10 g/l) gave the maximum decolorization (84.5%) and COD removal (86.5%).

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำในการวิจัย การค้นคว้าและการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรัญ หันพงศ์กิตติกูล กรรมการที่ปรึกษาร่วมที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆ และตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล กรรมการผู้แทนคณะอุตสาหกรรมเกษตร และรองศาสตราจารย์ ดร.วัลลี สุวจิตตานนท์ กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ทุนอุดหนุนการค้นคว้าวิจัย ขอขอบคุณบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด และบริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์ม จำกัด ที่เอื้อเฟื้อวัตถุดิบ

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณอา และน้องๆ ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษามาโดยตลอด ขอขอบคุณ คุณสุภาวดี ฟูกุล และคุณอรรณฤมล พูลศิริ ที่อำนวยความสะดวกในด้านเครื่องคอมพิวเตอร์ ขอขอบคุณ คุณวาสนา มู่สา ที่อำนวยความสะดวกในการถ่ายภาพ ตลอดจนนักศึกษาปริญญาโทสาขาเทคโนโลยีชีวภาพและเจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

โสภา จันทภาโส

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อ.....(3)
Abstract.....(5)
กิตติกรรมประกาศ.....(7)
สารบาญ.....(8)
รายการตาราง.....(10)
รายการรูป.....(14)
บทที่
1 บทนำ.....1
บทนำต้นเรื่อง.....1
ตรวจเอกสาร.....2
1 แหล่งที่มา ปริมาณ และคุณลักษณะของน้ำทิ้งจากการสกัดน้ำมัน.....
ปาล์มแบบมาตรฐาน.....2
2 การแยกหรือกำจัดน้ำมันออกจากน้ำทิ้ง.....7
3 การแยกน้ำมันและสารแขวนลอยโดยใช้เอนไซม์.....10
4 สีและการลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม.....12
วัตถุประสงค์.....23
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ.....24
วัสดุ.....24
อุปกรณ์.....26
วิธีการ.....28
1 ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก.....
decanter ของโรงงานน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์.....28

สารบาญ (ต่อ)

หน้า

2 การลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสหลังการแยกสาร.....
แขวนลอยและน้ำมัน.....30
3 ผลและวิจารณ์.....35
4 สรุป.....79
ข้อเสนอแนะ.....81
เอกสารอ้างอิง.....82
ภาคผนวก.....89
ประวัติผู้เขียน.....105

รายการตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ปริมาณมลสารโดยเฉลี่ยในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 4 โรงงาน 6

2 คุณลักษณะน้ำทิ้งโดยเฉลี่ยจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 4 โรงงาน 8

3 คุณลักษณะน้ำทิ้งจาก decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 38

4 ผลของปริมาณน้ำมันในน้ำทิ้งจาก decanter ต่อการเกิดตะกอนเบาหลังจากเติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 14 ชั่วโมง 41

5 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เติมลงในน้ำทิ้งจาก decanter ที่มีน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อการเกิดตะกอนเบาหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสนาน 14 ชั่วโมง 43

6 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มต่อการเกิดตะกอนเบาหลังจากเติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ในน้ำทิ้งจาก decanter ที่มีน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร 46

7 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเกิดตะกอนเบาหลังการเติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ในน้ำทิ้งจาก decanter ที่มีน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง 48

8 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อค่าแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสจาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่เติมลงในน้ำทิ้งจาก decanter หลังบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 50

9 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ต่อการเกิดสีในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันหลังบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง 52

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

10 ผลของสารอาหารต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์จาก *Phanerochaete chrysosporium* ที่เลี้ยงในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน 53

11 ผลของสารอาหารต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์จาก *Phanerochaete chrysosporium* ที่เลี้ยงในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน 55

12 ผลของสารอาหารต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์จาก *Coriolus versicolor* ที่เลี้ยงในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน 56

13 ผลของสารอาหารต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์จาก *Coriolus versicolor* ที่เลี้ยงในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน 58

14 ผลของชนิดและปริมาณสารเคมีต่อการเปลี่ยนแปลงสี พีเอช และปริมาตรตะกอนที่เกิดขึ้นในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter หลังเติมสารเคมีแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 ชั่วโมง 60

15 ผลของพีเอชต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและ น้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter หลังเติมสารเคมีแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 ชั่วโมง 62

16 ผลของพีเอชต่อการเกิดตะกอนในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและ น้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter หลังเติมสารเคมีแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 ชั่วโมง 64

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

17 ผลของการเติมโพลีเฟอริกซัลเฟตที่ใช้ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter ต่อค่าพีเอช สี ความเข้มของสีที่ลดลงและปริมาตรตะกอนที่เกิดขึ้นหลังตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 65

18 ผลของปริมาณแคลเซียมออกไซด์ที่ใช้ร่วมกับโพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร ต่อค่าพีเอช ค่าสี การเปลี่ยนแปลงของสีและปริมาตรตะกอนที่เกิดขึ้นในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter หลังตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 67

19 ผลของความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟตที่ใช้ร่วมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ต่อค่าพีเอช ความเข้มของสี ค่าสี และปริมาตรตะกอนในสารละลายส่วนใสหลังตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 68

20 ผลของความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟตที่ใช้ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ต่อค่าพีเอช ความเข้มของสี ค่าสี และปริมาตรตะกอนในสารละลายส่วนใสหลังตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 70

21 ผลของความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟตที่ใช้ร่วมกับโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ต่อค่าพีเอช ความเข้มของสี ค่าสี และปริมาตรตะกอนในสารละลายส่วนใสหลังตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 71

22 ผลของความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟตที่ใช้ร่วมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ต่อค่าพีเอช ความเข้มของสี ค่าสี และปริมาตรตะกอนในสารละลายส่วนใสหลังตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง 72

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

23 ผลของการใช้แคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตรปรับพีเอชในสารละลายส่วนใสหลังแยกสารแขวนลอยและน้ำมันร่วมกับการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตรต่อพีเอช ความเข้มของสี และปริมาตรตะกอน หลังตั้งทิ้งไว้ 3 ชั่งโมง 73

24 การลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสหลังแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter โดยวิธีการทางกายภาพ 77

ตารางภาคผนวกที่ 1 การเตรียมสารละลายสีมาตรฐานความเข้มข้น 0-500 หน่วยสี 91

รายการรูป

รูปที่	หน้า
1 แผนภูมิการผลิตน้ำมันปาล์มดิบเป็นกระบวนการผลิตแบบใช้น้ำที่มีการใช้เครื่องสกัดแยกน้ำปาล์ม	3
2 แผนภูมิการผลิตน้ำมันปาล์มดิบเป็นกระบวนการผลิตแบบใช้น้ำที่ไม่มีการใช้เครื่องสกัดแยกน้ำปาล์ม	4
3 ระบบบ่อบำบัดน้ำทิ้งของโรงงานน้ำมันปาล์มที่มีการย่อยแบบไม่ต้องการอากาศ 2 ระยะและแบบกึ่งให้อากาศ	11
4 กลไกการดูดซับสารของ Activated carbon	19
5 ความคงตัวของเอนไซม์ไซลาเนสในรูป freezed dry ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 เดือน	37
6 ลักษณะของน้ำทิ้งจาก decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	39
7 ลักษณะการแยกชั้นของน้ำทิ้งจาก decanter หลังเติมสารละลายเอนไซม์ Meicellase บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 ชั่วโมง	45
8 เปรียบเทียบสีของสารละลายส่วนใสก่อนและหลังการลดความเข้มของสีด้วยโพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ 10 กรัมต่อลิตร	75
9 เปรียบเทียบสีของสารละลายส่วนใสก่อนและหลังการดูดซับด้วยเนื้อเมล็ดยางพารา	78
รูปภาคผนวกที่	
1 กราฟมาตรฐานของสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์	93
2 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานไซโลสวิเคราะห์ด้วยวิธี Somogyi - Nelson	102
3 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกลูโคสวิเคราะห์ด้วยวิธี Somogyi -Nelson	104

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

จากปริมาณการผลิตปาล์มน้ำมันที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้มีวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการผลิตเพิ่มขึ้นด้วย ได้แก่ ทะลายเปล่า เปลือกผลปาล์ม กะลาปาล์ม และน้ำทิ้ง โดยเฉพาะน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตมีประมาณ 2.5 ลูกบาศก์เมตรต่อตันของน้ำมันที่ผลิตได้ น้ำทิ้งมีลักษณะสีน้ำตาลเข้ม มีปริมาณสารอินทรีย์สูง และมีความข้นหนืดสูง โดยมีค่าซีโอดี สารแขวนลอย และน้ำมันเท่ากับ 52.45, 12.48 และ 8.72 กิโลกรัมต่อตันทะลายปาล์มสดตามลำดับ ซึ่งน้ำมันในน้ำทิ้งมีลักษณะเป็นอิมัลชั่นไม่สามารถแยกออกได้ด้วยวิธีการทางกายภาพ เช่น การใช้ความร้อน และวิธีการทางเคมี เช่น การใช้ $FeCl_3$, $Al_2(SO_4)_3$ และ $Ca(OH)_2$ (อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2537) การใช้วิธีการทางชีวภาพแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์มคาดว่าจะให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าวิธีการทางกายภาพ และวิธีการทางเคมี สำหรับการใช้วิธีการทางชีวภาพนั้นมีงานวิจัยเบื้องต้นเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้เอนไซม์ที่ผลิตจาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 และเอนไซม์ทางการค้าบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มพบว่า เอนไซม์ทั้งสองแหล่งสามารถแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งของโรงงานน้ำมันปาล์มได้ ทำให้ของเหลวส่วนที่เหลือมีปริมาณน้ำมันและค่าซีโอดีลดลงเท่ากับร้อยละ 99 และ 71 ตามลำดับ (Prasertsan *et al.*, 1997) ปัญหาที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือสีของน้ำทิ้งหลังการบำบัดซึ่งยังคงเป็นสีน้ำตาล ทำให้โรงงานไม่สามารถปล่อยน้ำทิ้งออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้ ทางโรงงานจึงต้องมีบ่อเก็บกักน้ำทิ้งเหล่านี้ ทำให้ต้องสิ้นเปลืองพื้นที่และค่าใช้จ่ายในการลงทุนมาก งานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาต่อเนื่องเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter โดยใช้เอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 และเอนไซม์ทางการค้า (Meicellase) และศึกษาการลดความเข้มของสีโดยเปรียบเทียบการใช้วิธีการทางชีวภาพ (เอนไซม์ และจุลินทรีย์) กับวิธีการทางเคมีและวิธีการทางกายภาพ

ตรวจเอกสาร

1. แหล่งที่มา ปริมาณ และคุณลักษณะของน้ำทิ้งจากการสกัดน้ำมันปาล์มแบบมาตรฐาน

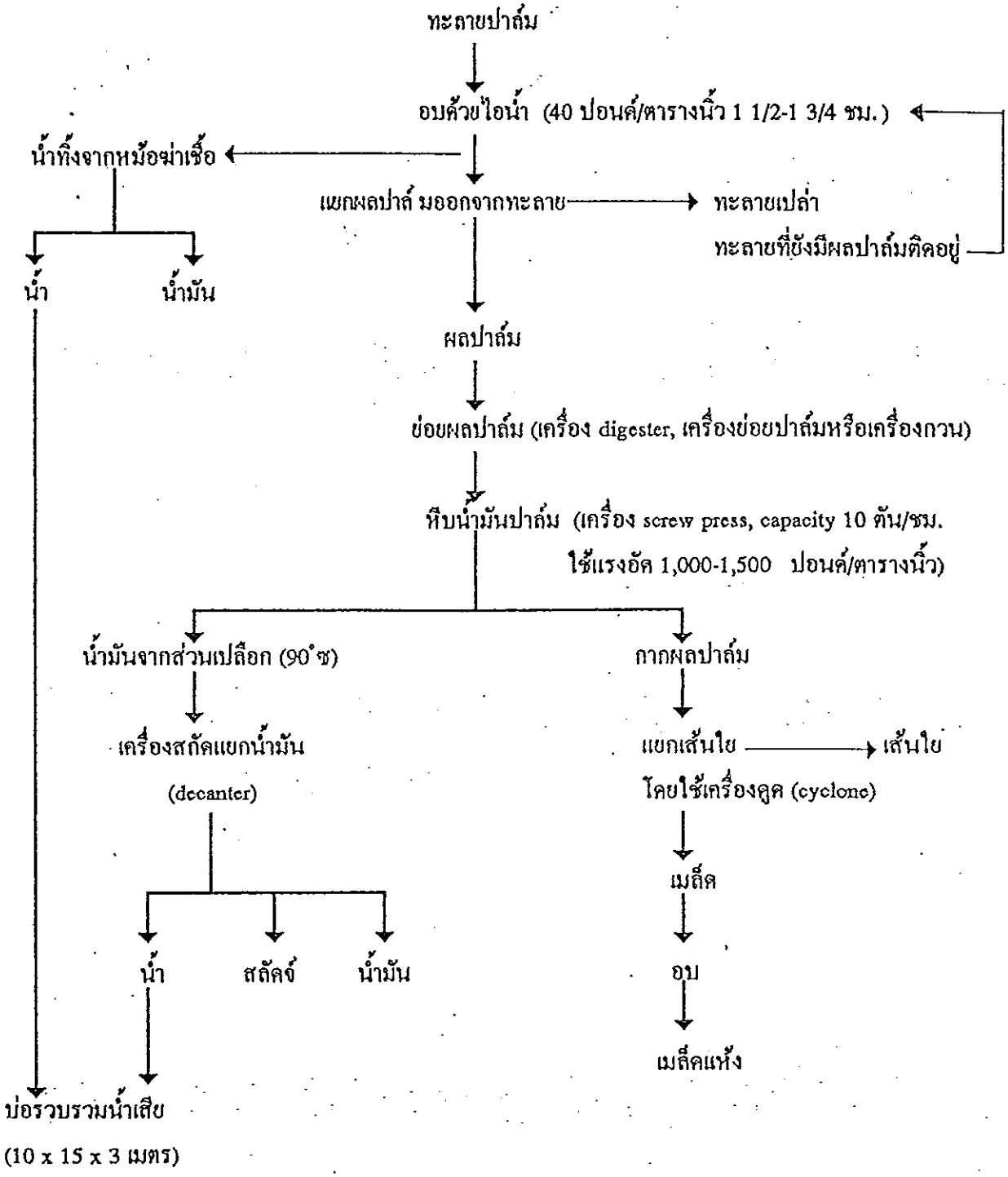
1.1 กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มแบบมาตรฐาน

กระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มแบ่งเป็น 2 ประเภทคือการสกัดแบบไม่ใช้น้ำ (dry process) และแบบใช้น้ำ (wet process) หรือที่เรียกว่าแบบมาตรฐาน (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ, 2533) ในที่นี้จะกล่าวเฉพาะกระบวนการสกัดแบบใช้น้ำเนื่องจากเป็นแหล่งที่มาของน้ำทิ้ง

การสกัดแบบมาตรฐานแบ่งย่อยเป็น 2 ลักษณะคือแบบที่ใช้เครื่องแยกน้ำมันแบบ 3 เฟสที่เรียกว่า decanter (รูปที่ 1) และแบบที่ใช้เครื่องแยกน้ำมันแบบ 2 เฟสที่เรียกว่า separator (รูปที่ 2) กระบวนการสกัดแบบนี้ใช้ในโรงงานขนาดใหญ่ และขนาดกลาง โดยเริ่มจากการนำทะลายปาล์มสดมาอบด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิระหว่าง 120-130 องศาเซลเซียส ความดัน 40 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 45 นาที การอบทะลายปาล์มมีจุดประสงค์เพื่อยับยั้งปฏิกริยาไลโปไลซีสที่จะทำให้เกิดกรดไขมันอิสระในผลปาล์ม นอกจากนี้ไอน้ำยังทำให้ผลปาล์มอ่อนนุ่มสะดวกในการหีบและขั้วหลุดจากทะลายได้ง่าย ผลปาล์มถูกแยกออกโดยผ่านทะลายปาล์มที่อบแล้วเข้าเครื่องแยกผลปาล์มซึ่งเป็นทรงกระบอกกลวงหมุนด้วยความเร็วประมาณ 23 รอบต่อนาที ผลปาล์มถูกนำไปย่อยด้วยเครื่องย่อยผลปาล์มซึ่งภายในมีใบพัดคอยกวนเพื่อให้เส้นใยฉีกออกจากเมล็ด และทำให้เซลล์น้ำมันแตกตัวเพื่อง่ายต่อการหีบน้ำมันในขั้นต่อไปมีการเติมน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียสเพื่อช่วยในการสกัดน้ำมัน ขั้นตอนนี้ใช้เวลาประมาณ 15-20 นาที จากนั้นจะถูกป้อนเข้าเครื่องหีบแบบเกลียวอัด (screw press) เพื่อหีบน้ำมันจากส่วนเปลือกและน้ำมันจะถูกแยกออกจากน้ำ และเศษเส้นใยรวมทั้งสิ่งสกปรกอื่นๆ โดยการใช้เครื่อง decanter หรือเครื่อง separator

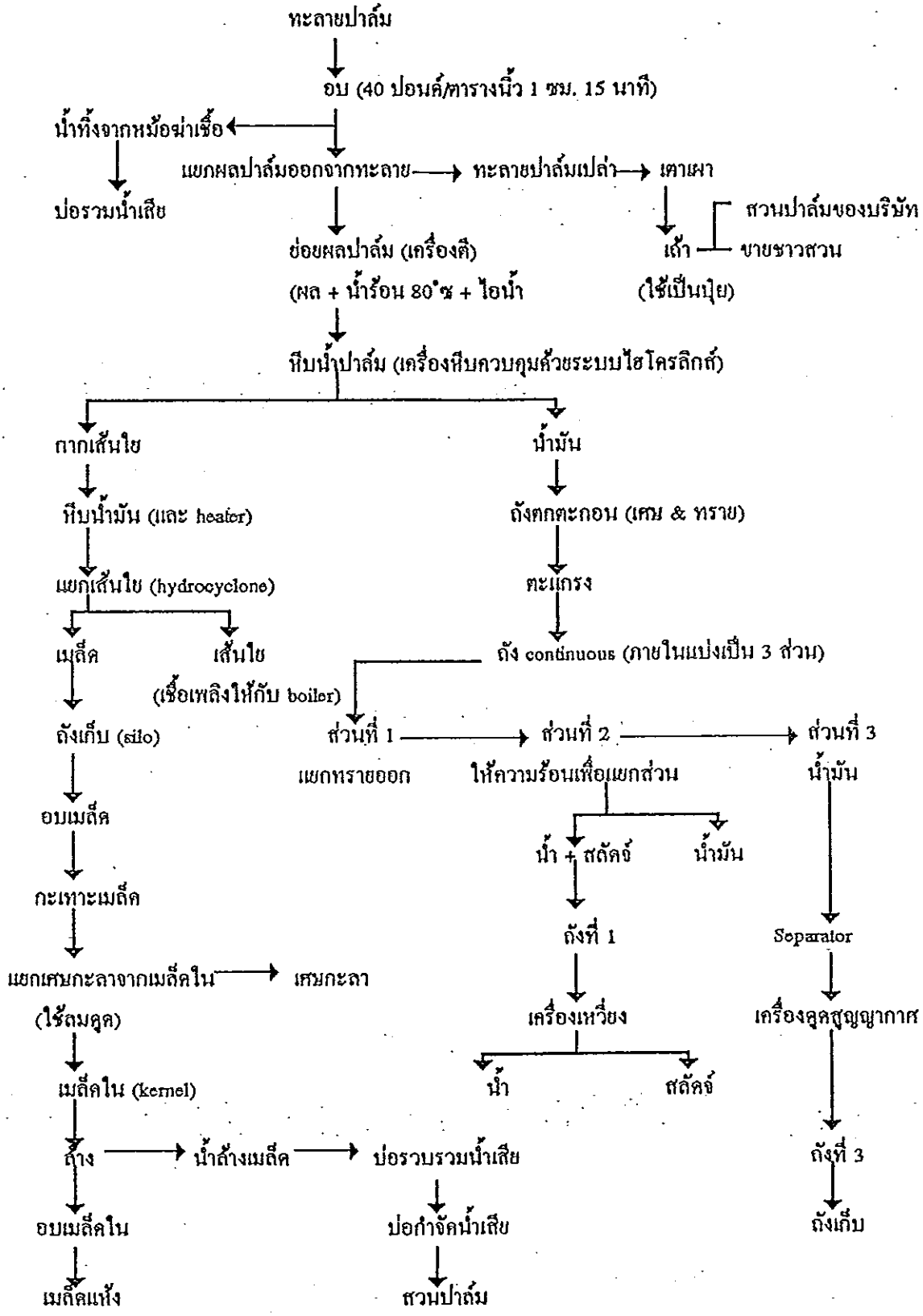
1.2 ปริมาณและคุณลักษณะของน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม

จากกระบวนการสกัดน้ำมันปาล์มแบบมาตรฐานจะมีน้ำทิ้งออกมามาก ส่วนใหญ่มาจากขั้นตอนการอบทะลายปาล์มในรูปน้ำทิ้งจากหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (sterilizer condensate) และน้ำทิ้งจากเครื่องแยกน้ำมันหรือจากเครื่องเหวี่ยงแยกน้ำมันจากน้ำสลัดจ์ น้ำทิ้งจาก



รูปที่ 1 แผนภูมิการผลิตน้ำมันปาล์มดิบเป็นกระบวนการผลิตแบบใช้น้ำที่มีการใช้เครื่องสกัดแยกน้ำมัน

ที่มา : พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ (2533)



รูปที่ 2 แผนภูมิการผลิตน้ำมันปาล์มดิบเป็นกระบวนการผลิตแบบใช้น้ำที่ไม่มีการใช้เครื่องสกัดแยกน้ำมัน

ที่มา : พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ (2533)

หม้อฆ่าเชื้อมีประมาณ 200 ลิตรต่อ 10 ตันทะลายปาล์ม (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ, 2533) ปริมาณน้ำทิ้งคิดเป็น 2.5-3.0 เท่าของปริมาณน้ำมันที่ผลิตได้ (Cheah, *et al.*, 1988) ส่วน Hwang และคณะ (1978) รายงานว่าปริมาณน้ำทิ้งทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 60 ของปริมาณทะลายปาล์ม และมีน้ำมันร้อยละ 2 ปนอยู่ในน้ำทิ้งจากหม้อฆ่าเชื้อ

จากการสำรวจปริมาณน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มในประเทศมาเลเซีย โดย PORIM/RMIM (1981 อ้างโดยอรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2537) ประมาณการว่าน้ำทิ้งส่วนใหญ่มาจากหม้อฆ่าเชื้อและมีปริมาณ 0.9 ลูกบาศก์เมตรต่อตันน้ำมัน น้ำทิ้งจากเครื่องแยกกรวดทราย (desander) 0.1-0.2 ลูกบาศก์เมตรต่อตันน้ำมัน และน้ำทิ้งจากเครื่องแยก separator หรือ decanter 1.5 ลูกบาศก์เมตรต่อตันน้ำมัน โดยน้ำทิ้งรวมมีประมาณ 2.5 ลูกบาศก์เมตรต่อตันของน้ำมันที่ผลิตได้

อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ (2537) ศึกษาการแยกน้ำมันจากน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 4 โรงงานซึ่งมีการแยกน้ำมัน 3 แบบคือ การแยกน้ำมันโดยใช้เครื่อง decanter การแยกน้ำมันจากน้ำสลัดจ์โดยใช้เครื่อง separator และการแยกน้ำมันโดยใช้เครื่อง separator ร่วมกับ decanter และขั้นสุดท้ายคือการดักน้ำมันจากน้ำทิ้งก่อนปล่อยลงสู่บ่อบำบัดโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ใช้ decanter ในการแยกน้ำมันโดยตรงจะมีปริมาณน้ำทิ้งน้อยที่สุดคือ 0.44 ลูกบาศก์เมตรต่อตันทะลายปาล์มสด ในขณะที่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ใช้ separator หรือ separator ร่วมกับ decanter มีปริมาณน้ำทิ้ง 0.90-1.81 ลูกบาศก์เมตรต่อตันทะลายปาล์มสด (ตารางที่ 1) ทั้งนี้เนื่องจากการแยกน้ำมันโดยใช้เครื่อง decanter มีการผสมน้ำปริมาณน้อยมาก ประมาณ 1 ลูกบาศก์เมตรต่อตันทะลายปาล์มสด ในขณะที่การแยกน้ำมันจากน้ำสลัดจ์โดยใช้เครื่อง separator หรือ separator ร่วมกับ decanter นี้ต้องมีถังลอยซึ่งเติมน้ำเพื่อให้น้ำมันแยกตัวจากสารแขวนลอยได้ดีและน้ำสลัดจ์ที่ตกจมยังคงมีน้ำมันอยู่ในปริมาณมากจะถูกนำไปเติมน้ำก่อนที่จะแยกโดยใช้ separator ร่วมกับ decanter ทำให้น้ำทิ้งมีปริมาณมาก โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่สำรวจโดยเฉลี่ยมีน้ำทิ้ง 0.87 ลูกบาศก์เมตรต่อตันทะลายปาล์มสดมีค่าซีโอดี บีโอดี สารแขวนลอย และน้ำมันเท่ากับ 52.45, 26.58, 12.84 และ 8.72 กิโลกรัมต่อตันทะลายปาล์มสดตามลำดับ

ลักษณะของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ใช้ decanter ในการแยกน้ำมันมีพีเอช 4.65 และมีค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เฉลี่ยดังนี้คือ ซีโอดี บีโอดี สารแขวนลอย และ

ตารางที่ 1 ปริมาณมลสารโดยเฉลี่ยในน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 4 โรงงาน

โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	เวลาในการทำงาน (ชม.)	ปริมาณทะลายปาล์มสด (ตัน)	กำลังการผลิต (ตัน/ชม.)	อัตราการไหล (ลบ.ม./ชม.)	ปริมาณน้ำทิ้ง (ลบ.ม/ตันทะลายปาล์มสด)	ซีโอดี	บีโอดี (กก./ตันทะลายปาล์มสด)	สารแขวนลอย	น้ำมันและกรีส
บริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์ม จำกัด[ก]	19.56	464.60	23.75	10.05	0.44	47.51	25.88	10.8	6.1
บริษัททักษิณปาล์ม จำกัด[ข]	17.60	437.53	24.85	21.53	0.94	62.54	27.59	18.6	6.9
บริษัทสยามน้ำมัน[ก] และอุตสาหกรรม จำกัด	24.00	220.00	9.16	10.76	1.18	47.81	26.62	6.1	14.6
บริษัทสหอุตสาหกรรม[ก] น้ำมันปาล์ม จำกัด	15.88	414.67	26.11	22.37	0.90	51.93	26.24	15.8	7.3
ค่าเฉลี่ย	19.21	384.20	21.14	16.19	0.87	52.45	26.58	12.8	8.7
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	3.03	96.43	7.93	6.67	0.27	6.08	0.64	4.8	3.4

ก : สกัดน้ำมันโดยใช้เครื่อง decanter

ข : สกัดน้ำมันโดยใช้เครื่อง separator กับ decanter

ค : สกัดน้ำมันโดยใช้เครื่อง separator

ที่มา : อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ (2537)

น้ำมันเท่ากับ 113.96, 59.39, 26.3 และ 14.7 กรัมต่อลิตร ในขณะที่โรงงานที่ใช้ separator หรือ separator ร่วมกับ decanter มีพีเอช 4.53-4.67 และมีค่าพารามิเตอร์เหล่านี้ใกล้เคียงกันและอยู่ในช่วง 42.64-68.34, 21.45-30.70, 5.2-20.8 และ 7.6-14.2 กรัมต่อลิตรตามลำดับ (ตารางที่ 2) นอกจากนี้น้ำทิ้งยังประกอบด้วยอินทรียสารและแร่ธาตุต่างๆที่สำคัญได้แก่ ไนโตรเจน (ร้อยละ 1.37-2.08) โปแตสเซียม (ร้อยละ 0.09-4.15) ฟอสฟอรัส (ร้อยละ 0.28-0.42) เป็นต้น (Okiy, 1987; Hwang, *et al.*, 1987 อ้างโดย อารี กังแฮ, 2536) พารามิเตอร์เหล่านี้ล้วนบ่งชี้ให้เห็นแนวโน้มที่น้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มจะก่อให้เกิดปัญหาด้านมลภาวะ

2. การแยกหรือกำจัดน้ำมันออกจากน้ำทิ้ง

การแยกหรือกำจัดน้ำมัน (หรือไขมัน) ในน้ำทิ้ง เป็นการบำบัดขั้นต้นก่อนเข้าสู่ระบบบำบัดขั้นที่สองด้วยกระบวนการทางชีวภาพ โดยทั่วไปจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียที่สามารถใช้น้ำมันและไขมันเป็นสารอาหารมีปริมาณน้อยชนิด นอกจากนี้การกำจัดน้ำมันออกจากระบบการบำบัดจะยุ่งยาก ดังนั้นในการบำบัดขั้นต้นจึงมีการกำจัดน้ำมันและสารอินทรีย์ต่างๆออกจากระบบเพื่อจะทำให้การบำบัดขั้นต่อไปมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

วิธีการกำจัดน้ำมันที่มีอยู่ในน้ำเสียมีดังนี้

2.1 วิธีการทางกายภาพ และเคมี

การกำจัดไขมันและน้ำมันด้วยวิธีการทางกายภาพสามารถทำได้โดยการทำให้ไขมันและน้ำมันเกิดการลอยตัวโดยอาศัยการกระจายตัวของฟองอากาศจากเครื่องอัดอากาศ (Forster, 1992)

อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ (2537) ทดลองแยกน้ำมันจากน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยวิธีการต่างๆ พบว่าน้ำมันที่มีอยู่ในน้ำทิ้งจากหม้อนึ่งฆ่าเชื้อสามารถแยกได้ง่ายโดยตั้งทิ้งไว้ก็เกิดการแยกชั้น สำหรับน้ำทิ้งจากเครื่องแยกหรือน้ำทิ้งจากบ่อพักน้ำทิ้งรวมไม่สามารถแยกออกโดยวิธีการตกจม (normal setting) การใช้ความร้อนพร้อมกับการแกว่งอย่างช้าๆ (15 รอบต่อนาที) การใช้สารช่วยตกตะกอนเช่น $FeCl_3$ $AL_2(SO_4)_3$ $Ca(OH)_2$ การใช้วิธีกระจายอากาศ (dispersed air floatation) หรือ วิธีอัดอากาศ (dissolved air floatation) ก็ไม่สามารถแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งได้ เมื่อนำน้ำทิ้งจากเครื่องแยก

ตารางที่ 2 ลักษณะน้ำทิ้งโดยเฉลี่ยจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 4 โรงงาน

โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	พีเอช	อุณหภูมิ (°ซ)	ซีโอดี (มก/ล)	บีโอดี (มก/ล)	ซีโอดี/บีโอดี	สารแขวนลอย (กรัม/ลิตร)	น้ำมันและกรีส (กรัม/ลิตร)
บริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์ม จำกัด[ก]	4.65	64.9	113,960	59,389	1.94	26.3	14.7
บริษัททักษิณปาล์มจำกัด[ข]	4.58	64.9	68,344	30,704	2.29	20.8	7.6
บริษัทสยามปาล์มน้ำมันและอุตสาหกรรม จำกัด[ค]	4.67	63.4	42,644	21,450	2.00	5.2	14.2
บริษัทสหอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม จำกัด[ค]	4.53	64.1	57,641	29,100	1.98	17.5	7.7
ค่าเฉลี่ย	4.61	66.3	70,647	35,160	2.05	17.5	11.1
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.06	3.79	26,620	14,419	0.14	7.8	3.4

ก : สกัดน้ำมันโดยใช้เครื่อง decanter

ข : สกัดน้ำมันโดยใช้เครื่อง separator กับ decanter

ค : สกัดน้ำมันโดยใช้เครื่อง separator

ที่มา : อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ (2537)

separator เข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงทำให้น้ำทิ้งแยกออกเป็น 3 ชั้นมีปริมาณชั้นบนร้อยละ 2-14 ชั้นกลางร้อยละ 57-77 และชั้นล่างร้อยละ 16-28 ในแต่ละชั้นมีปริมาณน้ำมันร้อยละ 4.00-5.64 ตามลำดับ สำหรับน้ำทิ้งจากบ่อน้ำทิ้งรวมเมื่อหมุนเหวี่ยงมีปริมาณชั้นบนร้อยละ 3-13 ชั้นกลางร้อยละ 60-79 และชั้นล่างร้อยละ 18-28 โดยแต่ละชั้นมีปริมาณน้ำมันร้อยละ 1.67-2.64, 0.08-0.15 และ3.14-4.97 ตามลำดับ การหมุนเหวี่ยงน้ำทิ้งจากเครื่องแยกน้ำมันจากบ่อน้ำทิ้งรวมสามารถแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งได้ร้อยละ 5-30 และทำให้น้ำทิ้งสุดท้ายมีค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 50 และมีปริมาณน้ำมันลดลงร้อยละ 85

2.2 การแยกน้ำมันด้วยวิธีการบำบัดทางชีวภาพ

การแยกน้ำมันด้วยกระบวนการทางชีวภาพสามารถใช้จุลินทรีย์ (ที่ต้องการและไม่ต้องการออกซิเจน) ย่อยสลายสารอินทรีย์ต่างๆในน้ำเสีย นอกจากนี้ยังสามารถใช้เอนไซม์ในการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์มเช่นการใช้เอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 และเอนไซม์ไซลาเนสทางการค้า คือ Meicellase และ Symyzyme พบว่าเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดสามารถแยกปริมาณน้ำมันออกจากน้ำทิ้งได้ร้อยละ 99.04, 99.70 และ96.0 ตามลำดับที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่อทิ้งไว้ข้ามคืน รวมทั้งสามารถแยกสารแขวนลอยออกจากน้ำทิ้งได้ร้อยละ 71.4, 70.6 และ 69.8 ทำให้ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 76.0, 69.4 และ 76.5 ตามลำดับ (จารุวรรณ มณีศรี, 2538)

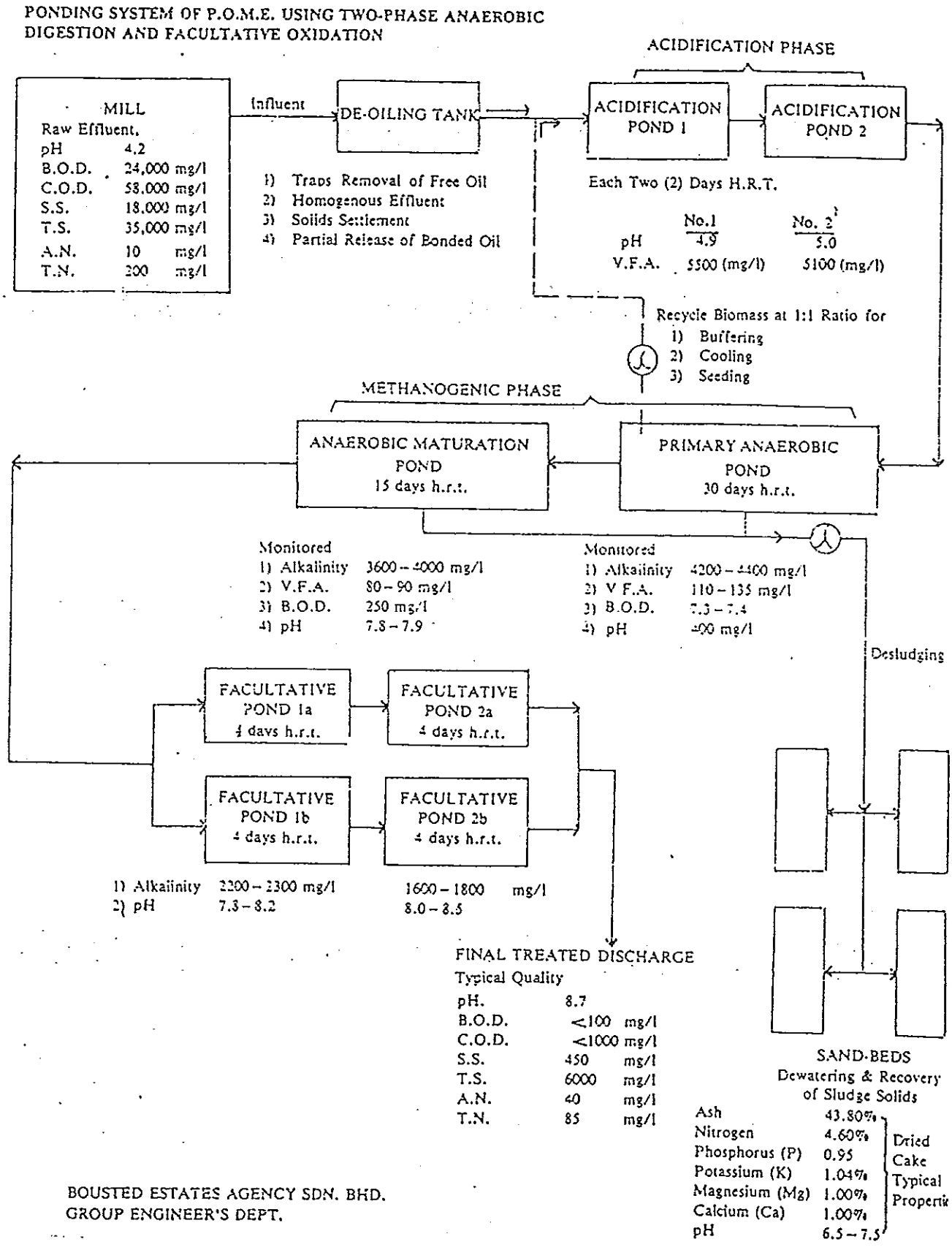
มีรายงานการแยกหรือกำจัดน้ำมันในน้ำทิ้งโดยใช้วิธีการทางกายภาพร่วมกับวิธีการทางชีวภาพ เช่น Okuda และคณะ (1991) บำบัดไลปิดที่มีอยู่ในน้ำเสียของโรงงานแปรรูปเนื้อโดยวิธี 2 ขั้นตอน คือบำบัดขั้นต้นโดยแยกไลปิดในน้ำทิ้งที่อยู่บริเวณผิวหน้าโดยอาศัยแรงดันอากาศจากปั๊มทำให้ไลปิดลอยตัว และทำให้เกิดการหมุนเวียนของน้ำทิ้งภายในถังบำบัด วิธีนี้สามารถกำจัดไลปิดได้ร้อยละ 76 (จากเดิม 252 พีพีเอ็มเหลือ 60 พีพีเอ็ม) จากนั้นนำมาบำบัดในขั้นที่สองโดยวิธี activated sludge ซึ่งมีการเติมเชื้อ *Bacillus sp.* สายพันธุ์ 351 พบว่าหลังให้อากาศ 24 ชั่วโมง ไลปิดลดลงเหลือ 9 พีพีเอ็ม หรือลดลงร้อยละ 96 ส่วน Ho และ Tan (1983) เปรียบเทียบการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำปาล์มโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงและการบำบัดในถังหมักไร้อากาศ จากการใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกน้ำมัน และอนุภาคต่างในน้ำทิ้งพบว่าการใช้ความเร็วในการหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 *xg* อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 60 นาทีสามารถลดค่าบีโอดี ซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของ

แข็งแขวนลอย และน้ำมันร้อยละ 46, 40, 46, 100 และ 50 ตามลำดับ และยังพบว่าอนุภาคต่างๆโดยเฉพาะเซลล์ของผลปาล์มที่มีอยู่ประมาณร้อยละ 1.7-2.6 ในน้ำทิ้งสามารถลดลงเหลือร้อยละ 0.32-0.37 ในขณะที่การบำบัดโดยใช้ถังหมักไร้อากาศสามารถลดค่าบีโอดี ซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแข็งแขวนลอย และน้ำมันร้อยละ 96, 88, 82, 87 และ 98 ตามลำดับโดยใช้เวลาในการบำบัด 20 วัน

Chooi (1985) บำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์มด้วยระบบบำบัดไร้อากาศ การย่อยสลายแบ่งเป็น 2 ระยะ คือ ระยะการสร้างกรด และระยะการผลิตแก๊สมีเธน การบำบัดจะเริ่มจากการป้อนน้ำทิ้งที่มีค่าบีโอดีเริ่มต้นของน้ำทิ้งเท่ากับ 24,000 มิลลิกรัมต่อลิตรเข้าไปในถังกำจัดน้ำมัน (deoiling tank) เพื่อกำจัดน้ำมันอิสระ (free oil) ตกตะกอนของแข็งทำให้น้ำทิ้งเป็นเนื้อเดียวกัน และทำให้น้ำมันที่ไม่เป็นอิสระ (bonded oil) หลุดออกบางส่วน จากนั้นเข้าสู่บ่อผลิตกรด (acidification pond) ซึ่งมี 2 บ่อย่อย โดยสามารถผลิตกรดไขมันระเหยได้ 5,500 และ 5,100 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ใช้ระยะในการย่อย 2 วัน ค่าบีโอดีลดลงร้อยละ 98.3 (ค่าบีโอดีเหลือเท่ากับ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร) จากนั้นเข้าสู่บ่อผลิตแก๊สมีเธนซึ่งเป็นบ่อไร้อากาศ 2 บ่อ บ่อแรกจะใช้เวลาในการย่อย 30 วัน และบ่อที่ 2 จะใช้เวลาในการย่อย 15 วัน ค่าบีโอดีลดลงร้อยละ 98.9 (ค่าบีโอดีเหลือเท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร) จากนั้นเข้าสู่บ่อสุดท้ายซึ่งเป็นบ่อกึ่งให้อากาศ (facultative pond) มี 4 บ่อย่อยใช้เวลาในการย่อย 4 วันต่อบ่อ ค่าบีโอดีลดลงร้อยละ 99.6 (ค่าบีโอดีเหลือเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซีโอดีลดลงร้อยละ 98.3 ของแข็งแขวนลอยลดลงร้อยละ 97.5 ของแข็งทั้งหมดลดลงร้อยละ 82.9 และไนโตรเจนทั้งหมดลดลงร้อยละ 57.5 (รูปที่ 3)

3. การแยกน้ำมันและสารแขวนลอยโดยใช้เอนไซม์

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการแยกหรือกำจัดน้ำมันและสารแขวนลอยได้แก่ ไซลาเนส และ เซลลูเลส จารุวรรณ มณีศรี (2538) ศึกษาการใช้เอนไซม์เพื่อแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้สารละ ลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 และเอนไซม์ทางการค้าได้แก่ Meicellase และ Sumyzyme ที่มีแอคทิวิตี้ของไซลาเนสเท่ากับ 162, 170 และ159 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่าสารแขวนลอยในน้ำทิ้งเริ่มรวมตัวเป็นกลุ่มเล็กๆ และปรากฏสารละลาย



รูปที่ 3 ระบบบ่อบำบัดน้ำทิ้งของโรงงานน้ำมันปาล์มที่มีการย่อยแบบไม่ต้องการอากาศ 2 ระยะและแบบกึ่งให้อากาศ

ที่มา : Chooi (1985)

ใส (สีน้ำตาล) ในส่วนกลางของปริมาตรน้ำทิ้งในกระบอกตวงหลังการบ่ม 30 นาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และเมื่อทิ้งไว้ข้ามคืนพบว่า การใช้เอนไซม์สามารถแยกสารแขวนลอยออกจากน้ำทิ้งได้โดยเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* และ Meicellase ทำให้สารแขวนลอยแยกตัวลอยขึ้นและรวมตัวกันอยู่ด้านบนเป็นลักษณะตะกอนเบา (bulking solids) มีปริมาตรคิดเป็นร้อยละ 33 และ 28 ของปริมาตรทั้งหมดตามลำดับ สามารถแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งได้เกือบทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 99 และ 99.7 ตามลำดับการที่เอนไซม์สามารถแยกสารแขวนลอยออกจากน้ำทิ้งได้เนื่องจากองค์ประกอบของน้ำทิ้งจากเครื่อง decanter มีเฮมิเซลลูโลสหรือไซแลนที่ละลายน้ำเป็นองค์ประกอบ (ได้จากการอบทะลายปาล์มด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 120-130 องศาเซลเซียส) รวมทั้งเศษเส้นใยในลักษณะสารแขวนลอย ส่วนไซแลนที่ไม่ละลายน้ำซึ่งเกิดจาก side-chain ส่วนใหญ่ถูกตัดออกจากโครงสร้างหลัก (back bone) ของไซแลนจะเกาะอยู่บนผิวของเส้นใย เมื่อเอนไซม์ย่อยไซแลนที่ละลายน้ำได้ และไซแลนที่เกาะอยู่กับเส้นใยทำให้สารแขวนลอยในน้ำทิ้งมีน้ำหนักลดลง ส่วนน้ำมันจึงถูกแยกออกจากน้ำทิ้งทำให้สารแขวนลอยที่เหลือจากการย่อยด้วยเอนไซม์และส่วนของน้ำมันลอยเป็นตะกอนอยู่ด้านบน

4. สีและการลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม

สีน้ำตาลในน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์มประกอบด้วยสารอินทรีย์ต่างๆ เช่น รงควัตถุพวกแอนโทไซยานิน (anthocyanins) และแคโรทีน (carotene) ซึ่งถูกสกัดออกมาพร้อมกับน้ำมัน และไอน้ำเนื่องจากเซลล์ผลปาล์มถูกทำลาย (Hartley, 1977) นอกจากนี้ยังมีสารประกอบพวกโพลีฟีนอล แทนนิน และโพลีแอลกอฮอล์ โดยพบว่าในน้ำทิ้งจากหม้อนึ่งฆ่าเชื้อมีปริมาณเพคติน และโพลีฟีนอลเท่ากับ 5.7 และ 2.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Barker and Worgan, 1981 อ้างโดยเบญจวรรณ ชิตมณี, 2534) นอกจากนี้ยังพบสารประกอบพวกเมลานอยดิน (melanoidin) ซึ่งเป็นผลิตผลของปฏิกริยาที่ไม่ใช้เอนไซม์ระหว่างน้ำตาลและกรดอะมิโนภายใต้สภาวะที่มีอุณหภูมิสูง ซึ่งจะพบมากในส่วนของสลัดจ์ (Hwang, *et al.*, 1978) สิ่งแปลกปลอมในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์มอีกอย่างคือสารประกอบพวกกัม (gum) ซึ่งเมื่อกัมโดนความร้อนในขั้นตอนการสกัดน้ำมันปาล์มจะทำให้เกิดสีน้ำตาลคล้ำขึ้น และสามารถรวมตัวกับเกลือของโลหะเช่น เหล็ก แคลเซียม

แมกนีเซียม และทองแดง ทำให้เกิดการคงตัวของสีและสารพวกออกซิเดทีพ (oxidative) ในน้ำทิ้ง (Salunkhe and Desai, 1986)

4.1 การลดความเข้มของสีโดยวิธีทางชีวภาพ

4.1.1 แลคเคส (Laccase)

เอนไซม์แลคเคส (benzenediol : oxygen oxidoreductase ; EC 1.10.3.2) เป็นเอนไซม์ที่ไปเร่งปฏิกริยาการดึงเอาอิเลคตรอน และโปรตอนจากหมู่ไฮดรอกซิลของออโท -ไดฟีนอล (*o*-diphenol) พารา-ไดฟีนอล (*p*-diphenol) และ aromatic amines เพื่อให้อยู่ในรูปอนุมูลอิสระ (Fahraeus and Reinhammar, 1967 ; Oda, *et al.*, 1991 ; Konishi and Inoue, 1974 ; Wood, 1980 ; Coll, *et al.*, 1993 อ้างโดย Nishizawa, *et al.*, 1995) มีรายงานการกำจัดสารลิกนินโดยใช้จุลินทรีย์ *Coriolus versicolor* และ *Phanerochaete chrysosporium* โดยจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ ที่ใช้กำจัดสารลิกนินได้เช่น ลิกนินเนส แมงกานีส-เปอร์ออกซิเดส และแลคเคส (Cai and Tien, 1993 ; Higuchi, 1993 ; Tien and Kirk, 1984 อ้างโดย Nishizawa, *et al.*, 1995)

4.1.2 เปอร์ออกซิเดส (Peroxidase)

เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (donor : hydrogen-peroxidase oxidoreductase ; EC1.11.1.7) จากฮอสแรดดิช (horseradish) สามารถออกซิไดซ์ฟีนอล และสารประกอบอโรมาติกเอมีน (aromatic amine) ต่างๆ ทำให้เกิดเป็น phenoxy radical และอนุภาคอิสระของสารอโรมาติกเอมีน ซึ่งอนุภาคเหล่านี้สามารถแพร่กระจายจากบริเวณเร่งของเอนไซม์เข้าสู่สารละลายและทำปฏิกิริยากัน ทำให้เกิดโพลิเมอไรซ์ได้ผลผลิตเป็นสารโพลิเมอร์ ลักษณะเด่นของสารโพลิเมอร์ที่เกิดขึ้นคือไม่ละลายน้ำมีลักษณะเป็นตะกอน (Klibanov *et al.*, 1980) ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสไปเร่งปฏิกริยาออกซิเดชั่นโดยการเปลี่ยนสภาพของฟีนอลและอะนิลีนจากการเป็นสารประกอบที่ละลายน้ำไปเป็นสารประกอบที่ไม่ละลาย ทำให้สามารถแยกสารที่ก่อให้เกิดมลพิษออกจากน้ำได้ง่าย อาจใช้การกรองหรือทิ้งไว้ให้ตกตะกอน

Alberti และ Klibanov (1981) นำสารสกัดจากพืชฮอสแรดดิชมาทดสอบความสามารถในการตกตะกอนสารฟีนอลต่างๆ เปรียบเทียบกับเปอร์ออกซิเดสทางการค้า พบว่าไม่มีความแตกต่างกันมากนัก โดยสารสกัดจากพืชฮอสแรดดิชสามารถตกตะกอนฟี

นอลได้ร้อยละ 85.3 ตกตะกอน 2-chlorophenol ได้ร้อยละ 99.9 ในขณะที่เปอร์ออกซิเดสทางการค้าสามารถตกตะกอน 8-hydroxyquinoline ได้ร้อยละ 99.8 ดังนั้นเปอร์ออกซิเดสที่ใช้ในการตกตะกอนไม่จำเป็นต้องเป็นเอนไซม์ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ก็สามารถใช้ตกตะกอนสารพิษเหล่านี้ได้

Klibanov และคณะ (1983) ศึกษาการบำบัดสารฟีนอลในน้ำเสียจากโรงงานแปรรูปถ่านหินโดยใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (0.5 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) เพื่อกระตุ้นให้เกิดปฏิกริยาทางเคมีร่วมกับ H_2O_2 พบว่าสามารถลดสารฟีนอลได้ร้อยละ 99 ซึ่งเป็นการทำให้ค่าสีในน้ำเสียลดลงด้วย

4.1.3 จุลินทรีย์

Hamdi และ Garcia (1993) รายงานว่าน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันมะกอกมีสีดำคล้ำเกิดจากสารประกอบฟีนอลและสารแทนนินน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันมะกอกยังประกอบด้วยสารอินทรีย์ชนิดอื่นๆได้แก่ น้ำตาล ไขมัน โพลีแอลกอฮอล์ และเพคตินเป็นต้น (Fiestas Ros de Ursinos, 1981 อ้างโดย Hamdi, *et al.*, 1991) การเลี้ยง *Aspergillus niger* สายพันธุ์ Hennebeergii ในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันมะกอกที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ให้อากาศโดยการเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที พบว่าสามารถลดปริมาณสารประกอบฟีนอล และสารแทนนินได้ร้อยละ 55.4 และ 77.5 ตามลำดับ และพบว่าการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus niger* A10 ในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันมะกอกที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ให้อากาศโดยการเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที สามารถลดปริมาณสารประกอบฟีนอลและสารแทนนินได้ นอกจากนี้เชื้อสามารถปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยสลายสารประกอบเพคติน สารแทนนินและโพลีฟีนอลได้ ทำให้น้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันมะกอกเปลี่ยนจากสีดำเป็นสีน้ำตาล (Hamdi, *et al.*, 1991)

Sayadi และ Ellouz (1992) พบว่าการเจริญของ *Phanerochaete chrysosporium* สามารถที่จะลดค่าสีของน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันมะกอกได้ร้อยละ 35 และสามารถย่อยสลายสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและต่ำได้ เป็นผลให้ค่าซีโอดีลดลงมากกว่าร้อยละ 80 เชื้อนี้ผลิตเอนไซม์ที่สำคัญคือ ลิกนินเนส ซึ่งสามารถย่อยสลายสารพวก xenobiotic และ organopollutant ได้หลายชนิด

Sirianantapiboom และคณะ (1985) ทดลองแยกเชื้อสายพันธุ์ใหม่ที่มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้ดี และใช้ระยะเวลาสั้น พบว่ามีเชื้อราหลายสายพันธุ์ที่สามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้ดีโดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus sp.* และพวกที่ไม่สร้างสปอร์ แต่สายพันธุ์ที่ฟอกสีน้ำกากส่าได้สูงสุดคือ *Mycelia sterilia* D96 โดยลดค่าสีลงได้ร้อยละ 90 ในระยะเวลา 10 วัน จากการศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานของเชื้อรา *Mycelia sterilia* D96 พบว่าการฟอกสีน้ำกากส่าของเชื้อราสายพันธุ์นี้แปรผันโดยตรงกับการเจริญ และน้ำตาลเป็นสารอาหารที่จำเป็นในการเลี้ยงเชื้อราสายพันธุ์นี้ และการฟอกสีน้ำกากส่าสูงสุดเมื่อเติมกลูโคสในน้ำกากส่าประมาณร้อยละ 2-2.5

Ohmomo และคณะ (1985) ศึกษาการกำจัดสีใน molasses waste water ด้วยวิธีการทางชีวภาพโดยใช้ไมซีเลียมของ Basidiomycetes พบว่าไม่สามารถเลี้ยงเชื้อในระยะเวลานานได้เนื่องจากมีปัญหาเรื่องการปนเปื้อนได้ง่ายจึงได้ทดลองเลี้ยง *Aspergillus fumigatus* G-2-6 ในอาหาร glucose-peptone-melanoidin พบว่าเชื้อชนิดนี้สามารถกำจัดสีได้สูงสุดร้อยละ 74 หลังจากการเลี้ยงเชื้อนาน 3 วันที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 41-45 องศาเซลเซียส

Terasawa และคณะ (1994) เลี้ยงเชื้อรา *Paecilomyces canadensis* NC-1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ glucose-peptone-medium เพื่อกำจัดสีของสารละลายกาแฟ (coffee solution) เนื่องจากเชื้อสายพันธุ์นี้สามารถกำจัดสีพวกฟีนอลซึ่งเป็นเม็ดสีที่พบในกาแฟและสีดำที่สกัดจากชาได้ และพบว่าเชื้อสายพันธุ์นี้สามารถกำจัดสีของสารละลายกาแฟได้สูงสุดร้อยละ 79 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม การที่สีของสารละลายกาแฟลดลงเกิดขึ้นเนื่องจากเม็ดสีของกาแฟถูกดูดซับโดยไมซีเลียมของเชื้อรา นอกจากนี้มีรายงานว่าการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus sp.* สามารถดูดซับเม็ดสีน้ำตาลในน้ำเสียจากโรงงานผลิตแอลกอฮอล์และสารเมลานอยดินที่เตรียมจากกลูโคสและกรดกลูตามิค (Ohmomo, *et al.*, 1987)

Kumar และคณะ (1998) ทดลองเลี้ยง *Coriolus versicolor* และ *Phanerochaete chrysosporium* เพื่อกำจัดสีและลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งจากน้ำกากส่าที่ผ่านกระบวนการบำบัดแบบไร้อากาศความเข้มข้นร้อยละ 12.5 ในสภาวะที่เหมาะสมเป็นเวลา 10 วันพบว่าเชื้อทั้งสองชนิดสามารถลดค่าสีได้สูงสุดร้อยละ 54 และ 38 และลดค่าซีโอดีได้สูงสุดร้อยละ 60 และ 49 ตามลำดับ และเมื่อทดลองนำน้ำทิ้งมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 6.25 โดย

เลี้ยงในสภาวะเดียวกัน พบว่าเชื้อทั้งสองชนิดสามารถลดค่าสีได้สูงสุดร้อยละ 71.5 และ 53.5 ตามลำดับ และลดค่าซีโอดีได้สูงสุดร้อยละ 90 และ 73 ตามลำดับ ซึ่งค่าสีที่ลดลงอาจเนื่องจากเมลานอยดินถูกย่อยให้มีขนาดของโมเลกุลที่เล็กลง

4.2 การลดความเข้มของสีโดยวิธีการทางเคมี

อนุภาคคอลลอยด์ต่างๆในน้ำมาจากสารอินทรีย์และอนินทรีย์ ซึ่งเมื่ออยู่ในน้ำจะมีประจุประจำตัวมันเป็นประจุบวกหรือลบแล้วแต่ชนิดของสารนั้น โดยแบ่งออกเป็น 2 ชนิด (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2526) คือ

1.พวกที่ชอบน้ำ (hydrophilic) จะมีโมเลกุลของน้ำห่อหุ้มอยู่รอบๆ อนุภาคเหล่านั้น แยกออกจากน้ำได้ยากต้องใช้แรงมากในการบังคับให้อนุภาคต่างๆมาเกาะจับกันเป็นกลุ่มก้อนเพราะว่าโมเลกุลของน้ำเสมือนสิ่งกีดขวางไม่ให้อนุภาคต่างๆเข้าใกล้ และจับตัวกันได้มักจะเป็นอนุภาคที่มีประจุบวก เช่นสารอินทรีย์บางชนิด

2.พวกที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) อนุภาคมักเป็นประจุลบสามารถแยกออกจากน้ำได้ง่ายเพราะไม่มีโมเลกุลของน้ำเป็นสิ่งกีดขวาง เช่นอนุภาคของดินเหนียว ทอง และโลหะอื่นๆ

การที่อนุภาคต่างๆแขวนลอยอยู่ในน้ำเพราะว่าอนุภาคเหล่านั้นมีเสถียรภาพสูงเกิดจากแรงผลักดันระหว่างอนุภาคที่มีประจุเดียวกัน ทำให้อนุภาคไม่สามารถจับกันเป็นก้อนได้ เพื่อจะทำให้อนุภาคต่างๆรวมตัวกัน และจับกันเป็นก้อนจะต้องมี 2 ขั้นตอนคือ

1.การทำลายเสถียรภาพ (destabilization) ของคอลลอยด์ เช่นการลดแรงผลักระหว่างอนุภาคโดยกลไกวิธีหนึ่งวิธีใดเรียกว่า Coagulation เป็นการรวมตัวกันของอนุภาคคอลลอยด์ที่เกิดจากการเติมสารเคมีลงในน้ำแล้วทำให้อนุภาคต่างๆเข้ามารวมกันและมีการผสมอย่างรวดเร็วเพื่อกระจายสารเคมี และเพิ่มโอกาสให้อนุภาคต่างๆมาเจอกัน กระบวนการเกิดขึ้นในระยะเวลาอันสั้น

2.การทำให้อนุภาคคอลลอยด์ต่างๆที่หมดเสถียรภาพแล้วเคลื่อนที่มาสัมผัสและเกาะกันเป็นกลุ่มก้อนเรียกว่าการเกิด flocculation ซึ่งเกิดโดยอาศัยการผสมเบาๆ และใช้เวลานานจนอนุภาคมีขนาดใหญ่ซึ่งมองเห็นได้และตกตะกอนอย่างรวดเร็ว (Viessman and Hammer, 1985)

สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์ (2531) รายงานว่าการกำจัดสีในน้ำกากส่าหลังผ่านขบวนการบำบัดทางชีววิทยาเพื่อลดค่าบีโอดีลงแล้วนำมาตกตะกอนด้วยสารเคมีโดยใช้สารส้ม ปูนขาว เฟอริกคลอไรด์ และแอมโมเนียมซัลเฟต จากผลการทดลอง พบว่าสารส้มเป็นสารเคมีที่เหมาะสมที่สุดในการตกตะกอนสีน้ำตาลของน้ำกากส่าโดยจะต้องใช้สารส้ม 35 กิโลกรัมต่อน้ำกากส่า 1 ลูกบาศก์เมตร และหลังจากตกตะกอนแล้วจะได้น้ำที่มีลักษณะใส และลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 70.61

ไสว โรจนะศุภฤกษ์ (2537) ทดลองใช้โพลีเฟอริกซัลเฟต 0.1 มิลลิลิตรต่อลิตรในการกำจัดสีน้ำเสียจากโรงงานฟอกย้อมผ้าซึ่งมีสีน้ำเงินเข้มถึงสีดำเข้ม และน้ำเสียจากโรงงานผลิตกระดาษซึ่งมีสีดำคล้ำ และมีสารแขวนลอยสูง ในการทดลองมีการปรับพีเอชให้ได้ประมาณ 7 โดยใช้ปูนขาวหลังจากตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน พบว่าลักษณะของสารละลายส่วนใสของน้ำเสียทั้งสองโรงงานมีความใสและมีสีเหลืองจาง และสามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 80 และ 49 ตามลำดับ

Del Rosario และคณะ (1991) ทดลองกำจัดสีในน้ำกากส่าที่ผ่านการหมักแก๊สมีเธนโดยนำมาเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาทีนาน 10 นาที นำสารละลายส่วนใสมาทดลองโดยใช้เฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) เข้มข้น 0.035 โมลาร์พบว่าสามารถลดค่าสีได้สูงสุดร้อยละ 93 และลด total organic carbon ได้ร้อยละ 76 และเมื่อใช้สารเคมีทางการค้าชื่อ Polytetsu $[Fe_2 (OH)_n (SO_4)_{3-n/2}]_m$ ปริมาตร 0.02 (ปริมาตรต่อปริมาตร) สามารถลดค่าสีได้สูงสุดร้อยละ 98 และลด total organic carbon ได้ร้อยละ 90 และพบว่าการเพิ่มปริมาณสารตกตะกอนไม่ทำให้ค่าสีลดลงสูงขึ้น

Migo และคณะ (1993) ทดลองกำจัดสีน้ำกากส่าโดยใช้โพลีเฟอริกไฮดรอกซีซัลเฟต $[Fe_2 (OH)_n (SO_4)_{3-n/2}]_m$ ร้อยละ 4 (ปริมาตรต่อปริมาตร) พบว่าสามารถกำจัดสีของน้ำเสียที่ได้หลังจากผ่านกระบวนการกลั่นแอลกอฮอล์ (fresh slops) น้ำเสียที่ได้หลังจากผ่านกระบวนการหมักแก๊สมีเธน (biodigester effluent) และน้ำทิ้งจากบ่อสุดท้าย (lagooned effluent) ได้ร้อยละ 32, 87 และ 94 ตามลำดับ และเมื่อใช้โพลีเฟอริกไฮดรอกซีซัลเฟตร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ (CaO) 30 กรัมต่อลิตร สามารถกำจัดสีของน้ำเสียที่ได้หลังจากผ่านกระบวนการกลั่นแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 93 และเมื่อทดลองใช้สารโพลีอลูมิเนียมคลอไรด์ $[Al_2(OH)_nCl_{4-nm}]$ $(SO_4)_x$ ในการกำจัดสีน้ำเสียที่ได้หลังจากผ่านกระบวน

การกลั่นแอลกอฮอล์ น้ำเสียที่ได้หลังจากผ่านกระบวนการหมักแก๊สมีเธน และน้ำทิ้งจากบ่อสุดท้าย พบว่าสามารถกำจัดสีได้ร้อยละ 31, 94 และ 95 ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ทดลองใช้เฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) และ อลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ปริมาตร 35 มิลลิโมลาร์ในการกำจัดสีในน้ำเสียที่ได้หลังจากผ่านกระบวนการหมักแก๊สมีเธน พบว่าสามารถกำจัดสีได้สูงสุดร้อยละ 93 เท่ากัน

Migo และคณะ (1997) ทดลองกำจัดสีในสารละลายเมลานอยดินสังเคราะห์ โดยใช้สารช่วยตกตะกอนดังนี้คือ แคลเซียมออกไซด์ แคลเซียมคลอไรด์ อลูมิเนียมซัลเฟต เฟอริกคลอไรด์และเฟอริกซัลเฟต เปรียบเทียบกับโพลีเฟอริกไฮดรอกซีซัลเฟต ที่พีเอชต่างๆกัน พบว่าที่ความเข้มข้นของ Fe เท่ากับ 57 มิลลิโมลาร์ การใช้โพลีเฟอริกไฮดรอกซีซัลเฟตสามารถลดค่าสีได้สูงสุดร้อยละ 97 ที่พีเอชของสารละลายเท่ากับ 3.5 รองลงมาคือการใช้เฟอริกคลอไรด์และเฟอริกซัลเฟต ซึ่งสามารถลดค่าสีได้สูงสุดเ ท่ากัน คือร้อยละ 69 ที่พีเอช 3.5 สำหรับการใช้อลูมิเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นของ Al เท่ากับ 57 มิลลิโมลาร์สามารถลดค่าสีได้สูงสุดร้อยละ 83 ที่พีเอช 4.5 ส่วนการใช้แคลเซียมออกไซด์และแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นของ Ca เท่ากับ 356 มิลลิโมลาร์ที่พีเอชสูงกว่า 13 สามารถลดค่าสีได้สูงสุดเท่ากับ 77 และ 46 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการใช้สารช่วยตกตะกอนประเภทแคลเซียมจะได้ผลดีที่ระดับพีเอชสูงมาก

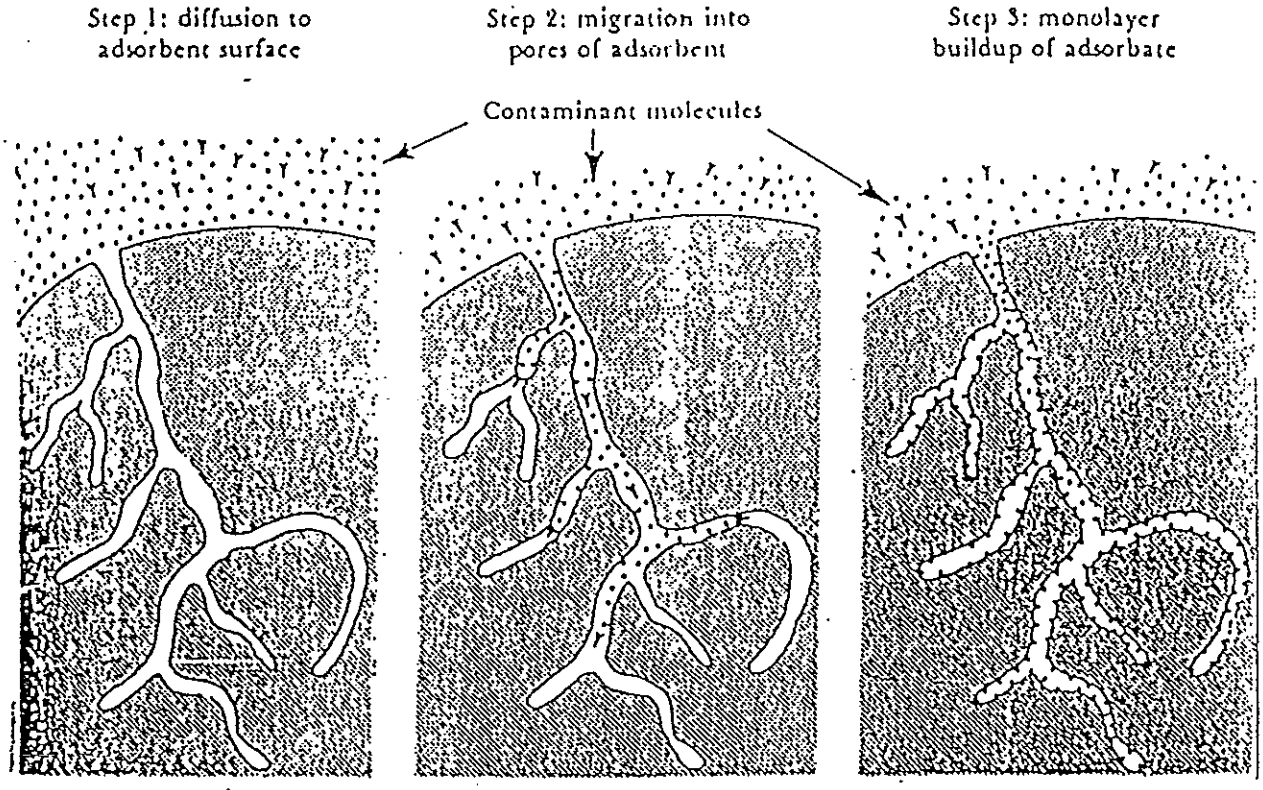
4.3 การลดความเข้มของสีโดยวิธีการทางกายภาพ

4.3.1 การดูดซับโดยใช้ Activated carbon

การดูดซับเป็นวิธีการทางเคมีกายภาพเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกบางชนิดในน้ำเสียซึ่งไม่สามารถกำจัดได้ดีด้วยวิธีอื่น สามารถกำจัดสารอินทรีย์และอนินทรีย์ เช่น ซีโอดี บีโอดี สี กลิ่น รส ยาฆ่าแมลง เป็นต้น ออกจากน้ำเสียได้ (นวลละออ เนียมสอิ้ง, 2526)

เนื่องจากการดูดซับเป็นการเคลื่อนย้ายสารจากก๊าซหรือของเหลวมายังของแข็งหรือของเหลว ซึ่งกลไกของการดูดซับ (mechamism adsorption) เกิดขึ้นเป็น 3 ระยะติดต่อกันดังรูปที่ 4 (EPA, 1973 อ้างโดยวิไลพร วนิชย์วโรดม, 2536)

ระยะที่ 1 : โมเลกุลของสิ่งสกปรก (adsorbate) ในน้ำจะเคลื่อนที่ไปเกาะอยู่รอบนอกของเม็ดถ่าน



รูปที่ 4 กลไกการดูดซับสารของ Activated carbon

ที่มา : EPA (1973 ; อ้างโดยวิไลพร วณิชย์วโรดม, 2536)

CENTRAL LIBRARY
PRINCE OF ... UNIVERSITY

ระยะที่ 2 : โมเลกุลของสิ่งสกปรกจะแทรกซึม (diffusion) เข้าไปในรูพรุนของเม็ดถ่าน

ระยะที่ 3 : เกิดการดูดซับในรูพรุนระหว่างสิ่งสกปรกและพื้นที่ผิวของเม็ดถ่านซึ่งอาจจะดูดซึมด้วยแรงทางกายภาพหรือทางเคมี หรือทั้ง 2 ชนิด พร้อมกัน

ถ่านที่ใช้ในการดูดซับแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ถ่านชนิดผง (Powder activated carbon , PAC) และถ่านชนิดเกล็ด (Granular activated carbon, GAC) ซึ่งอาจเตรียมได้จากการนำถ่านชนิดผงมาอัดด้วยเครื่องอัดให้เป็นเกล็ดเล็ก ในทางปฏิบัติมักนิยมเลือกชนิดของถ่าน โดยดูลักษณะงานที่ใช้ ตลอดจนความเหมาะสมต่าง ๆ และมักนิยมเลือกชนิดโดยดูจากพื้นที่ผิว หรือค่าไอโอดีน เช่น มีพื้นที่ผิวประมาณ 600 - 1,000 ตารางเมตรต่อกรัมของคาร์บอน และมีค่าไอโอดีนประมาณ 750 มิลลิกรัมต่อกรัมของคาร์บอน (กรองกาญจน์ ภูระรัตน์, 2530)

ลักษณะสมบัติของ activated carbon ที่เป็นตัวกำหนดการใช้งาน (วิไลพร วณิชย์วโรดม, 2536) ได้แก่

1. พื้นที่ผิว (surface area) เป็นตัวกำหนดความสามารถในการดูดซับ ถ่านที่มีพื้นที่มากจะมีความสามารถในการดูดซับมาก

2. ความหนาแน่นปรากฏ (apparent density) เป็นตัวกำหนดความสามารถในการปรับคืนสภาพของถ่าน

3. ความหนาแน่นของอนุภาค (particle density) เป็นตัวกำหนดปริมาณของถ่านในแต่ละงาน

4. ขนาดใช้งาน (effective size) เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของอนุภาคและสัมประสิทธิ์ของความสม่ำเสมอ (uniformity coefficient) ใช้ในการกำหนด hydraulic condition ของคอลัมน์ดูดซับ

5. ปริมาตรรูพรุน (pore volume) เป็นการกำหนดการดูดซับโมเลกุลของน้ำเสีย

6. การหาขนาดของอนุภาค (sieve analysis) ใช้เป็นตัวตรวจสอบขนาดของถ่านที่นำมาใช้งาน

7. ค่าการกัดกร่อน (abrasion number) ใช้ในการประเมินความคงทนต่อการกำจัดสี

8. ปริมาณร้อยละของเถ้าถ่าน (ash percent) แสดงถึงกากของ activated carbon ว่ามีมากหรือน้อยเพียงใด

9. ความชื้น (moisture) แสดงปริมาณน้ำในถ่านที่ได้จากการผลิต

10. ค่าไอโอดีน (iodine number) เป็นตัวกำหนดความสามารถของถ่านในการดูดซับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

11. ค่าโมลาส (molasses number) เป็นตัวกำหนดความสามารถของถ่านในการดูดซับสารที่มีน้ำหนักโมโลกุลสูง

12. ขนาดของรูพรุน (pore size) เป็นตัวกำหนดความสามารถในการดูดซับโมเลกุลจำเพาะบางชนิด

ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการดูดซับของ activated carbon

1. พีเอช ถ้าพีเอชลดลง อัตราการดูดซึมจะเร็วและมาก เพราะ H^+ เพิ่มขึ้น และ H^+ ยังสามารถเกาะติดผิวคาร์บอนได้ดี ทำให้คาร์บอนมีสภาพเป็นกลางเสมอ เนื่องจากคาร์บอนเป็นสารประกอบนอนโพลาร์ ค่อนข้างลบเล็กน้อย จึงทำให้โมเลกุลของสารนอนโพลาร์ในน้ำ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ มาเกาะที่ผิวของคาร์บอนได้ดี

2. อุณหภูมิ ถ้าเพิ่มอุณหภูมิอัตราการดูดซับจะเร็วขึ้น แต่ความสามารถในการดูดซับที่ผิวจะลดลง

3. จำนวน C-atom ของสารอินทรีย์ ถ้ามี C-atom มาก อัตราการดูดซับจะเพิ่มขึ้น

4. ถ้าในน้ำมีโมเลกุลชนิดนอนโพลาร์มาก อัตราการดูดซับก็จะมาก

5. โมเลกุลของสารจะต้องเล็กกว่ารูพรุนของถ่าน ถ้าใหญ่กว่า จะไม่สามารถเข้าไปในรูพรุนได้ ทำให้การดูดซับต่ำลง

4.3.2 การกรอง

การกรองเป็นกระบวนการในการแยกหรือขจัดสารแขวนลอยออกจากน้ำ โดยใช้กระบวนการไหลของน้ำผ่านสารกรองที่อยู่คงที่ในตัวถังกรอง สารแขวนลอยจะถูกขจัดออกจากน้ำด้วยการติดอยู่กับช่องระหว่างสารกรอง ตกตะกอนอยู่บนสารกรองหรือติดอยู่กับผิวสารกรอง ประสิทธิภาพของถังกรองขึ้นกับคุณลักษณะของสารกรองและอัตราการ

กรอง ถ้าขนาดของสารกรองเล็กลงการกรองแยกสารแขวนลอยออกจากน้ำจะดีขึ้น แต่ขณะเดียวกันการสูญเสียระดับน้ำก็จะเพิ่มขึ้นตามขนาดของสารกรองที่เล็กลงเพราะน้ำไหลมากขึ้นการกรองน้ำถ้าใช้อัตราการกรองต่ำประสิทธิภาพของการกรองก็สูงแต่ปริมาณน้ำที่ได้ผ่านถังกรองจะน้อยจะต้องเพิ่มพื้นที่ผิวในการกรองสารแขวนลอยที่ถูกดักไว้กับสารกรองนั้น จะทำให้เกิดการอุดตันในภายหลัง ต้องมีการกำจัดสารที่ทำให้อุดตันนั้นออกไปเพื่อการกรองครั้งต่อไป

อวยพร บัวใบ (2531) ศึกษาประสิทธิภาพการปรับปรุงคุณภาพน้ำที่ได้จากถังตกตะกอนของโรงกรองน้ำประปาโดยใช้ระบบถังกรองที่ใช้ทรายและถ่านกะลามะพร้าวโดยที่ถ่านกะลามะพร้าวไม่ได้ถูกทำให้เป็นแอคติเวตเตดโดยตรงแต่ก็มีความสามารถในการดูดสีได้ จากการทดลองพบว่าสารกรองให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสีไม่ดีเพราะคุณลักษณะของน้ำที่ใช้กรอง ซึ่งความขุ่นของน้ำเข้ากรองมีค่ามากเกินไป (มากกว่า 5 NTU) และยังสะสมตัวอยู่ในชั้นถ่าน อย่างไรก็ตามถ้าค่าความขุ่นของน้ำลดลง (ไม่เกิน 5 NTU) และใช้อัตราการกรองที่ต่ำประมาณ 2-5.4 ลูกบาศก์เมตรต่อตารางเมตรต่อชั่วโมง และใช้อายุการกรองไม่มากกว่า 6 ชั่วโมง จะทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสีสูงขึ้น ผลการกำจัดสีในการทดลองยังคงเกิดขึ้นได้ในชั้นทรายแม้ในชั้นถ่านจะเริ่มมีการสะสมของตะกอน จากการทดลองพบว่าการกำจัดสีมีเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยประมาณร้อยละ 40

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์ม โดยใช้เอนไซม์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ เปรียบเทียบกับเอนไซม์ทางการค้า

2. ศึกษาการลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม โดยวิธีการต่าง ๆ

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. วัตถุดิบ

น้ำทิ้งจากเครื่องสกัดแยกน้ำมัน (decanter effluent) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา และบริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์ม จำกัด อำเภออ่าวลึก จังหวัดกระบี่

2. กากปาล์ม

กากปาล์มได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานรุ่งเรืองกิจน้ำมันพืช อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา บดกากปาล์มด้วยเครื่องบด และร่อนผ่านตะแกรงให้มีขนาดไม่เกิน 0.75 มิลลิเมตร (20 mesh) เก็บที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส)

3. จุลินทรีย์

Aspergillus niger ATCC 6275 ได้รับความอนุเคราะห์จาก Professor Susumu Oi มหาวิทยาลัยโอซาก้าซิตี้ ประเทศญี่ปุ่น *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F 1767 และ *Coriolus versicolor* ได้รับความอนุเคราะห์จาก Dr. R.A. Rastall มหาวิทยาลัย Reading ประเทศอังกฤษ

เก็บรักษาเชื้อสองสายพันธุ์แรกในหลอดอาหารวุ้นเอียง Potato Dextrose Agar (PDA) และเก็บรักษาเชื้อ *C. versicolor* ในหลอดอาหารวุ้นเอียง Malt Extract Agar โดยเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน เพื่อให้สร้างสปอร์เต็มที่ ก่อนเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ถ่ายเชื้อใหม่ทุกครั้งก่อนการทดลองเพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F 1767 (Chao and Lee, 1994) เป็น Nitrogen - limited media ประกอบด้วย glucose 10 กรัม ammonium tartrate 0.22 กรัม thiamine 0.001 กรัม KH_2PO_4 0.9 กรัม K_2HPO_4 0.1 กรัม $MgSO_4$. 7 H_2O 0.5 กรัม $CaCl_2$. 2 H_2O 0.05 กรัม dimethyl succinic acid 2.92 กรัม veratric acid 0.27 กรัม micronutrient solution 10 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 1 ลิตร สำหรับ micronutrient solution ประกอบด้วย $CuSO_4$. 5 H_2O 0.08 กรัม $MnSO_4$. 4 H_2O 0.07 กรัม $ZnSO_4$. 4 H_2O 4.3 กรัม $Fe_2(SO_4)_3$ 0.05 กรัม และน้ำกลั่น 1 ลิตร

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *Coriolus versicolor* (ดัดแปลงจาก Roy-areand and Archibid, 1991) ประกอบด้วย peptone 10 กรัม D-glucose 40 กรัม $FeSO_4$. 7 H_2O 20 ไมโครกรัม $MnCl_2$ 20 ไมโครกรัม Tri-sodium citrate 40 ไมโครกรัม $MgCl_2$. 6 H_2O 50 ไมโครกรัม และน้ำกลั่น 1 ลิตร

5. เอนไซม์

เอนไซม์ทางการค้าได้แก่ Meicellase (Meiji Co.) และเปอร์ออกซิเดส (peroxidase) จากเชื้อ *Arthromyces ramosus* (Sigma Co.)

เอนไซม์ที่สกัดจาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่เลี้ยงแบบอาหารแข็งในกากปาล์มที่มีการเติมสารอาหาร กลูโคสร้อยละ 0.2 และ ยูเรียร้อยละ 2

6. สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์เพื่อหาค่าแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ การวิเคราะห์หาค่าซีโอดี การแยกเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ การวิเคราะห์หาน้ำมันและกรีส และการวิเคราะห์หาค่าสี แสดงในภาคผนวก ส่วนสารเคมีที่ใช้ลดความเข้มของสีได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$), แคลเซียมออกไซด์ (CaO), อลูมิเนียมซัลเฟต ($Al_2(SO_4)_3$), เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$), เฟอริกซัลเฟต ($Fe_2(SO_4)_3$), เฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$), คลอริเนทเตด คอปเปอรัส (Chlorinated copperous) และโพลีเฟอริกซัลเฟต

อุปกรณ์

เครื่องวัดพีเอช Model HK-7E ของบริษัท Tokyo TOA Electronic จำกัด
เครื่องเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ Type SCR 20 B ของบริษัท Hitachi จำกัด
เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ของบริษัท Lab-Line Instuments Inc.
เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ Model U-2000 พร้อมด้วยเครื่องพิมพ์ของบริษัท Hitachi จำกัด
อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ของบริษัท Memmert จำกัด
ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemacytometer) และกล้องจุลทรรศน์ของบริษัท Olympus จำกัด
คอลัมน์บรรจุถ่านกัมมันต์ (Activated carbon column) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร สูง 28 เซนติเมตร
ปั๊มที่ควบคุมอัตราการไหล (Peristatic pump) ของบริษัท BIO-RAD จำกัด
ถังกรองน้ำแบบง่ายๆ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 28 เซนติเมตร สูง 33 เซนติเมตร บรรจุทรายละเอียดหนา 3.5 เซนติเมตร ทรายหยาบหนา 6.5 เซนติเมตร ถ่านกัมมันต์หนา 2.5 เซนติเมตร และสำลีหนา 3 เซนติเมตร
เครื่องกวนผสม (Homoginizer) ของบริษัท Staufen จำกัด

การวิเคราะห์

1. การนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา โดยเจือจางตัวอย่างของเชื้อเริ่มต้นด้วยน้ำกลั่นที่ผสม Tween 80 ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หยดตัวอย่างบนฮีมาไซโตมิเตอร์ และนับจำนวนสปอร์จากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า ปรับความเข้มข้นของสปอร์ให้ได้ 10^6 สปอร์ต่อกรัมสับสเตรท
2. ซีโอดี ปริมาณน้ำมันและกรีส (Oil & Grease) ปริมาณของแข็งทั้งหมด ปริมาณของแข็งแขวนลอย (APHA, AWWA and WPCF, 1985)
3. ค่าสี วัดค่าสีที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร (ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และ อุษา วิเศษสุมน, 2535)

4. แอคทิวิตี้ของเอนไซม์

4.1 แอคทิวิตี้ของเอนไซม์ คาร์บอกซีเมทธิลเซลลูเลส (Carboxymethylcellulase) (CMCase) ตามวิธีการของ Mandels และ Weber (1969) โดยนำสารละลายเอนไซม์ที่เจือจางอย่างเหมาะสม 0.5 มล.ผสมกับ 0.5 มล.ของสารละลาย carboxymethylcellulose (CMC, BHD Chemical Ltd.) เข้มข้นร้อยละ 1.0 ในซิเตรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 4.8 บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที แล้วหาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Nelson-Somogyi (Nelson, 1944) (ภาคผนวก) ในการวิเคราะห์แอคทิวิตี้ของเอนไซม์จะมีชุดควบคุมซึ่งเติมสารละลายต่างๆเช่นเดียวกับที่กล่าวมาแล้วแต่ไม่บ่ม นำค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุมไปหักออกจากค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการใช้สารละลายเอนไซม์ก่อนการคำนวนหาแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ สำหรับ blank จะใช้น้ำกลั่น 1 มล. แทนปริมาตรตัวอย่าง และสารละลาย CMC

1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณแอนไซม์ที่เร่งปฏิกริยาย่อยสลายสับสเตรตให้เป็นกลูโคส 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาทีภายใต้สภาวะที่ทดลอง

4.2 แอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส ตามวิธีการของ Tan และคณะ (1987) โดยนำสารละลายเอนไซม์ที่เจือจางอย่างเหมาะสม 0.5 มล. ผสมกับ 0.5 มล.ของสารละลายไซแลน (Oats spelt xylan, Sigma Chemical Ltd.) เข้มข้นร้อยละ 1.0 ในซิเตรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 4.8 บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็น เวลา 10 นาที แล้วหาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่เกิดขึ้นโดยวิธี Nelson-Somogyi ในการวิเคราะห์จะมีชุดควบคุมและ blank เช่นเดียวกับการหาแอคทิวิตี้ของ CMCase

1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกริยาย่อยสลายสับสเตรทให้เป็นไซโลส 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาทีภายใต้สภาวะที่ทดลอง

4.3 แอคทิวิตี้ของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Shannon และคณะ (1966) ผสมสารละลาย *o*-dianisidine (Sigma Chemical Ltd) เข้มข้นร้อยละ 0.5 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร สารละลายโซเดียมอะซิเตรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 5.4 2.84 มิลลิลิตร และสารละลายเอนไซม์ที่เจือจางอย่างเหมาะสม 10 ไมโครลิตร แล้วเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ 100 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร ทุก 15 วินาที นาน 3 นาทีด้วยเครื่องสเปค

โตรโฟโตมิเตอร์ Model U-2000 ซึ่งปฏิกิริยาจะเริ่มเมื่อมีการเติมสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลงในส่วนผสม ในการวิเคราะห์แอคทิวิตี้ของเอนไซม์จะมีชุดควบคุมซึ่งเติมสารละลายต่างๆเช่นเดียวกันแต่ไม่เติมสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ทำปฏิกริยาย่อยสลาย *O*- dianisidine 1 ไมโครโมลในเวลา 1 นาทีภายใต้สภาวะที่ทดลอง

4.4 แอคทิวิตี้ของเอนไซม์แลคเคส ตามวิธีการที่ดัดแปลงจาก Ride (1980 อ้างโดย Sigma Chemical Co., 1994) ผสมสารละลายโพแตสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ (พีเอช 6.5) 1.10 มิลลิลิตรกับสารละลายเอนไซม์ที่เจือจางอย่างเหมาะสม 0.25 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที เติมสารละลาย syringaldazine (Sigma Chemical Ltd) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตรทุก 1 นาทีนาน 10 นาทีด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ Model U-2000 ในการวิเคราะห์แอคทิวิตี้ของเอนไซม์จะมีชุดควบคุมซึ่งเติมสารละลายต่างๆ เช่นเดียวกันแต่ใช้สารละลายเอนไซม์ที่ผ่านการต้มแล้ว

1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสง 530 นาโนเมตรเปลี่ยนไป 0.001 ต่อนาทีภายใต้สภาวะที่ทดลอง

วิธีการ

1. ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter ของโรงงานน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์

การเตรียมเอนไซม์

เตรียมเอนไซม์โดยเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275 แบบอาหารแข็งในกากปาล์ม (300 กรัม) ที่มีการเติมสารอาหาร กลูโคสร้อยละ 0.2 และยูเรียร้อยละ 2 โดยเลี้ยงในถุงพลาสติกขนาดใหญ่ (20 x 28 นิ้ว)ในสภาวะที่เหมาะสม (จารุวรรณ มณีศรี, 2538) คือ ความชื้นเริ่มต้นของอาหารร้อยละ 60 บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) ระยะเวลาในการเลี้ยง 3 วัน นำอาหารเลี้ยงเชื้อมาสกัดเอนไซม์ด้วยน้ำกลั่นที่เติม Tween 80 ร้อยละ 0.1 ในปริมาณ 5 เท่าของน้ำหนักสับสเตรท วางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200

รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที แยกไมซีเลียมโดยกรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น แล้วนำสารละลายที่ได้ไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที (2800 *xg*) เป็นเวลา 50 นาที นำสารละลายส่วนใส มาทำให้บริสุทธิ์บางส่วน โดยการตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 0-20, 20-40, 40-60 และ 60-80 ของความอิ่มตัว โดยเติมแอมโมเนียมซัลเฟตทีละน้อยพร้อมทั้งคนด้วยแท่งแม่เหล็กที่ความเร็วต่ำๆ ตลอดเวลา และคนต่ออีกประมาณ 45 นาทีหลังการเติมครั้งสุดท้าย แยกตะกอนโปรตีนโดยนำเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 10000 รอบต่อนาที (7500 *xg*) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ละลายตะกอนโปรตีนที่ได้ด้วยสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 4.8 โดยใช้ปริมาตร 1-2 เท่าของปริมาตรตะกอน นำตะกอนโปรตีนที่ได้จากการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตในช่วงความเข้มข้นที่มีแอคทิวิตี้ของเอนไซม์สูงสุดมาผ่านการกำจัดเกลือโดยวิธี dialysis ในสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 4.8 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เอนไซม์ที่ได้นำไป freeze dry และวิเคราะห์หาแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส และ CMCase ก่อนและหลังการทำ freeze dry เก็บเอนไซม์ที่ได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และศึกษาความคงตัวของเอนไซม์ระหว่างการทดลอง

1.1 ผลของคุณลักษณะของน้ำทิ้งจาก decanter ต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมัน

ใช้น้ำทิ้งจาก decanter สองแหล่งคือ จากบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์จำกัด จังหวัดสงขลา และบริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์ม จำกัด จังหวัดกระบี่ วิเคราะห์คุณลักษณะของน้ำทิ้งจาก decanter ดังนี้ ค่าพีเอช ซีโอดี น้ำมันและกรีส ของแข็งแขวนลอย และของแข็งทั้งหมด ทดลองนำน้ำทิ้งทั้งสองแหล่งมาแยกสารแขวนลอยและน้ำมันโดยเติมเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่มีแอคทิวิตี้ของไซลาเนส 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ลงในน้ำทิ้งในอัตราส่วน 1:1 ในกระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร (จารุวรรณ มณีศรี, 2538) บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สังเกตการเกิดการแยกชั้นของสารละลายผสม ที่เวลา 0, 1, 2, 3 และ 6 ชั่งโมง เพื่อนำมาศึกษาปัจจัยที่มีผลทำให้เกิดการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันในรูปตะกอนเบา

1.2 ผลของปริมาณน้ำมันในน้ำทิ้งจาก decanter

เติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่มีแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตรผสมกับน้ำทิ้งจาก

decanter ที่มีการเติมน้ำมันปาล์มทางการค้า (ยี่ห้อมรกต) (โดยการ homoginization) ลงไปในน้ำทิ้งให้มีปริมาณน้ำมันสุดท้ายเท่ากับ 10,000, 15,000, 20,000, 25,000 และ 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:1) บรรจุสารละลายผสมในกระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ บันทึกลักษณะและปริมาตรของตะกอนที่เกิดขึ้นที่เวลา 1, 2, 3, 6, 9, 12, และ 14 ชั่วโมง หลังการบ่ม

1.3 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์

เติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 และสารละลายเอนไซม์ทางการค้า (Meicellase) ที่มีแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส 50, 100, 150, 200, 400, 600 และ 800 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ลงในน้ำทิ้งจาก decanter ที่มีปริมาณน้ำมันและกรีสที่เหมาะสม (ผลจากข้อ 1.2) และทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1.2 คัดเลือกปริมาณเอนไซม์ต่ำสุดที่สามารถแยกสารละลายผสมเป็นตะกอนเบา และสารละลายส่วนใส

1.4 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการบ่ม

เติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่มีแอคทิวิตี้ของไซลาเนสที่เหมาะสม (ผลจากข้อ 1.3) ลงในน้ำทิ้งจาก decanter ที่มีปริมาณน้ำมันและกรีสที่เหมาะสม (ผลจากข้อ 1.2) ในอัตราส่วน 1:1 ในกระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 40, 50, 55, 60 และ 65 องศาเซลเซียส บันทึกลักษณะและปริมาณตะกอนที่เกิดขึ้นที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, และ 18 ชั่วโมง

1.5 ผลของพีเอช

เตรียมน้ำทิ้งให้มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 3.5, 4.5, 5.0, 5.5, และ 6.5 เติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่มีแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสที่เหมาะสม (ผลจากข้อ 1.3) ในอัตราส่วน 1:1 บรรจุสารละลายผสมในกระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม (ผลจากข้อ1.4) บันทึกระยะเวลาที่เกิดตะกอนลอยทั้งหมด สุ่มตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้นและเวลาที่ตะกอนลอยขึ้นด้านบนจนปรากฏสารละลายใสในส่วนล่าง เก็บตัวอย่างสารละลายใส เพื่อวิเคราะห์หาค่าน้ำมัน สารแขวนลอย ซีโอดี และแอคทิวิตี้ของไซลาเนส

2. การลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสหลังการแยกสารแขวนลอยและน้ำมัน

2.1 ผลของการใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

เติมสารละลายเอนไซม์ลงในสารละลายส่วนใส (ผลจากข้อ 1) ในปริมาณต่างๆ กัน 3 ระดับ คือ 0.5, 1.0 และ 1.5 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (Klibanov, *et al.*, 1983) ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ นาน 1 ชั่วโมง วัดค่าสี

2.2 ผลของการใช้จุลินทรีย์

2.2.1 *Phanerochaetc chrysosporium* BKM -F -1767

เติมเชื้อราปริมาณ 5 x 10^9 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในสารละลายส่วนใส (จากข้อ 1) ที่ไม่มีการเติมสารอาหาร และที่มีการเติมสารอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำกัดไนโตรเจน (nitrogen - limited medium) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลากส์ ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ โดยใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที สุ่มตัวอย่างที่เวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน วัดค่าพีเอช วิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง แอคทิวิตี้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส และแลคเคส และวัดค่าสี

2.2.2 *Coriolus versicolor*

เลี้ยงเชื้อ *Coriolus versicolor* (เติมเชื้อปริมาณ 3 disc จากอาหารวุ้นแข็ง Malt extract agar) ในสารละลายส่วนใส (จากข้อ 1) ที่มีการเติมสารอาหารที่ดัดแปลงจาก Mycological broth และไม่มีการเติมสารอาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ โดยใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที สุ่มตัวอย่างที่เวลา 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน วัดค่าพีเอช และวิเคราะห์ค่าต่างๆเหมือนข้อ 2.2.1

2.3 การลดความเข้มของสีด้วยวิธีการทางเคมี

สารเคมีที่ใช้ทดลองเป็นสารช่วยตกตะกอนทั้งหมด 7 ชนิดได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมออกไซด์ อลูมิเนียมซัลเฟต เฟอรัสซัลเฟต เฟอริกซัลเฟต เฟอริก

คลอไรด์ และคลอริเนทเตต คอปเปอรัส ทดลองโดยใช้หลักการของวิธี Jar test (กรรณิการ์ สิริสิงห, 2525)

2.3.1 ผลของปริมาณสารเคมี

เตรียมน้ำทิ้งจาก decanter โดยแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกบางส่วนโดยกรองด้วยผ้าขาวบาง และนำสายละลายส่วนใสมาเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที ปรับพีเอชเริ่มต้นของน้ำทิ้งเท่ากับ 6.0 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (6 นอร์มอล) เติมสารเคมีชนิดต่างๆความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 กรัมต่อลิตร ลงในสารละลายส่วนใสปริมาตร 10 มิลลิลิตรในหลอดขนาดกลาง จากนั้นเขย่าอย่างเร็วนาน 1 นาที แล้วเขย่าอย่างช้าๆนาน 3 นาที และตั้งทิ้งไว้ 10 ชั่วโมง บันทึกการเปลี่ยนแปลงของสี และปริมาตรตะกอนที่เกิดขึ้น

2.3.2 ผลของพีเอช

เติมสารตกตะกอนแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม (ผลจากข้อ 2.3.1) ลงในน้ำทิ้งจาก decanter ที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกบางส่วน (ข้อ 2.3.1) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร จากนั้นปรับพีเอชของส่วนผสมให้ได้พีเอชเท่ากับ 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 และ 11 กวนโดยใช้ magnetic stirrer ที่ระดับความเร็ว 100 รอบต่อนาที นาน 3 นาที แล้วกวนที่ระดับความเร็ว 30 รอบต่อนาที นาน 12 นาทีตั้งทิ้งไว้ 10 ชั่วโมง บันทึกการเปลี่ยนแปลงของสีและปริมาตรตะกอนที่เกิดขึ้น

2.4 การลดความเข้มของสีโดยใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตร่วมกับแคลเซียมออกไซด์

2.4.1 ผลของความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟต

เติมโพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 และ 80 มิลลิลิตรต่อลิตรร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ลงในน้ำทิ้งจาก decanter ที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกแล้วบางส่วน (ข้อ 2.3.1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรเขย่าอย่างเร็วนาน 1 นาที และเขย่าอย่างช้าๆ นาน 3 นาที โดยใช้เครื่องเขย่าตั้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง วัดพีเอช บันทึกการเปลี่ยนแปลงของสี และปริมาตรตะกอนที่เกิดขึ้น

2.4.2 ผลของปริมาณแคลเซียมออกไซด์

เติมโพลีเฟอริกซัลเฟตในปริมาตรที่เหมาะสม (ผลจากข้อ 2.4.1) ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร ลงในน้ำทิ้งจาก decanter ที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกบางส่วน (ข้อ 2.3.1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.4.1

2.4.3 ผลของการใช้สารโพลีเฟอริกซัลเฟตร่วมกับแคลเซียมออกไซด์(CaO), แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$), โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

เติมโพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 และ 80 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ลงในสารละลายส่วนใส (จากข้อ 1) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.4.1

2.4.4 ผลของพีเอช

เตรียมสารละลายแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้ในการปรับพีเอชของสารละลายส่วนใส (จากข้อ 1) ให้ได้พีเอช 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 11.5, 12, 12.5 และ 13 เติมสารโพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้นที่เหมาะสม (จากข้อ 2.4.3) ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.4.1

2.5 การลดความเข้มของสีโดยวิธีการทางกายภาพ

2.5.1 การดูดซับโดยใช้ Activated carbon

ล้าง activated carbon และทำให้อิ่มตัวด้วยน้ำกลั่นบรรจุลงในคอลัมน์ (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร สูง 28 เซนติเมตร) ทีละน้อยๆเพื่อให้ถ่านอัดตัวกันแน่นความสูง 25 เซนติเมตรคิดเป็นปริมาตร 177 ลูกบาศก์เซนติเมตร ขณะบรรจุต้องให้ถ่านแช่อยู่ในน้ำตลอดเวลา ปั๊มน้ำทิ้งจาก decanter ที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกบางส่วน สู่คอลัมน์อย่างต่อเนื่องโดยใช้อัตราการไหลคงที่เท่ากับ 14 มิลลิลิตรต่อนาที หลังจากปรับระบบให้อยู่ในสภาวะคงที่แล้ว เก็บตัวอย่างน้ำที่ผ่านคอลัมน์ วัดค่าสี

2.5.2 การดูดซับด้วยเนื้อเมล็ดยางพารา

เติมเนื้อเมล็ดยางพารา (ขนาด 1x1x1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) 5 กรัม ลงในสารละลายส่วนใสของน้ำทิ้งจาก decanter (จากข้อ 1) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 ±2 องศาเซลเซียส) และ 40 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมินาน 12 ชั่วโมง เก็บตัวอย่าง วัดค่าสี

2.5.3 การใช้ถังกรอง

เติมน้ำทิ้งจาก decanter ที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกบางส่วน (ข้อ 2.3.1) ปริมาตร 4 ลิตรลงในถังกรองทรงกระบอกปริมาตร 20,322 ลูกบาศก์เซนติเมตร (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 28 เซนติเมตร สูง 33 เซนติเมตร) บรรจุทรายละเอียดหนา 3.5 เซนติเมตร ทรายหยาบหนา 6.5 เซนติเมตร ถ่านกัมมันต์หนา 2.5 เซนติเมตร และสำลีหนา 3 เซนติเมตร เก็บตัวอย่างน้ำที่ผ่านการกรอง วัดค่าสี

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์

1. ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter ของโรงงานน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์

การเตรียมเอนไซม์

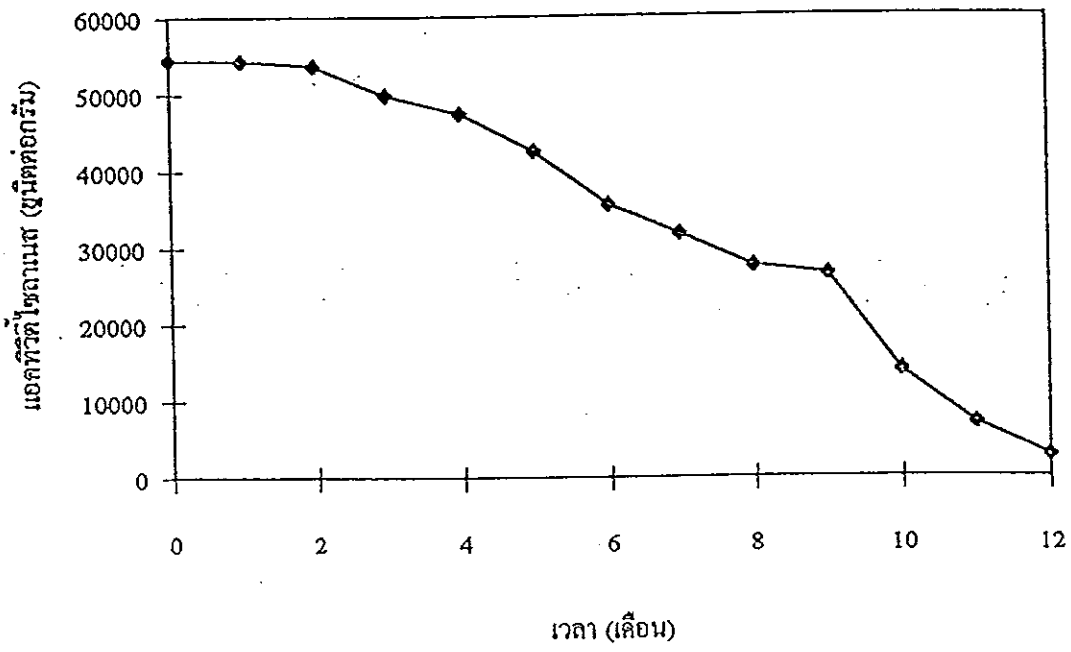
จากการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275 แบบอาหารแข็งในกากปาล์มที่มีการเติมสารอาหารกลูโคสร้อยละ 0.2 และยูเรียร้อยละ 2 บ่มที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 วัน เมื่อสกัดเป็นสารละลายเอนไซม์ด้วยน้ำกลั่นที่เติม Tween 80 ร้อยละ 0.1 ปริมาณ 5 เท่าของน้ำหนักสับสเตรท พบว่าได้สารละลายเอนไซม์สกัด (crude enzyme) ปริมาตรทั้งหมด 30,475 มิลลิลิตร มีค่าแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส และ CMCase เท่ากับ 34.75 และ 2.42 ยูนิตต่อมิลลิลิตรตามลำดับซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่จารุวรรณ มณีศรี (2538) ได้ทดลองไว้โดยมีค่าแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส และ CMCase เท่ากับ 32.99 และ 1.71 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำสารละลายเอนไซม์สกัดมาทำบริสุทธิ์บางส่วนโดยการตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 20-80 ของความอิ่มตัว ละลายตะกอนโปรตีนด้วยสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 4.8 ปริมาตร 1-2 เท่าของปริมาตรตะกอน พบว่าการตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 0-20, 20-40, 40-60 และ 60-80 ของความอิ่มตัวมีแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสเท่ากับ 35.48, 89.63, 410.32 และ 60.88 ยูนิตต่อมิลลิลิตร นำสารละลายเอนไซม์เข้มข้นไปผ่านการกำจัดเกลือโดยวิธี dialysis ได้สารละลายเอนไซม์ปริมาตร 895 มิลลิลิตร ให้ค่าแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส และ CMCase เท่ากับ 398.67 และ 7.17 ยูนิตต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าที่จารุวรรณ มณีศรี (2538) ได้ทดลองไว้โดยมีค่าแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส และ CMCase เท่ากับ 291.01 และ 2.35 ยูนิตต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จากนั้นนำเอนไซม์ที่ได้ไป freeze dry ได้เป็นเอนไซม์ผงปริมาณ 114 กรัมมีค่าแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส และ CMCase เท่ากับ 54,480 และ 269.33 ยูนิตต่อกรัม และเมื่อศึกษาความคงตัวของเอนไซม์ไซลาเนสโดย

เก็บรักษาเอนไซม์ผงไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 เดือน พบว่าแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสลดลงร้อยละ 94.90 (รูปที่ 5)

1.1 ผลของคุณลักษณะของน้ำทิ้งจาก decanter ต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมัน

ผลการวิเคราะห์คุณลักษณะของน้ำทิ้งจาก decanter ของโรงงานน้ำมันปาล์ม 2 โรงงาน (ตารางที่ 3) พบว่าน้ำทิ้งทั้ง 2 แหล่ง มีค่าพีเอชและซีโอดีใกล้เคียงกัน แต่น้ำทิ้งที่ได้จากบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์มีปริมาณน้ำมันและกรีสสูงกว่า แต่มีค่าของแข็งแขวนลอยและของแข็งทั้งหมดต่ำกว่าค่าที่ได้จากน้ำทิ้งของบริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์มซึ่งมีลักษณะที่ข้นหนืดสูงกว่ามาก และมีสีน้ำตาลเข้มกว่า (รูปที่ 6) สาเหตุอาจเนื่องจากในกระบวนการแยกน้ำมันของบริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์มนั้นไม่มีถังลอยและถังตกจมในการดักน้ำมันออกขั้นหนึ่งก่อนโดยหลังจากเข้าเครื่องหีบแบบเกลียวอัดแล้วของเหลวที่ได้จะนำเข้าถังพักเพื่อป้อนเข้าเครื่องแยก decanter ทันทีโดยเครื่องแยก decanter จะแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งและกาก ทำให้ได้ปริมาณน้ำทิ้งน้อย น้ำทิ้งจึงมีลักษณะข้นหนืดสูง และสีน้ำตาลเข้ม (อรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ, 2537)

คุณลักษณะของน้ำทิ้งจาก decanter จากบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัดมีค่าพีเอช 4.5 มีค่าซีโอดี น้ำมันและกรีส ของแข็งแขวนลอย และของแข็งทั้งหมดเท่ากับ 112,813, 25,587, 25,520 และ 44,677 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยค่าต่างๆจะใกล้เคียงหรืออยู่ในช่วง (range) ของค่าที่เคยมีรายงานมาก่อนดังแสดงในตารางที่ 3 (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ และคณะ, 2533 ; ปรีชา มุณีศรี, 2539 ; จารุวรรณ มณีศรี, 2538) จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นว่า ลักษณะของน้ำทิ้งจาก decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มในการสุ่มตัวอย่างแต่ละครั้งจะมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากความแตกต่างในเรื่องคุณภาพวัตถุดิบ กระบวนการผลิต ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง เป็นต้น นอกจากนี้พบว่าบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด มีการปรับระบบการกรองเพื่อเอาสิ่งสกปรกออกให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นก่อนที่น้ำมันจะถูกลำเลียงเข้าถังพัก ส่วนน้ำทิ้งจาก decanter จากบริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์ม จำกัด มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 มีค่าซีโอดี ค่าน้ำมันและกรีส ค่าของแข็งแขวนลอย และค่าของแข็งทั้งหมดเท่ากับ 132,184, 9,500, 75,530 และ 121,175 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ โดยค่าพีเอชและค่าซีโอดีใกล้เคียงกับค่าที่รายงานโดยอรัญ หันพงศ์กิตติกูล และคณะ (2537) แต่มีค่าน้ำมันและกรีสต่ำกว่า (ดังตารางที่ 3)



รูปที่ 5 ความคงตัวของเอนไซม์ไซลาเนสในรูป freezed dry ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 เดือน

ตารางที่ 3 คุณลักษณะน้ำทิ้งจาก decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

องค์ประกอบ	บริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด จังหวัดสงขลา				บริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์ม จำกัด จังหวัดกระบี่	
	โสภา** (2541)	พูนสุข และคณะ (2533)	จารุวรรณ (2538)	ปรีชา (2539)	โสภา*** (2541)	อรัญ และคณะ (2537)
พีเอช*	4.5±0.02	4.6	4.5	4.7	4.5	4.6
ซีโอดี	112,813±214.56	38,250	229,680	35,500	132,184	113,960
น้ำมัน & กรีส	25,520±48.22	4,700	31,160	24,900	9,500	14,700
ของแข็งแขวนลอย	20,520±40.36	11,600	-	33,100	75,530	26,300
ของแข็งทั้งหมด	44,677±52.97	36,440	-	53,030	121,175	-

* มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้นพีเอชไม่มีหน่วย

** เป็นค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

*** เป็นค่าที่วิเคราะห์ครั้งเดียว

ก ข

รูปที่ 6 ลักษณะของน้ำทิ้งจาก decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ก : น้ำทิ้งจาก decanter ของบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัด จังหวัดสงขลา

ข : น้ำทิ้งจาก decanter ของบริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์ม จำกัด จังหวัดกระบี่

เมื่อเติมสารละลายเอนไซม์ที่ได้จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 (แอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสเท่ากับ 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ในน้ำทิ้งจาก decanter ที่ได้จากบริษัทน้ำมันพืชบริสุทธิ์ จำกัดซึ่งมีปริมาณของแข็งแขวนลอยต่ำ (20,520 มิลลิกรัมต่อลิตร) แต่มีปริมาณน้ำมันและกรีสสูง (25,587 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในอัตราส่วน 1:1 แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลง พบว่าหลังจากตั้งทิ้งไว้ 6 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่างระหว่างการเติมเอนไซม์และไม่เติมเอนไซม์ (ชุดควบคุม) โดยสารละลายผสมทั้งสองเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบา (bulking solids) และสารละลายส่วนใส (supernatant) ทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำทิ้งดังกล่าวมีปริมาณสารแขวนลอยต่ำแต่มีปริมาณน้ำมันและกรีสสูง จึงทำการทดลองซ้ำโดยใช้น้ำทิ้งจากบริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์ม จำกัด ซึ่งเป็นน้ำทิ้งที่มีคุณลักษณะแตกต่างโดยมีปริมาณของแข็งแขวนลอยสูง (75,530 มิลลิกรัมต่อลิตร) และมีปริมาณน้ำมันและกรีสต่ำ (9,500 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่า หลังจากเติมสารละลายเอนไซม์แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และสังเกตุการเปลี่ยนแปลงที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่าหลังจากตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง สารละลายผสมไม่เกิดการแยกชั้นทั้งชุดที่เติมสารละลายเอนไซม์ และไม่เติมเอนไซม์ (ชุดควบคุม) ทั้งนี้คาดว่าสาเหตุอาจเกิดจากน้ำทิ้งดังกล่าวมีปริมาณน้ำมันและกรีสต่ำเกินไปรวมทั้งมีปริมาณสารแขวนลอยสูงมากจึงมีผลให้ไม่เกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบา การทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้น้ำทิ้งจาก decanter ของบริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์มเพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลทำให้เกิดการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันในลักษณะตะกอนเบาต่อไป

1.2 ผลของปริมาณน้ำมันในน้ำทิ้งจาก decanter

จากการเติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่มีแอคทิวิตี้ของไซลาเนสเท่ากับ 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตรลงในน้ำทิ้งจาก decanter ที่มีปริมาณน้ำมันเท่ากับ 10,000-30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4) พบว่าปริมาณน้ำมันต่ำสุดที่สามารถทำให้น้ำทิ้งเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาและสารละลายส่วนใส คือ 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตรหลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยแยกชั้นเป็นตะกอนเบาและสารละลายส่วนใสร้อยละ 96 และ 4 ตามลำดับหลังการบ่มนาน 6 ชั่วโมง และมีค่าเป็นร้อยละ 74 และ 26 ตามลำดับหลังการบ่มนาน 14 ชั่วโมง ซึ่งปริมาตรตะกอนลอยที่ลดลงเป็นผลจากการจับกลุ่มกันแน่นขึ้นของสารแขวนลอยทำให้ได้ปริมาตรของสารละลายส่วน

ตารางที่ 4 ผลของปริมาณน้ำมันในน้ำทิ้งจาก decanter ต่อการเกิดตะกอนเบาหลังจากเติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger** บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 14 ชั่วโมง

ปริมาณน้ำมัน		ปริมาตรตะกอนเบา (ร้อยละ)						
(มก./ล)	เวลา (ชม.)	1	2	3	6	9	12	14
ชุดควบคุม**								
1)		0	0	0	0	0	0	0
2)		0	0	0	0	0	0	0
10,000		0	0	0	0	0	0	0
15,000		0	0	0	96	86	82	74
20,000		0	0	0	98	90	88	78
25,000		0	0	0	96	88	85	78
30,000		0	0	96	84	78	76	70

* แอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส เท่ากับ 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

** สารละลายผสมประกอบด้วย

1) น้ำทิ้งจาก decanter และน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1

2) น้ำทิ้งจาก decanter ที่ผสมน้ำมันปริมาณ 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1

ใสเพิ่มขึ้น ส่วนน้ำทิ้งที่มีปริมาณน้ำมัน 30,000 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นโดยแยกชั้นเป็นตะกอนเบาและสารละลายส่วนใสได้ร้อยละ 96 และ 4 ตามลำดับ หลังการบ่มนาน 3 ชั่วโมง แสดงว่าปริมาณน้ำมันที่สูงขึ้นมีส่วนช่วยให้น้ำทิ้งเกิดการแยกชั้นได้เร็วขึ้น และเมื่อบ่มนาน 14 ชั่วโมงสารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาและสารละลายส่วนใสร้อยละ 70 และ 30 ตามลำดับ ปริมาตรตะกอนเบามีค่ามากกว่าในขณะที่สารละลายส่วนใสมีปริมาตรน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของจารุวรรณ มณีศรี (2538) ที่ทดลองเติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ลงในน้ำทิ้งที่มีปริมาณน้ำมันและกรีส 31,160 มิลลิกรัมต่อลิตรบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสนาน 19 ชั่วโมงโดยสารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาและสารละลายส่วนใสได้ร้อยละ 33 และ 67 ตามลำดับ ความแตกต่างนี้อาจเนื่องจากแหล่งน้ำทิ้งและคุณลักษณะของน้ำทิ้งที่แตกต่างกัน โดยการทดลองนี้ใช้น้ำทิ้งจากบริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์ม จำกัดที่มีปริมาณสารแขวนลอยสูงมาก ทำให้มีความข้นหนืดสูงการแยกชั้นจึงได้ผลต่ำกว่า ส่วนน้ำทิ้งที่มีปริมาณน้ำมัน เท่ากับ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสารละลายผสมไม่เกิดการแยกชั้น เช่นเดียวกับชุดควบคุม

1.3 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์

การเติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 และ Meicellase ที่มีแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส 50, 100, 150, 200, 400, 600 และ 800 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ลงในน้ำทิ้งจาก decanter ของบริษัทเอเชี่ยนน้ำมันปาล์ม จำกัด ที่เติมน้ำมันปาล์มให้มีปริมาณ เท่ากับ 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 5) พบว่าระดับแอคทิวิตี้ (ไซลาเนส) ต่ำสุดของเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่ทำให้สารละลายผสมเกิดการแยกชั้น คือ 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาและสารละลายส่วนใสร้อยละ 84 และ 16 ตามลำดับหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 14 ชั่วโมง การใช้เอนไซม์ที่ระดับความเข้มข้น 50, 100 และ 150 ยูนิตต่อมิลลิลิตรไม่ปรากฏการแยกชั้นของตะกอนเลย ส่วนที่ระดับแอคทิวิตี้ของไซลาเนสเท่ากับ 400, 600 และ 800 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบา ร้อยละ 84, 86 และ 80 ตามลำดับ และเป็นสารละลายส่วนใสร้อยละ 16, 14 และ 20 ตามลำดับหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 14 ชั่วโมง

ตารางที่ 5 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เติมลงในน้ำทิ้งจาก decanter ที่มีน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อการเกิดตะกอนเบาหลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 14 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ยูนิต/มล)	ปริมาตร (ร้อยละ)*		
	ตะกอนเบา	ตะกอนหนัก	ส่วนใส
เอนไซม์จาก *A. niger* ATCC 6275			
ชุดควบคุม**	0	0	0
200	84	0	16
400	84	0	16
600	86	0	14
800	80	0	20
Meicellase			
ชุดควบคุม**	0	0	0
200	0	49	51
400	0	45	55
600	32	40	28
800	32	0	68

* ปริมาตรเริ่มต้นประกอบด้วยน้ำทิ้งจาก decanter ร้อยละ 50 และ สารละลายเอนไซม์หรือน้ำกลั่น(ชุดควบคุม) ร้อยละ 50 โดยตะกอนเบาจะเกิดขึ้นด้านบน และตะกอนหนักจะเกิดขึ้นในส่วนล่างของกระบอกตวง

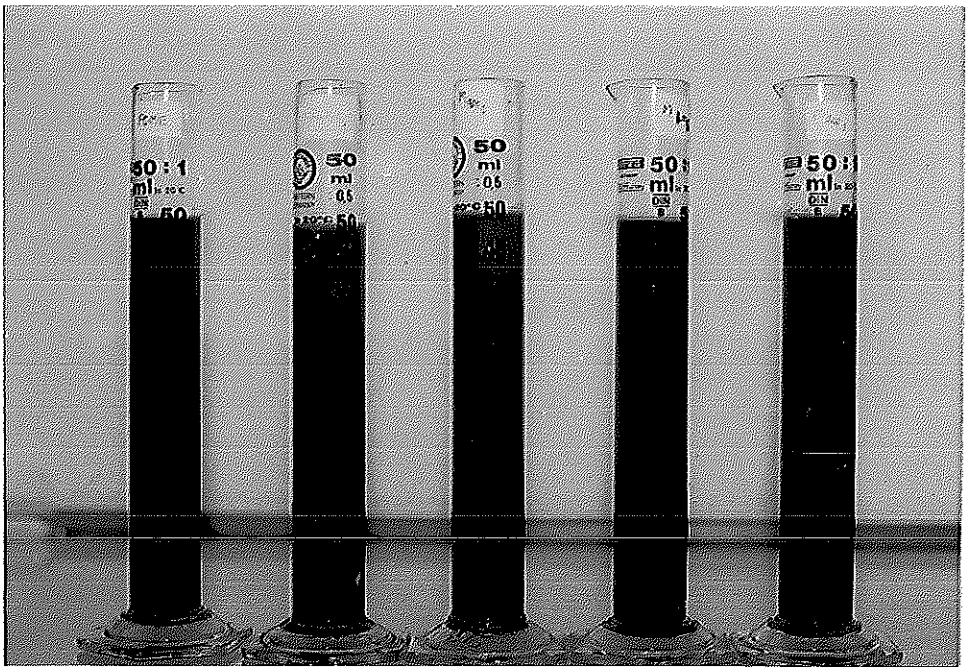
** ประกอบด้วยน้ำทิ้งจาก decanter ที่มีน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตรและน้ำกลั่นอัตราส่วน 1: 1

หมายเหตุ : ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 150 ยูนิตต่อมิลลิลิตร พบว่าสารละลายผสมไม่เกิดการแยกชั้น

ส่วนการใช้เอนไซม์ทางการค้า (Meicellase) (รูปที่ 7) พบว่าระดับแอคทิวิตี้ไซลาเนสต่ำสุดที่ทำให้สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นคือ 600 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบา ตะกอนหนัก และสารละลายส่วนใสร้อยละ 32, 40 และ 28 ตามลำดับ หลังการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 14 ชั่วโมง และที่ระดับแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส 800 ยูนิตต่อมิลลิลิตรสารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบา และสารละลายส่วนใสร้อยละ 32 และ 68 ตามลำดับหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 14 ชั่วโมง ส่วนที่ระดับแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสเท่ากับ 200 และ 400 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนหนัก (precipitate) ร้อยละ 49 และ 45 ตามลำดับ และเป็นสารละลายส่วนใสร้อยละ 51 และ 55 ตามลำดับหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 14 ชั่วโมง

1.4 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการบ่ม

การเติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่มีระดับแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ลงในน้ำทิ้งจาก decanter ของโรงงานน้ำมันปาล์มที่มีปริมาณน้ำมันและกรีส เท่ากับ 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง, 40, 50, 55, 60 และ 65 องศาเซลเซียส พบว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 60 และ 65 องศาเซลเซียส สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นสองส่วนได้เร็วที่สุด (ตารางที่ 6) คือหลังการบ่ม 1 ชั่วโมงโดยสารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาเท่ากัน คือร้อยละ 97 อุณหภูมิดังกล่าวใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสและเซลลูเลส จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 คือ 55 และ 65 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (สมรักษ์ พันธ์ผล, 2537) ส่วนการบ่มที่อุณหภูมิ 50 และ 55 องศาเซลเซียส สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นสองส่วนหลังการบ่ม 2 ชั่วโมงโดยสารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาร้อยละ 98 และ 90 ตามลำดับ และการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นสองส่วนหลังการบ่ม 6 ชั่วโมง ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Prasertsan และคณะ (1997) ซึ่งพบว่า สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นสองส่วนหลังการบ่ม 30 นาที ความแตกต่างนี้อาจเนื่องจากคุณลักษณะของน้ำทิ้งจาก decanter ที่แตกต่างกันโดยเฉพาะปริมาณสารแขวนลอยและปริมาณน้ำมันและกรีส ซึ่งน้ำทิ้งที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้มีปริมาณสารแขวนลอยสูง มีลักษณะข้น และมีปริมาณน้ำมันและกรีสต่ำ



POME A B C D

รูปที่ 7 ลักษณะการแยกชั้นของน้ำทิ้งจาก decanter หลังเติมสารละลายเอนไซม์ Meicellase บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 ชั่วโมง

POME : น้ำทิ้งจาก decanter ที่มีปริมาณน้ำมัน 9,500 มิลลิกรัมต่อลิตร

A : น้ำทิ้งจาก decanter ที่มีปริมาณน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมน้ำกลั่น

B : น้ำทิ้งจาก decanter ที่มีปริมาณน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมสารละลายเอนไซม์ที่มีแอคทิวิตี้ไซลาเนส 800 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

C : น้ำทิ้งจาก decanter ที่มีปริมาณน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมสารละลายเอนไซม์ที่มีแอคทิวิตี้ไซลาเนส 600 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

D : น้ำทิ้งจาก decanter ที่มีปริมาณน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมสารละลายเอนไซม์ที่มีแอคทิวิตี้ไซลาเนส 400 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 6 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มต่อการเกิดตะกอนเบาหลังจากเติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger*[+] ในน้ำทิ้งจาก decanter ที่มีน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

อุณหภูมิ (^{0}ซ)	ปริมาตรตะกอนเบา (ร้อยละ)							
เวลา (ชม.)	1	2	3	4	5	6	9	18
*ชุดควบคุม (40 ^{0}ซ)	0	0	0	0	0	0	0	0
อุณหภูมิห้อง	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	94	87	75
50	0	98	93	87	85	83	80	75
55	0	90	84	82	80	80	78	73
60	97	87	83	82	80	79	78	74
65	97	87	86	85	84	84	84	83

[+] แอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส เท่ากับ 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

* ปริมาตรเริ่มต้นประกอบด้วยน้ำทิ้งจาก decanter ที่มีน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตรร้อยละ 50 และ น้ำกลั่นร้อยละ 50

สำหรับการบ่มที่อุณหภูมิห้องสารละลายผสมไม่เกิดการแยกชั้นแม้ว่าจะใช้เวลาในการบ่มนาน 18 ชั่วโมง

1.5 ผลของพีเอช

จากการเติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่มีระดับแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ลงในน้ำทิ้งจาก decanter ของโรงงานน้ำมันปาล์มที่มีปริมาณน้ำมันและกรีส เท่ากับ 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปรับพีเอชเริ่มต้นของน้ำทิ้งด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 นอร์มอล และ โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 6 นอร์มอล ให้ได้ระดับพีเอชของน้ำทิ้งดังนี้ คือ 3.5, 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.5 บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง (ตารางที่ 7) พบว่าที่ระดับพีเอชเริ่มต้นของน้ำทิ้ง 4.5-5.5 สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นสองส่วนได้ดีที่สุดโดยแยกได้เป็นตะกอนเบาร้อยละ 78 รองลงมาคือที่ระดับพีเอช 6.5 โดยสารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาร้อยละ 82 แสดงให้เห็นว่าช่วงพีเอชที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนสคือ พีเอช 4.5-5.5 ซึ่งพีเอชที่เหมาะสมต่อแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสจาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 คือ 4.5 (สมรักษ์ พันธ์ผล, 2537) และจากการสังเกตพบว่าการปรับพีเอชของน้ำทิ้งมีผลต่อสีของน้ำทิ้ง โดยเมื่อปรับพีเอชของน้ำทิ้งให้สูงกว่าพีเอช 5.5 น้ำทิ้งจะเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเป็นน้ำตาลดำซึ่งเกิดจากการทำปฏิกริยาของโซเดียมไฮดรอกไซด์กับเกลือของโลหะเช่น เหล็ก และทองแดงที่มีอยู่ในน้ำทิ้ง (Salunkhe and Desai, 1986) และเมื่อนำสารละลายส่วนใสหลังผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกแล้วมาวิเคราะห์หาค่าซีโอดีพบว่า ที่ระดับพีเอชของน้ำทิ้งเท่ากับ 4.5 สามารถลดค่าซีโอดีได้สูงสุดเท่ากับร้อยละ 35 ซึ่งต่ำกว่าค่าที่เคยมีรายงานมาก่อน (ร้อยละ 71) (Prasertsan, *et al.*, 1997) และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและกรีส พบว่าที่ระดับพีเอชเริ่มต้นของน้ำทิ้ง 3.5 และ 4.5 สามารถลดปริมาณน้ำมันและกรีสได้ดีที่สุดคือ ร้อยละ 95 รองลงมาคือที่ระดับพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 โดยสามารถลดปริมาณน้ำมันและกรีสได้ร้อยละ 94 ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Prasertsan และคณะ (1997) คือสามารถลดปริมาณน้ำมันและกรีสได้ร้อยละ 99 นอกจากนี้พบว่าเอนไซม์ที่ผลิตได้นอกจากจะมีแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสแล้วยังพบแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ CMCase ด้วยที่ทำงานร่วมกันซึ่งพีเอชที่เหมาะสมต่อแอคทิวิตี้

ตารางที่ 7 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเกิดตะกอนเบาหลังการเติมสารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger** ลงในน้ำทิ้งจาก decanter ที่มีน้ำมัน 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 3 ชั่วโมง

พีเอช	สี	ปริมาตรตะกอนเบา (ร้อยละ)	ซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)	Oil & grease ที่ลดลง (ร้อยละ)
3.5	น้ำตาล	86	31	95
4.5**	น้ำตาล	78	35	95
5.0	น้ำตาล	78	27	94
5.5	น้ำตาลเข้ม	78	26	93
6.5	น้ำตาลเข้ม	82	20	92

* แอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนส เท่ากับ 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

** เป็นค่าพีเอชของน้ำทิ้ง (ไม่มีการปรับพีเอช)

ของเอนไซม์ CMCase จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 คือ 3.5 (สมรักษ์ พันธ์ผล, 2537)

นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์หาแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสก่อนและหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง (ตารางที่ 8) พบว่าค่าแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ลดลงมาก หากคำนวณว่าสารละลายเอนไซม์ที่เตรียม (200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ถูกเจือจางลงเหลือประมาณครึ่งหนึ่ง (เหลือประมาณ 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) แต่ปรากฏว่าค่าแอคทิวิตี้ที่วิเคราะห์ได้อยู่ในช่วง 4.32-7.03 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เหตุที่เป็นเช่นนี้คาดว่าเกิดจากการที่เอนไซม์ถูกดูดซับไว้ด้วยสารแขวนลอยในน้ำทิ้ง (เริ่มต้นมีค่า 75,530 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ 37,765 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังถูกเจือจาง) โดยที่พีเอชของน้ำทิ้งเริ่มต้น 6.5 แอคทิวิตี้ของเอนไซม์ลดลงมากที่สุด คือร้อยละ 83.7 (เหลือ 0.82 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) รองลงมาตามลำดับ คือที่พีเอชเริ่มต้น 3.5, 5.5, 5.0 และ 4.5 โดยแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ลดลงร้อยละ 82.6 (เหลือ 0.82 ยูนิตต่อมิลลิลิตร), 80.3 (เหลือ 0.94 ยูนิตต่อมิลลิลิตร), 79.4 (เหลือ 0.95 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และ 78.3 (เหลือ 1.53 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของสมรักษ์ พันธ์ผล (2537) ซึ่งพบว่าเอนไซม์ไซลาเนสจาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 มีความคงตัวสูงที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แม้จะบ่มนานถึง 120 นาที แต่แอคทิวิตี้ของเอนไซม์ลดลงครึ่งหนึ่งเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 120 นาที และแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ลดลงเกือบหมดเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า เอนไซม์ไซลาเนสที่ผลิตจาก *Aspergillus sp.* เอนไซม์มีความคงตัวดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เมื่อบ่มเป็นเวลา 60 นาที แต่แอคทิวิตี้ของเอนไซม์ลดลงครึ่งหนึ่งเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ลดลงทั้งหมดเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (Kinoshita and Svarachorn, 1983 อ้างโดย สมรักษ์ พันธ์ผล 2537)

2.การลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสหลังจากการแยกสารแขวนลอยและน้ำมัน

หลังจากใช้สารละลายเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 เติมลงในน้ำทิ้งจาก decanter เพื่อให้น้ำทิ้งเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาและส่วนใส จากการ

ตารางที่ 8 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อค่าแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ไซลาเนสจาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่เติมลงในน้ำทิ้งจาก decanter หลังบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

พีเอช	แอคทิวิตี้ของไซลาเนส (ยูนิต/มล.)		แอคทิวิตี้ที่ลดลง (ร้อยละ)
	ก่อนบ่ม	หลังบ่ม	
3.5	5.48	0.95	82.6
4.5*	7.03	1.53	78.3
5.0	4.32	0.89	79.4
5.5	4.74	0.94	80.3
6.5	5.05	0.82	83.7

* ชุดควบคุม

ทดลองพบว่าสารละลายส่วนใสยังมีสีน้ำตาลเข้ม ดังนั้นจึงได้ศึกษาวิธีการที่จะลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสด้วยวิธีการต่างๆ

2.1 ผลของการใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

การเติมสารละลายเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่มีแอคทิวิตี้ 0.5, 1.0 และ1.5 ยูนิตต่อมิลลิลิตรร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ลงในสารละลายส่วนใส (ตารางที่ 9) พบว่า หลังการบ่มที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สีของน้ำทิ้งจะเข้มขึ้นตามแอคทิวิตี้ของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น โดยความเข้มของสีจะเพิ่มขึ้นร้อยละ 14.3, 22.9 และ 29.9 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่นำมาใช้ในการทดลองมีสีน้ำตาล และเมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ก็จะทำให้เกิดสีน้ำตาลเข้มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสส่วนใหญ่เป็น heme enzyme จะมีสีน้ำตาลเล็กน้อยของเหล็กซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Klibanov และคณะ (1983) ที่กล่าวว่าการใช้เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจากฮอสแรดดิช (horseradish) ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถลดความเข้มของสีในน้ำเสียจากโรงงานแปรรูปถ่านหินซึ่งมีฟีนอลเป็นสารประกอบหลักและหลังจากทำปฏิกิริยาฟีนอลจะตกตะกอนและความเข้มของสีในน้ำทิ้งจะลดลง ความแตกต่างของผลการทดลองอาจเนื่องจากความแตกต่างขององค์ประกอบที่ต่างกันของน้ำทิ้ง

2.2 ผลของการใช้จุลินทรีย์

2.2.1 *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F-1767

การเลี้ยงเชื้อรา *P. chrysosporium* BKM-F-1767 ในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกแล้วที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) โดยเปรียบเทียบระหว่างการเติมสารอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำกัดไนโตรเจน (nitrogen - limited medium) และการไม่เติมสารอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมสารอาหารเชื้อผลิตเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสได้สูงสุดเท่ากับ 1.41 ยูนิตต่อมิลลิลิตรหลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วัน แต่ไม่พบแอคทิวิตี้ของเอนไซม์แลคเคส (ตารางที่ 10) ส่วนความเข้มของสีในน้ำทิ้งลดลงเล็กน้อย (ร้อยละ 6.2) น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 14.02 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 6 วัน ค่าพีเอชลดลงเพียงเล็กน้อย (จากพีเอช 3.35 เป็น 3.03) ส่วนชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมสารอาหาร พบว่าเชื้อไม่ผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิด ค่าสีเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 9 ผลของความเข้มข้นเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ต่อการเปลี่ยนแปลงของสีในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมัน บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ยูนิต/มล)	สี	ค่าสี * (หน่วย)	การลดความเข้มของสี (ร้อยละ)
0	น้ำตาลเข้ม	11,936	-
0.5	น้ำตาลเข้ม	13,936	+14.3
1.0	น้ำตาลเข้ม	15,484	+22.9
1.5	น้ำตาลเข้ม	17,037	+29.9

* วัดค่าสีโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรและเทียบค่าสีจากกราฟมาตรฐานสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์

+ คือความเข้มของสีเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 10 ผลของสารอาหารต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์จาก *Phanerochaete chrysosporium* ที่เลี้ยงในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

เวลา (วัน)	เติมสารอาหาร					ไม่เติมสารอาหาร				
	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอคทิวิตี้ (ยูนิต/มล)		คาสี*(หน่วย)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอคทิวิตี้ (ยูนิต/มล)		คาสี** (หน่วย)
			เปอร์ออกซิเดส	แลคเคส				เปอร์ออกซิเดส	แลคเคส	
0	3.35	0	0	0	0	4.54	0	0	0	0
1	3.34	0.72	0	0	0	4.53	0.522	0	0	0
2	3.34	2.09	0	0	0	4.54	1.71	0	0	0
3	3.31	5.47	0	0	0	4.55	4.45	0	0	+221
4	3.29	9.87	0.731	0	-222	4.58	4.82	0	0	+221
5	3.25	13.69	1.412	0	-222	4.60	7.36	0	0	+452
6	3.12	14.02	1.023	0	-887	4.80	7.08	0	0	+452
7	3.03	13.86	1.252	0	-887	4.72	6.76	0	0	+452

* ค่าสีเริ่มต้นเท่ากับ 14,154 หน่วย

** ค่าสีเริ่มต้นเท่ากับ 12,380 หน่วย

\+ คือค่าความเข้มของสีเพิ่มขึ้น

\- คือค่าความเข้มของสีลดลง

เล็กน้อย (ร้อยละ 3.6) มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 7.36 กรัมต่อลิตรหลังจากเลี้ยงเชื้อนาน 5 วัน และระดับพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 4.54 เป็น 4.82 หลังการเลี้ยงเชื้อ 6 วัน

ส่วนผลการเลี้ยง *P. chrysosporium* BKM-F-1767 ในสารละลายส่วนใสที่ระดับอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบระหว่างการเติมสารอาหาร และไม่เติมสารอาหาร (ตารางที่ 11) ชุดการทดลองที่มีการเติมสารอาหาร พบว่าเชื้อผลิตเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสได้สูงสุดเท่ากับ 2.203 ยูนิตต่อมิลลิลิตร หลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 4 วันแต่ไม่พบแอคทิวิตี้ของเอนไซม์แลคเคส ส่วนความเข้มของสีในน้ำทิ้งลดลงเล็กน้อย (ร้อยละ 6.2) น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 21.43 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 5 วัน ค่าพีเอชลดลงเพียงเล็กน้อย (จากพีเอช 3.35 เป็น 3.07) ส่วนชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมสารอาหาร พบว่าเชื้อไม่ผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิด ค่าสีลดลงเล็กน้อย (ร้อยละ 1.7) มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 11.93 กรัมต่อลิตรหลังจากเลี้ยงเชื้อนาน 5 วัน และระดับพีเอชเพิ่มขึ้นจาก 4.54 เป็น 5.04 หลังการเลี้ยงเชื้อ 6 วัน และจะลดลงอีกเล็กน้อยหลังจากเลี้ยงเชื้อนาน 7 วัน

จากผลการเลี้ยงเชื้อ *P. chrysosporium* BKM-F-1767 ในสารละลายส่วนใสที่มีการเติมสารอาหารและไม่มีการเติมสารอาหารทั้ง 2 ระดับอุณหภูมิ ไม่พบแอคทิวิตี้ของเอนไซม์แลคเคส อาจเนื่องจากสภาวะการเลี้ยงเชื้อในการทดลองนี้ที่ไม่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์แลคเคส หรือจุลินทรีย์ขาดกลไกทางพันธุกรรมในการที่จะผลิตเอนไซม์แลคเคส (Srinivasan, *et al.*, 1995) นอกจากนี้ยังพบว่าการทดลองนี้ให้ประสิทธิภาพการลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งน้อยมากทั้งนี้อาจจะเนื่องจากความเข้มข้นของน้ำทิ้งมีมากเกินไปโดยมีค่าซีโอดีสูงถึง 62,288 มิลลิกรัมต่อลิตร และสีของเอนไซม์ผงที่ใช้ในการทดลองมีสีดำ

2.2.2 *Coriolus versicolor*

จากการเลี้ยง *Coriolus versicolor* ในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกแล้วที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส)โดยเปรียบเทียบระหว่างการเติมสารอาหาร และไม่เติมสารอาหาร (ตารางที่ 12) พบว่าในชุดการทดลองที่มีการเติมสารอาหาร เชื้อผลิตเอนไซม์แลคเคสได้สูงสุดเท่ากับ 6.6 ยูนิตต่อมิลลิลิตร หลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วันแต่ไม่พบแอคทิวิตี้ของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ส่วนความเข้ม

ตารางที่ 11 ผลของสารอาหารต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์จาก *Phanerochaete chrysosporium* ที่เลี้ยงในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7วัน

เวลา (วัน)	เติมสารอาหาร					ไม่เติมสารอาหาร				
	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอคทิวิตี้ (ยูนิต/มล)		คาสี*(หน่วย)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอคทิวิตี้ (ยูนิต/มล)		คาสี** (หน่วย)
			เปอร์ออกซิเดส	แลคเคส				เปอร์ออกซิเดส	แลคเคส	
0	3.35	0	0	0	0	4.54	0	0	0	0
1	3.35	1.74	0	0	0	4.55	1.13	0	0	0
2	3.32	4.59	0	0	-222	4.55	2.15	0	0	0
3	3.28	9.33	0.854	0	-222	4.54	7.02	0	0	-222
4	3.24	14.17	2.203	0	-222	4.82	7.43	0	0	-222
5	3.21	21.43	1.891	0	-222	4.82	11.93	0	0	-222
6	3.12	19.04	1.855	0	-882	5.04	11.43	0	0	0
7	3.07	18.50	1.632	0	-882	4.80	10.50	0	0	0

* ค่าสีเริ่มต้นเท่ากับ 14,154 หน่วย

** ค่าสีเริ่มต้นเท่ากับ 12,380 หน่วย

- คือค่าความเข้มของสีลดลง

ตารางที่ 12 ผลของสารอาหารต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์จาก *Coriolus versicolor* ที่เลี้ยงในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

เวลา (วัน)	เติมสารอาหาร					ไม่เติมสารอาหาร				
	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอคทิวิตี้ (ยูนิต/มล)		คาสี*(หน่วย)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอคทิวิตี้ (ยูนิต/มล)		คาสี** (หน่วย)
			เปอร์ออกซิเดส	แลคเคส				เปอร์ออกซิเดส	แลคเคส	
0	6.28	0	0	0	0	4.54	0	0	0	0
1	6.13	0.35	0	0	0	4.54	1.41	0	0	0
2	5.76	4.62	0	0	-222	4.56	1.82	0	0	0
3	5.19	7.70	0	2.4	-222	4.60	1.96	0	0	+221
4	4.89	8.13	0	3.0	-222	4.60	2.13	0	0	+221
5	4.73	11.38	0	6.6	-444	4.62	2.38	0	0	+221
6	4.46	12.77	0	5.3	-444	4.62	2.77	0	0	0
7	4.44	11.94	0	2.6	-444	4.62	2.94	0	0	0

* ค่าสีเริ่มต้นเท่ากับ 13,267 หน่วย

** ค่าสีเริ่มต้นเท่ากับ 12,380 หน่วย

+ คือค่าความเข้มของสีเพิ่มขึ้น

- คือค่าความเข้มของสีลดลง

ของสีในน้ำทิ้งลดลงเล็กน้อย (ร้อยละ 3.3) น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 12.77 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 6 วัน ค่าพีเอชลดลง (จากพีเอช 6.28 เป็น 4.44) ส่วนชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมสารอาหาร พบว่าเชื้อไม่ผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิด ค่าสีเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (ร้อยละ 3.6) มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2.94 กรัมต่อลิตร หลังจากเลี้ยงเชื้อนาน 7 วัน และระดับพีเอชเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (จากพีเอช 4.54 เป็น 4.62) หลังการเลี้ยงเชื้อ 6 วัน และจะลดลงอีกเล็กน้อยหลังการเลี้ยงเชื้อนาน 7 วัน

ส่วนการเลี้ยง *Coriolus versicolor* ในสารละลายส่วนใสที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสโดยเปรียบเทียบระหว่างการเติมสารอาหาร และไม่เติมสารอาหาร (ตารางที่ 13) พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมสารอาหาร เชื้อผลิตเอนไซม์แลคเคสได้สูงสุดเท่ากับ 13.3 ยูนิตต่อมิลลิลิตร หลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วันแต่ไม่พบแอคทิวิตี้ของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ส่วนความเข้มของสีในน้ำทิ้งลดลงเล็กน้อย (ร้อยละ 6.2) น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 20.24 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อนาน 6 วัน ค่าพีเอชลดลง (จากพีเอช 6.28 เป็น 4.77) ส่วนชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมสารอาหาร พบว่าเชื้อไม่ผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิด ค่าสีลดลงล็กน้อย (ร้อยละ 1.7) มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 5.80 กรัมต่อลิตร หลังจากเลี้ยงเชื้อนาน 6 วัน และระดับพีเอชเพิ่มขึ้น (จากพีเอช 4.54 เป็น 4.60) หลังการเลี้ยงเชื้อ 7 วัน

จากผลการทดลองเลี้ยง *Coriolus versicolor* ในสารละลายส่วนใสทั้ง 2 ระดับอุณหภูมิ ทั้งที่มีการเติมสารอาหารและไม่มีการเติมสารอาหาร พบว่าประสิทธิภาพการลดความเข้มของสีต่ำมาก ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากความเข้มข้นของน้ำทิ้งมีมากเกินไปซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Yesilada , *et al.*, (1998) ที่ทดลองเลี้ยง *Coriolus versicolor* ในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันมะกอกเพื่อลดปริมาณซีโอดี ลดปริมาณสารฟีนอล และลดค่าสี พบว่าการเลี้ยงเชื้อดังกล่าวในน้ำทิ้งที่ไม่มีการเจือจางเชื้อจะเจริญไม่ดีเนื่องจากมีปริมาณซีโอดี และฟีนอลสูงเกินไป

2.3 การลดความเข้มของสีโดยวิธีการทางเคมี

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีทั้งหมด 7 ชนิดได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมออกไซด์ อลูมิเนียมซัลเฟต เฟอรัสซัลเฟต เฟอริกซัลเฟต เฟอริก

ตารางที่ 13 ผลของสารอาหารต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์จาก *Coriolus versicolor* ที่เลี้ยงในสารละลายส่วนใสที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

เวลา (วัน)	เติมสารอาหาร					ไม่เติมสารอาหาร				
	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอคทิวิตี้ (ยูนิต/มล)		ค่าสี*(หน่วย)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอคทิวิตี้ (ยูนิต/มล)		ค่าสี** (หน่วย)
			เปอร์ออกซิเดส	แลคเคส				เปอร์ออกซิเดส	แลคเคส	
0	6.28	0	0	0	0	4.54	0	0	0	0
1	6.14	0.56	0	0	0	4.56	1.68	0	0	0
2	5.69	7.42	0	6.6	-222	4.56	2.40	0	0	0
3	5.01	14.72	0	10	-222	4.62	3.33	0	0	+221
4	4.84	16.60	0	12.6	-222	4.60	4.17	0	0	+221
5	4.76	19.70	0	13.3	-222	4.60	4.43	0	0	+221
6	4.77	20.24	0	6.0	-222	4.60	5.24	0	0	0
7	4.77	20.08	0	5.3	-222	4.60	5.80	0	0	0

* ค่าสีเริ่มต้นเท่ากับ 13,267 หน่วย

** ค่าสีเริ่มต้นเท่ากับ 12,380 หน่วย

+ คือค่าความเข้มของสีเพิ่มขึ้น

- คือค่าความเข้มของสีลดลง

คลอไรด์ และ คลอริเนตเตต คอปเปอรัส ในการลดความเข้มของสีของน้ำทิ้งจาก decanter โดย

2.3.1 ผลของปริมาณสารเคมี

จากการใช้สารเคมีแต่ละชนิดเติมลงในน้ำทิ้งจาก decanter ที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกแล้วที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 14) พบว่า การใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์และแคลเซียมออกไซด์ทำให้ ค่าสี ความเข้มของสีและพีเอชในน้ำทิ้งเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารเคมีที่สูงขึ้น การเกิดตะกอนนั้นพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตรนั้นไม่มีตะกอนเกิดขึ้น ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 1.5 และ 2.0 กรัมต่อลิตร ตะกอนมีปริมาตรร้อยละ 15 และ 20 ตามลำดับสำหรับการใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ และได้ปริมาตรตะกอนร้อยละ 20 และ 30 ตามลำดับสำหรับการใช้แคลเซียมออกไซด์ หลังตั้งทิ้งไว้ 10 ชั่วโมง ส่วนการใช้อลูมิเนียมซัลเฟต เฟอรัสซัลเฟต เฟอริกซัลเฟต เฟอริกคลอไรด์ และคลอริเนตเตต คอปเปอร์รัส พบว่าค่าสี ความเข้มของสีและพีเอชลดลงตามระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น แต่ไม่สามารถลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และไม่เกิดการตกตะกอน

จากการทดลองข้างต้น พบว่าการใช้สารเคมีทั้ง 7 ชนิดในระดับความเข้มข้น 0.5-2 กรัมต่อลิตรไม่สามารถลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งได้ ทั้งนี้เนื่องจากพีเอชของน้ำทิ้งค่อนข้างเป็นกรด (พีเอช 4.54) อาจไม่เหมาะสมเพราะสารเคมีแต่ละชนิดจะให้ประสิทธิภาพดีที่สุดที่พีเอชช่วงหนึ่งเท่านั้นเช่น อลูมิเนียมซัลเฟตที่พีเอช 6-7.8 เฟอริกคลอไรด์ที่พีเอช 6-8 เฟอริกซัลเฟตที่พีเอช 9 เฟอรัสซัลเฟตที่พีเอช 4-11 คลอริเนตเตต คอปเปอรัสที่พีเอช 6-9 (ณรงค์ วุทธเสถียร, 2526) หรือปริมาณสารเคมีที่ใช้ไม่เหมาะสมขั้นตอนต่อไปจึงทดสอบผลของพีเอช

2.3.2 ผลของพีเอช

จากการเติมสารเคมีแต่ละชนิดลงในน้ำทิ้งแล้วปรับพีเอชของน้ำทิ้งให้อยู่ในช่วงพีเอช 4-11 (ตารางที่ 15) พบว่าค่าสีและความเข้มของสีเพิ่มขึ้นตามพีเอชของน้ำทิ้งที่เพิ่มขึ้น โดยลักษณะของน้ำทิ้งมีสีน้ำตาลดำ แต่ค่าสีและความเข้มของสีลดลงเล็กน้อยที่พีเอช 10 และ 11 และมีตะกอนเกิดขึ้นเฉพาะกรณีที่เติมแคลเซียมไฮดรอกไซด์และ

ตารางที่ 14 ผลของชนิดและปริมาณสารเคมีต่อการเปลี่ยนแปลงสี พีเอช และปริมาตรตะกอนที่เกิดในสารละลายส่วนใสหลังการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter หลังเติมสารเคมีแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 ชั่วโมง

ปริมาณสารเคมี (ก/ล)	สี	พีเอช	ค่าสี* (หน่วย)	ปริมาตรตะกอน (ร้อยละ)
$Ca(OH)_2$				
0.5	น้ำตาลเข้ม	5.60	10,041	0
1.0	น้ำตาลเข้ม	6.79	11,156	0
1.5	น้ำตาลเข้ม	8.47	14,587	15
2.0	น้ำตาลเข้ม	8.80	15,030	20
CaO				
0.5	น้ำตาลเข้ม	5.73	10,085	0
1.0	น้ำตาลเข้ม	8.03	12,702	0
1.5	น้ำตาลเข้ม	8.50	14,043	20
2.0	น้ำตาลเข้ม	8.96	14,510	30
$Al_2(SO_4)_3$				
0.5	น้ำตาลเข้ม	5.66	8,289	0
1.0	น้ำตาล	5.40	7,580	0
1.5	เหลือง	5.17	7,380	0
2.0	เหลือง	4.96	6,870	0
$FeSO_4$				
0.5	น้ำตาลเข้ม	5.70	13,012	0
1.0	น้ำตาลเข้ม	5.67	12,303	0
1.5	น้ำตาลเข้ม	5.56	11,150	0
2.0	น้ำตาลเข้ม	5.28	8,535	0

(ต่อ)

ปริมาณสารเคมี (ก/ล)	สี	พีเอช	ค่าสี* (หน่วย)	ปริมาตรตะกอน (ร้อยละ)
$Fe_2(SO_4)_3$				
0.5	น้ำตาลเข้ม	5.71	9,575	0
1.0	น้ำตาลเข้ม	5.27	9,354	0
1.5	น้ำตาลเข้ม	4.99	7,225	0
2.0	น้ำตาลเข้ม	4.77	6,595	0
$FeCl_3$				
0.5	น้ำตาลเข้ม	5.13	14,232	0
1.0	น้ำตาลเข้ม	4.81	11,748	0
1.5	น้ำตาลเข้ม	4.08	11,394	0
2.0	น้ำตาลเข้ม	4.08	10,773	0
Chlorinated copperous				
0.5	น้ำตาลเข้ม	5.73	11,571	0
1.0	น้ำตาลเข้ม	5.66	11,194	0
1.5	น้ำตาลเข้ม	5.62	11,082	0
2.0	น้ำตาลเข้ม	5.46	10,225	0

* วัดค่าสีโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรและเทียบค่าสีจากกราฟมาตรฐานสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์

ค่าสีเริ่มต้น เท่ากับ 5,495 หน่วย

พีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 4.54

ตารางที่ 15 ผลของพีเอชต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีในสารละลายส่วนใสหลังการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter หลังเติมสารเคมีตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 ชั่วโมง

พีเอช	ค่าสี* (หน่วย)						
	$Ca(OH)_2$	CaO	$Al_2(SO_4)_3$	$FeSO_4$	$Fe_2(SO_4)_3$	$FeCl_3$	Chlorinated copperrous
4	6,600	7,931	9,128	9,128	12,144	16,490	16,712
5	7,177	10,059	10,325	14,627	14,627	17,599	18,220
6	10,769	12,853	10,592	16,313	15,248	20,393	17,909
7	14,539	16,845	15,115	17,421	17,776	21,191	20,748
8	14,587	15,381	16,712	21,679	18,929	25,005	24,784
9	18,175	20,703	24,163	25,981	19,198	24,562	29,973
10	17,288	18,308	18,353	22,743	22,300	38,665	35,117
11	15,426	14,240	18,131	16,446	27,090	33,077	26,868

* วัดค่าสีโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรและเทียบค่าสีจากกราฟมาตรฐานของสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์ ค่าสีเริ่มต้นของสารละลายส่วนใส เท่ากับ 5,495 หน่วย

แคลเซียมออกไซด์โดยมีปริมาณตะกอนสูงสุดร้อยละ 63 และ 53 ตามลำดับ (ตารางที่ 16) ที่พีเอช 11 เมื่อตั้งทิ้งไว้ 10 ชั่วโมง ส่วนสารเคมีชนิดอื่นๆ พบว่าไม่มีตะกอนเกิดขึ้น แสดงว่าการใช้สารเคมีแต่ละชนิดในลดความเข้มของสีและการตกตะกอนนั้นพีเอชเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อเกาะกันของอนุภาคคอยลอยด์เพื่อให้เกิดการตกตะกอน และการลดค่าสี เช่นการใช้อลูมิเนียมซัลเฟต เฟอริกซัลเฟตและเฟอริกคลอไรด์ในการกำจัดสีของสารเมลานอยดินสังเคราะห์ พบว่าสามารถกำจัดได้ดีที่สุดที่พีเอช 4.5, 3.5 และ 3.5 ตามลำดับ และเมื่อใช้แคลเซียมออกไซด์และแคลเซียมคลอไรด์ พบว่าสามารถกำจัดสีได้ดีที่สุดที่พีเอชสูงกว่า 13 (Migo, *et al.*, 1997)

2.4 การลดความเข้มของสีโดยใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตร่วมกับแคลเซียมออกไซด์

2.4.1 ผลของความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟต

จากการทดลองเติมโพลีเฟอริกซัลเฟตเข้มข้น 0, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 และ 80 มิลลิลิตรต่อลิตรร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ 30 กรัมต่อลิตรในน้ำทิ้ง ที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมัน (ตารางที่ 17) พบว่าพีเอชของน้ำทิ้งเพิ่มขึ้นจากพีเอช 4.54 เป็น 11.42 เมื่อเติมแคลเซียมออกไซด์เพียงอย่างเดียว และเพิ่มเป็นพีเอช 12.26 เมื่อเติมแคลเซียมออกไซด์ร่วมกับโพลีเฟอริกซัลเฟตเข้มข้น 1 และ 5 มิลลิลิตรต่อลิตร และพีเอชของน้ำทิ้งจะลดลงเมื่อใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตเข้มข้นสูงกว่า 10 มิลลิลิตรต่อลิตร และหลังจากตั้งทิ้งไว้นาน 3 ชั่วโมง พบว่าการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตเข้มข้น 50 มิลลิลิตรต่อลิตรร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ 30 กรัมต่อลิตรให้ผลในการลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งได้ดีที่สุด โดยสามารถลดความเข้มของสีได้ร้อยละ 84 ที่ระดับพีเอช 12.07 ลักษณะของสารละลายส่วนใสจะมีสีเหลืองอ่อนใส มีปริมาตรตะกอนร้อยละ 80 แต่เมื่อคำนึงถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมของโพลีเฟอริกซัลเฟตที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป พบว่าโพลีเฟอริกซัลเฟต 10 มิลลิลิตรต่อลิตรเป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดโดยสามารถลดค่าความเข้มของสีได้ร้อยละ 76 ที่พีเอช 12.24 ลักษณะของสารละลายส่วนใสมีสีเหลืองอ่อนใสมีปริมาตรตะกอนร้อยละ 70 จากการใช้ความเข้มข้นเพียง 10 มิลลิลิตรต่อลิตรทำให้สามารถลดปริมาตรโพลีเฟอริกซัลเฟตได้ 40 มิลลิลิตรต่อลิตร และตะกอนเกิดขึ้นน้อยกว่า ลักษณะของสารละลายส่วนใสเหมือนกัน ขณะที่การลดลงของค่าสีต่ำกว่าเพียงร้อยละ 8 นอกจากนี้มีการรายงานว่าการใช้โพลีเฟอริกไฮดรอกไซด์ปริมาตรร้อยละ 4 (ปริมาตรต่อ

ตารางที่ 16 ผลของพีเอชต่อการเกิดตะกอนในสารละลายส่วนใสหลังการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter หลังเติมสารเคมีตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 ชั่วโมง

พีเอช	ปริมาตรตะกอน (ร้อยละ)						
	$Ca(OH)_2$	CaO	$Al_2(SO_4)_3$	$FeSO_4$	$Fe_2(SO_4)_3$	$FeCl_3$	Chlorinated copperrous
4	10	10	0	0	0	0	0
5	10	10	0	0	0	0	0
6	17	17	0	0	0	0	0
7	17	20	0	0	0	0	0
8	23	27	0	0	0	0	0
9	30	33	0	0	0	0	0
10	40	40	0	0	0	0	0
11	63	53	0	0	0	0	0

ตารางที่ 17 ผลของการเติมโพลีเฟอริกซัลเฟตที่ใช้ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตรในสารละลายส่วนใสหลังการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter ต่อค่าพีเอช สี ความเข้มของสีที่ลดลง และปริมาตรตะกอนที่เกิดขึ้นหลังจากตั้งทิ้งเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

โพลีเฟอริกซัลเฟต (มล/ล)	พีเอช	สี	ค่าสี (หน่วย)*	ความเข้มของสีที่ลดลง (ร้อยละ)	ปริมาตรตะกอน (ร้อยละ)
0	11.42	เหลืองขุ่น	2,783	49	60
1	12.26	น้ำตาลอ่อน	4,985	9	60
5	12.26	เหลืองขุ่น	3,677	33	70
10	12.24	เหลืองใส	1,304	76	70
20	12.19	เหลืองใส	1,104	79	74
30	12.16	เหลืองใส	1,060	80	70
40	12.14	เหลืองใส	1,038	81	70
50	12.07	เหลืองใส	838	84	80
60	11.78	เหลืองใส	1,082	80	80
80	10.22	เหลืองใส	1,082	80	80

* วัดค่าสีโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรและเทียบค่าสีจากกราฟมาตรฐานของสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์
ค่าสีเริ่มต้นของสารละลายส่วนใส เท่ากับ 5,495 หน่วย
พีเอชเริ่มต้นของสารละลายส่วนใส เท่ากับ 4.54

ปริมาตร) ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ 30 กรัมต่อลิตรในการกำจัดสีน้ำทิ้งที่ผ่านกระบวนการกลั่นแอลกอฮอล์ (fresh slops) สามารถกำจัดสีได้สูงสุดร้อยละ 93 (Migo, *et al.*, 1993)

2.4.2 ผลของปริมาณแคลเซียมออกไซด์

จากการทดลองใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 10 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ ปริมาณ 0, 5, 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตรเพื่อลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งจาก decanter ที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมัน (ตารางที่ 18) พบว่าพีเอชของน้ำทิ้งเพิ่มขึ้นตามปริมาณของแคลเซียมออกไซด์ที่เพิ่มขึ้น และหลังจากตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟต 10 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ 30 กรัมต่อลิตรสามารถลดค่าความเข้มของสีได้ดีที่สุด (ร้อยละ 81) ที่พีเอช 12.26 ลักษณะของสารละลายส่วนใสมีสีเหลืองอ่อนใส มีปริมาตรตะกอนร้อยละ 80 ของปริมาตรทั้งหมด การใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตเพียงอย่างเดียวไม่สามารถลดค่าสีของน้ำทิ้งได้ แต่จะทำให้ค่าสีเพิ่มขึ้นร้อยละ 144 นอกจากนี้ค่าพีเอชของน้ำทิ้งลดลงจาก 4.54 เป็น 2.82 ทั้งนี้เนื่องจากโพลีเฟอริกซัลเฟตมีสภาพเป็นกรดสูงมาก และมีปริมาตรตะกอนเกิดขึ้นน้อยมากซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ ไสว โรจนศุภฤกษ์ (2537) ว่าในการใช้อนุมูลของเหล็กไฮดรอกไซด์ที่เกิดจากการแตกตัวของโพลีเฟอริกซัลเฟต เข้าทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซิลด์อิออนในน้ำจะเกิดเป็นตะกอนของเหล็กหลายชนิดเช่น $Fe(OH)_3$ floc เป็นต้น ในกรณีที่น้ำเสียมีสภาพเป็นกรดอนุมูลไฮดรอกซิลด์อิออนในน้ำมีไม่เพียงพอในการสร้างตะกอน ดังนั้นจึงต้องใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตควบคู่กับการเติมปูนขาวลงไป

2.4.3 ผลของการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์

การเติมโพลีเฟอริกซัลเฟตปริมาตร 0, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 และ 80 มิลลิลิตรต่อลิตรร่วมกับ แคลเซียมออกไซด์ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 30 กรัมต่อลิตร ลงในน้ำทิ้งจาก decanter ที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมัน (ตารางที่ 19) พบว่าการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตร่วมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ สามารถลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งได้สูงสุด ร้อยละ 90 เมื่อใช้ความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟต 40 มิลลิลิตรต่อลิตรที่พีเอช 12.16 ลักษณะส่วนใสมีสี

ตารางที่ 18 ผลของปริมาณแคลเซียมออกไซด์ที่ใช้ร่วมกับโพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร ต่อค่าพีเอช ค่าสี ความเข้มของสี และปริมาตรตะกอนที่เกิดขึ้นในสารละลายส่วนใสหลังการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter หลังจากตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

แคลเซียมออกไซด์ (กรัม/ลิตร)	พีเอช	สี	สี (หน่วย)*	ความเข้มของสี (ร้อยละ)	ปริมาตรตะกอน (ร้อยละ)
0	2.82	น้ำตาลเข้ม	13,450	+144	8
5	9.59	น้ำตาลเข้ม	4,985	+8.8	14
10	11.91	เหลืองขุ่น	2,413	-56	70
20	12.21	เหลืองใส	1,149	-79	70
30	12.26	เหลืองใส	1,038	-81	80

* วัดค่าสีโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรและเทียบค่าสีจากกราฟมาตรฐานของสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์
ค่าสีเริ่มต้นของสารละลายส่วนใส เท่ากับ 5,495 หน่วย
พีเอชเริ่มต้นของสารละลายส่วนใส เท่ากับ 4.54
+ ค่าความเข้มของสีเพิ่มขึ้น
- ค่าความเข้มของสีลดลง

ตารางที่ 19 ผลของความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟตที่ใช้ร่วมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 30 กรัมต่อลิตรต่อค่าพีเอช ความเข้มของสี ค่าสี และปริมาตรตะกอนในสารละลายส่วนใสหลังตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

โพลีเฟอริกซัลเฟต (มล/ล)	พีเอช	สี	ค่าสี* (หน่วย)	การลดความเข้มของสี (ร้อยละ)	ตะกอน (ร้อยละ)
0	12.35	น้ำตาลขุ่น	4,586	-52	20
1	12.34	เหลืองขุ่น	4,232	-56	30
5	12.30	เหลืองขุ่น	2,325	-76	50
10	12.28	เหลืองขุ่น	1,969	-80	50
20	12.26	เหลืองอ่อนใส	1,282	-87	70
30	12.19	เหลืองอ่อนใส	1,083	-89	70
40	12.16	เหลืองอ่อนใส	1,016	-90	70
50	12.08	เหลืองอ่อนใส	1,193	-88	50
60	11.71	เหลืองอ่อนใส	1,703	-82	50
80	10.03	น้ำตาลเข้ม	12,725	+31	50

* วัดค่าสีที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรและเทียบค่าสีจากกราฟมาตรฐานของสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์
ค่าสีเริ่มต้นของสารละลายส่วนใส เท่ากับ 9,750 หน่วย
พีเอชเริ่มต้นของสารละลายส่วนใสเท่ากับ 4.54
+ คือ ค่าความเข้มของสีเพิ่มขึ้น
- คือ ค่าความเข้มของสีลดลง

เหลืองอ่อนใส และมีตะกอนเกิดขึ้นร้อยละ 70 ส่วนการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ (ตารางที่ 20) พบว่าสามารถลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งได้สูงสุดร้อยละ 86 เมื่อใช้ความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟต 30 มิลลิลิตรต่อลิตรที่พีเอช 12.16 ลักษณะส่วนใสมีสีเหลืองอ่อนใส และมีตะกอนเกิดขึ้นร้อยละ 50 สำหรับการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตร่วมกับโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (ตารางที่ 21) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ตารางที่ 22) พบว่าไม่สามารถลดความเข้มของในน้ำทิ้งได้

จากผลการทดลองดังกล่าวพบว่าการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตร่วมกับสารเคมีที่มีแคลเซียมซึ่งมีประจุเท่ากับ 2+ เป็นองค์ประกอบสามารถตกตะกอนและลดความเข้มของสีได้ดีกว่าสารเคมีที่มีโซเดียมและโพแตสเซียมซึ่งมีประจุเท่ากับ 1+ เป็นองค์ประกอบซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Migo และคณะ (1997) ว่าสารเคมีที่มีจำนวนประจุ 2+ มีประสิทธิภาพในการตกตะกอนและลดค่าสีได้ดีกว่าสารเคมีที่มีจำนวนประจุ 1+ เท่ากับ 50-60 เท่า

2.4.4 ผลของการใช้แคลเซียมออกไซด์ปรับพีเอช

จากการทดลองใช้สารละลายแคลเซียมออกไซด์เข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ปรับพีเอชเพื่อหาปริมาณต่ำสุดของแคลเซียมออกไซด์ที่ทำให้เกิดการลดของสี โดยเติมในสารละลายส่วนใสหลังการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันตั้งแต่พีเอช 5-13 ร่วมกับโพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร (ตารางที่ 23) พบว่าที่พีเอชเริ่มต้น 13 สามารถลดความเข้มของสีได้สูงสุดร้อยละ 84.56 และลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 86.5 ได้สารละลายส่วนใสสีเหลืองใส (รูปที่ 8) ปริมาตรตะกอนเกิดขึ้นร้อยละ 50 ของปริมาตรทั้งหมด พีเอชสุดท้ายหลังเติมโพลีเฟอริกซัลเฟตเท่ากับ 12.17 ความเข้มข้นสุดท้ายของแคลเซียมออกไซด์ในสารละลายส่วนใส คือ 10 กรัมต่อลิตร ส่วนที่พีเอชเริ่มต้นต่ำกว่า 12 ค่าสีและความเข้มของสีเพิ่มขึ้นตามพีเอชของสารละลายส่วนใสที่เพิ่มขึ้น โดยสารละลายส่วนใสมีสีน้ำตาลเข้มทั้งชุดที่มีการเติมโพลีเฟอริกซัลเฟตและไม่เติมโพลีเฟอริกซัลเฟต (ชุดควบคุม) จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสซึ่งมีพีเอชเริ่มต้น 4.54 โดยใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตนั้นจำเป็นจะต้องปรับพีเอชของสารละลายส่วนใสให้ได้ 13 จึงจะให้ผลในการลดความเข้มของสีได้

ตารางที่ 20 ผลของความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟตที่ใช้ร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ 30 กรัมต่อลิตร ต่อค่าพีเอช ความเข้มของสี ค่าสี และปริมาตรตะกอนในสารละลายส่วนใสหลังตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

โพลีเฟอริกซัลเฟต (มล/ล)	พีเอช	สี	ค่าสี* (หน่วย)	การลดความเข้มของสี (ร้อยละ)	ตะกอน (ร้อยละ)
0	11.96	น้ำตาลขุ่น	6,249	-36	40
1	12.18	น้ำตาลอ่อนขุ่น	6,049	-38	20
5	12.32	น้ำตาลอ่อนขุ่น	4,431	-54	20
10	12.26	เหลืองอ่อนใส	2,081	-79	40
20	12.24	เหลืองอ่อนใส	1,548	-84	50
30	12.16	เหลืองอ่อนใส	1,393	-86	50
40	12.05	เหลืองอ่อนใส	1,438	-85	40
50	11.55	เหลืองอ่อนใส	2,081	-79	30
60	11.34	เหลืองอ่อนใส	3,123	-68	30
80	8.01	น้ำตาลเข้มขุ่น	124,807	+1,186	20

* วัดค่าสีที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรและเทียบค่าสีจากกราฟมาตรฐานของสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์
ค่าสีเริ่มต้นของสารละลายส่วนใส เท่ากับ 9,750 หน่วย
พีเอชเริ่มต้นของสารละลายส่วนใสเท่ากับ 4.54
+ คือ ค่าความเข้มของสีเพิ่มขึ้น
- คือ ค่าความเข้มของสีลดลง

ตารางที่ 21 ผลของความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟตที่ใช้ร่วมกับโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 30 กรัมต่อลิตรต่อ ค่าพีเอช ความเข้มของสี ค่าสี และปริมาตรตะกอนในสารละลายส่วนใสหลังตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

โพลีเฟอริกซัลเฟต (มล/ล)	พีเอช	สี	ค่าสี* (หน่วย)	การลดความเข้มของสี (ร้อยละ)	ตะกอน (ร้อยละ)
0	13.06	น้ำตาลเข้ม	15,153	+56	0
1	13.21	น้ำตาลเข้ม	13,379	+38	20
5	13.20	น้ำตาลเข้ม	14,798	+52	20
10	13.16	น้ำตาลเข้ม	20,475	+111	20
20	13.11	น้ำตาลเข้ม	24,377	+151	20
30	13.08	น้ำตาลเข้ม	78,218	+706	10
40	12.84	น้ำตาลเข้ม	68,284	+603	10
50	12.18	น้ำตาลเข้ม	73,339	+656	10
60	10.69	น้ำตาลเข้ม	92,055	+849	10
80	7.96	น้ำตาลเข้ม	103,586	+967	10

* วัดค่าสีที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรและเทียบค่าสีจากกราฟมาตรฐานของสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์

ค่าสีเริ่มต้นของสารละลายส่วนใส เท่ากับ 9,750 หน่วย

พีเอชเริ่มต้นของสารละลายส่วนใสเท่ากับ 4.54

+ คือ ค่าความเข้มของสีเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 22 ผลของความเข้มข้นของโพลีเฟอริกซัลเฟตที่ใช้ร่วมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ 30 กรัมต่อลิตรต่อ ค่าพีเอช ความเข้มของสี ค่าสี และปริมาตรตะกอนในสารละลายส่วนใสหลังตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

โพลีเฟอริกซัลเฟต (มล/ล)	พีเอช	สี	ค่าสี* (หน่วย)	การลดความเข้มของสี (ร้อยละ)	ตะกอน (ร้อยละ)
0	13.00	น้ำตาลเข้ม	14,443	+48	6
1	13.04	น้ำตาลเข้ม	12,580	+30	20
5	13.06	น้ำตาลเข้ม	15,507	+60	30
10	13.08	น้ำตาลเข้ม	32,360	+233	40
20	13.09	น้ำตาลเข้ม	51,608	+432	50
30	13.09	น้ำตาลเข้ม	38,835	+300	50
40	13.10	น้ำตาลเข้ม	40,609	+318	50
50	13.00	น้ำตาลเข้ม	65,889	+580	50
60	12.99	น้ำตาลเข้ม	71,743	+639	50
80	12.77	น้ำตาลเข้ม	68,816	+603	50

* วัดค่าสีที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรและเทียบค่าสีจากกราฟมาตรฐานของสารละลายเพลทตินัมโคบอลต์
ค่าสีเริ่มต้นของสารละลายส่วนใส เท่ากับ 9,750 หน่วย
พีเอชเริ่มต้นของสารละลายส่วนใสเท่ากับ 4.54
+ คือ ค่าความเข้มของสีเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 23 ผลของการใช้แคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตรปรับพีเอชในสารละลายส่วนใสหลังแยกสารแขวนลอยและน้ำมันร่วมกับการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตรต่อ พีเอช ความเข้มของสี และปริมาตรตะกอน หลังตั้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง

CaO 30 ก/ล		พีเอช		สี		ค่าสี (หน่วย)*		การลดความเข้มของสี (ร้อยละ)		ตะกอน (ร้อยละ)	
(มล)	ก/ล	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
0.25	1.4	5	4.09	น้ำตาล	น้ำตาล	9,573	11,608	-1.36	+19.60	0	0
0.53	2.8	6	4.96	น้ำตาล	น้ำตาลเข้ม	10,427	12,921	+7.4	+33.13	0	4
0.65	3.4	7	5.93	น้ำตาล	น้ำตาลเข้ม	11,411	13,709	+17.57	+41.25	0	4
0.7	3.6	8	6.76	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	12,211	14,234	+25.82	+46.66	0	4
0.78	4.0	9	7.82	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	13,118	14,443	+35.16	+48.82	0	4
0.85	4.3	10	8.72	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	13,906	15,099	+43.28	+55.57	0	14
0.9	4.5	11	9.32	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	14,443	15,416	+48.82	+58.84	0	20
0.98	4.9	11.5	9.78	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	15,482	16,992	+95.52	+75.08	0	20

(ต่อ)

CaO 30 ก/ล		พีเอช		สี		ค่าสี (หน่วย)		การลดความเข้มของสี (ร้อยละ)		ตะกอน (ร้อยละ)	
(มล)	ก/ล	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1.2	5.8	12	10.14	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	17,122	20,274	+76.42	+108.90	0	20
1.8	7.9	12.5	10.76	เหลืองขุ่น	น้ำตาลเข้ม	6,685	15,679	-31.11	+61.55	30	50
2.5	10	13	12.17	เหลืองขุ่น	เหลืองใส	4,386	1,498	-54.80	-84.56	20	50

* วัดค่าสีโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรและเทียบค่าสีจากกราฟมาตรฐานของสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์
ค่าสีเริ่มต้นของสารละลายส่วนใส เท่ากับ 9,705 หน่วย
พีเอชเริ่มต้นของสารละลายส่วนใส เท่ากับ 4.54
1 คือ สารละลายส่วนใสที่ปรับพีเอชด้วยแคลเซียมออกไซด์ในแต่ละพีเอชผสมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร
2 คือ สารละลายส่วนใสที่ปรับพีเอชด้วยแคลเซียมออกไซด์ในแต่ละพีเอชผสมโพลีเฟอริกซัลเฟต 10 มิลลิลิตรต่อลิตร
- คือ ความเข้มของสีลดลง
+ คือ ความเข้มของสีเพิ่มขึ้น

รูปที่ 8 เปรียบเทียบสีของสารละลายส่วนใสก่อนและหลังการลดความเข้มของสีด้วยโพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตรร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ 10 กรัมต่อลิตร

2.5 การลดความเข้มของสีโดยวิธีการทางกายภาพ

2.5.1 การดูดซับโดยใช้ Activated carbon

การลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งจาก decanter ที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันโดยอาศัยการดูดซับของ activated carbon ที่บรรจุในคอลัมน์ (ตารางที่ 24) พบว่าการใช้ activated carbon สามารถลดค่าสีได้เล็กน้อยคือร้อยละ 10.5 ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารแขวนลอยและน้ำมันที่ยังหลงเหลืออยู่ในน้ำทิ้งไปอุดตันรูพรุนของ activated carbon ทำให้ความสามารถในการดูดซับลดลงโดยเฉพาะเมื่อเวลานานขึ้น หรืออาจเป็นเพราะสารแขวนลอยในน้ำทิ้งมีโมเลกุลใหญ่กว่าขนาดรูพรุนของ activated carbon ทำให้การดูดซับต่ำลง (มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์, 2526)

2.5.2 การดูดซับด้วยเนื้อเมล็ดยางพารา

การใช้เนื้อเมล็ดยางพาราเป็นตัวดูดซับสีของน้ำทิ้งเป็นแนวทางหนึ่งที่มีความเป็นไปได้ที่สามารถลดความเข้มของสีในน้ำทิ้งจาก decanter (ตารางที่ 24) หลังจากเติมเนื้อเมล็ดยางพาราลงในน้ำทิ้งที่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมัน (จากข้อ 1) ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง และ 40 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง พบว่า สามารถลดค่าสีได้ร้อยละ 57 และ 54 ตามลำดับ (รูปที่ 9) การที่เมล็ดยางพาราสามารถลดค่าสีได้เนื่องจากเมล็ดยางพาราดูดซับสีในน้ำทิ้งบางส่วนเข้าไปโดยสังเกตจากการบ่ม 12 ชั่วโมงเนื้อเมล็ดยางพาราจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (เติมเนื้อเมล็ดยางพาราในน้ำกลั่น) ซึ่งสียังคงเป็นสีขาว (คงเดิม)

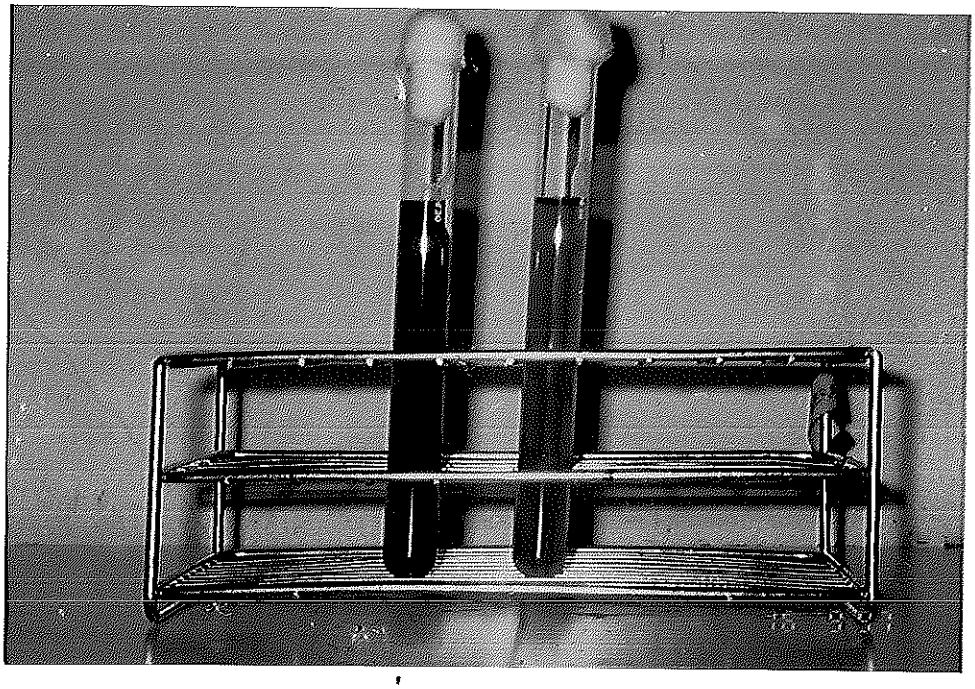
2.5.3 การใช้ถังกรอง

การใช้ถังกรองโดยการบรรจุวัสดุต่างๆ ได้แก่ทรายละเอียด ทรายหยาบ activated carbon และสำลี เป็นชั้นๆ ในภาชนะทรงสูง (ตารางที่ 24) พบว่าน้ำทิ้งที่ผ่านการกรองมีค่าสีลดลงร้อยละ 32 ซึ่งค่าสีที่ลดลงอาจเนื่องจากการดูดซับ และการกรองเอาตะกอนและสีของน้ำทิ้งโดยวัสดุต่างๆ ทำให้ค่าสีของน้ำทิ้งลดลง แต่เมื่อเวลาผ่านไปสารแขวนลอยและน้ำมันอาจไปอุดตันระหว่างอนุภาคของวัสดุต่างๆ โดยเฉพาะ activated carbon เริ่มมีการสะสมของตะกอน (อวยพร บัวใบ, 2531) ทำให้อัตราการดูดซับลดน้อยลง

ตารางที่ 24 การลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสหลังแยกสารแขวนลอยและน้ำมันออกจากน้ำทิ้งจาก decanter โดยวิธีการทางกายภาพ

วิธีการ	ค่าสี*		% การกำจัดสี
	ก่อน	หลัง	
activated carbon	5,495	4,918	10.5
เมล็ดยางพารา			
- 40°ซ	5,673	2,604	54
- อุณหภูมิห้อง	5,673	2,429	57
ถังกรองทราย	5,495	3,690	32

* วัดค่าสีโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรและเทียบค่าสีจากกราฟมาตรฐานสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์



ก่อน หลัง

รูปที่ 9 เปรียบเทียบสีของสารละลายส่วนใสก่อนและหลังการดูดซับด้วยเนื้อเมล็ดยางพารา

บทที่ 4

สรุป

1. ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันในน้ำทิ้งจาก decanter ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

1.1 ปริมาณน้ำมันต่ำสุดในน้ำทิ้งจาก decanter ที่ทำให้สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาและสารละลายส่วนใสหลังจากเติมสารละลายเอนไซม์ คือ 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

1.2 แอคทิวิตี้ต่ำสุดของเอนไซม์จาก *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่ทำให้สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาและสารละลายส่วนใสมีค่าแอคทิวิตี้ของไซลาเนสเท่ากับ 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตร หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

1.3 ระดับอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมที่ทำให้สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาและสารละลายส่วนใสคือ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลาในการบ่ม 1 ชั่วโมง

1.4 พีเอชที่เหมาะสมที่ทำให้สารละลายผสมเกิดการแยกชั้นเป็นตะกอนเบาและสารละลายส่วนใสคือ พีเอช 4.5 สามารถลดค่าซีโอดี น้ำมันและกรีสได้ร้อยละ 35 และ 95 ตามลำดับ

2. การลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสหลังจากการแยกสารแขวนลอยและน้ำมัน

การลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสด้วยวิธีการทางชีวภาพโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า (เปอร์ออกซิเดส) และจุลินทรีย์ (*Phanerochaete chrysosporium* และ *Coriolus versicolor*) พบว่าไม่สามารถลดความเข้มของสีได้ ส่วนการลดความเข้มของสีด้วยวิธีการทางเคมี โดยใช้ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมออกไซด์ อลูมิเนียมซัลเฟต เฟอรัสซัลเฟต เฟอริกซัลเฟต เฟอริกคลอไรด์ และคลอรีเนตเตด คอปเปอรัส พบว่าไม่สามารถลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสได้เช่นกัน ขณะที่การใช้โพลีเฟอริกซัล

เฟตความเข้มข้น 30 มิลลิลิตรต่อลิตรร่วมกับแคลเซียมออกไซด์ 30 กรัมต่อลิตรสามารถลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสได้สูงสุดร้อยละ 86 ได้สารละลายส่วนใสสีเหลืองอ่อน ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 86.78 ขณะที่การใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น 40 มิลลิลิตรต่อลิตรร่วมกับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 30 กรัมต่อลิตรสามารถลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสได้สูงสุดร้อยละ 90 ได้สารละลายส่วนใสสีเหลืองอ่อน ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 87.79 และสามารถกำจัดน้ำมันออกจากน้ำทิ้งได้ร้อยละ 100 และจากการใช้สารละลายแคลเซียมออกไซด์ความเข้มข้น30 กรัมต่อลิตรในการปรับพีเอชสารละลายส่วนใสร่วมกับการใช้โพลีเฟอริกซัลเฟตความเข้มข้น10 มิลลิลิตรต่อลิตร พบว่าความเข้มของสีลดลงสูงสุดร้อยละ 84.56 ที่พีเอช 13 โดยมีความเข้มข้นของแคลเซียมออกไซด์สุดท้ายเท่ากับ 10 กรัมต่อลิตร และสามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 86.5 ส่วนการลดความเข้มของสีด้วยวิธีการทางกายภาพ โดยการดูดซับด้วย activated carbon และการกรองโดยใช้ถังกรองสามารถลดค่าสีในสารละลายส่วนใสได้เล็กน้อย คือร้อยละ 10.5 และ 32 ตามลำดับ ส่วนการใช้เนื้อเมล็ดยางพาราในการดูดซับสีสามารถลดความเข้มของสีในสารละลายส่วนใสได้สูงสุดร้อยละ 57

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาการแยกน้ำมันออกจากตะกอนเบาที่แยกได้และการนำน้ำมันไปใช้ประโยชน์
2. ควรศึกษาการเลี้ยงเชื้อ *Phanerochaete chrysosporium* และ *Coriolus versicolor* ในน้ำทิ้งจาก decanter ที่ไม่ผ่านการแยกสารแขวนลอยและน้ำมัน โดยเจือจางความเข้มข้นของน้ำทิ้งให้เหมาะสม
3. ควรเจือจางสารละลายส่วนใสที่ได้หลังการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องจากค่าซีโอดีในสารละลายส่วนใสมีปริมาณสูงอาจไปขัดขวางการเจริญของจุลินทรีย์ได้
4. ควรปรับพีเอชของสารละลายส่วนใสหลังการลดความเข้มของสีให้อยู่ในช่วง 5-9 ตามค่าที่กำหนดในมาตรฐานน้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรม
5. ควรศึกษาการลดความเข้มของสีโดยการดูดซับด้วยเมล็ดยางพาราที่นำมาบดเป็นผงซึ่งจะทำให้เพิ่มพื้นที่ในการดูดซับดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ สิริสิงห. 2522. เคมีของน้ำ น้ำโสโครกและการวิเคราะห์. คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัมหิดล.

กรองกาญจน์ ภูระรัตน์. 2530. การศึกษาประสิทธิภาพของการกำจัดพาราควอทโดยวิธีการตกตะกอนด้วยสารเคมีและดูดซับด้วยถ่าน. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมโยธา มหาวิทยาลัยเกษตรศาตร์.

จารุวรรณ มณีศรี. 2538. การผลิตและประยุกต์ใช้ไซลาเนสและเซลลูเลสจากกากปาล์มและกากสลัดจ์โดยเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณเฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ณรงค์ วุทธเสถียร. 2526. การปรับสภาพน้ำในอุตสาหกรรมและหม้อไอน้ำ. สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย-ญี่ปุ่น). กรุงเทพมหานคร.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และอุษา วิเศษสุมน. 2535. คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2 . วิศวกรสิ่งแวดล้อมไทย. กรุงเทพมหานคร.

นวลละออ เนียมสอิ้ง. 2526. การกำจัดสารอินทรีย์และสีพร้อมกันโดยใช้ระบบพีเอซี - แอคติเวตเทดสลัดจ์. วิทยานิพนธ์วิศกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสุขาภิบาลบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เบญจวรรณ ชิตมณี. 2534. การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในน้ำทิ้งของโรงงานน้ำมันปาล์มโดยเชื้อราที่แยกได้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปรีชา มุณีศรี. 2539. การบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้จุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล และอรัญ หันพงศ์กิตติกูล. 2533. กระบวนการผลิตการใช้ประโยชน์วัสดุเศษเหลือทิ้ง และคุณลักษณะของน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์ม. ว. สงขลานครินทร์ 12(2) : 169-176.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศน์. 2526. วิศวกรรมการประปา เล่ม 1. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร.

วิไลพร วณิชย์โรดม. 2536. การบำบัดสีของน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมประเภทสิ่งทอโดยกระบวนการดูดซับด้วยแอคติเวตเทดคาร์บอน. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมโยธา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สมรักษ์ พันธ์ผล. 2537. การทำให้บริสุทธิ์และคุณสมบัติของเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนสจาก *Aspergillus niger* ATCC 6275. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สันทัด ศิริอนันต์ไพบูลย์. 2531. ปัญหาของสีจากน้ำทิ้งโรงงานสุรา. จุลสารสภาวะแวดล้อม. 7(2) : 4-10.

ไสว โรจนะศุภฤกษ์. 2537. รายงานผลการทดสอบสารสร้างตะกอน Poly floc (โพลีเฟอริกซัลเฟต). บริษัท คอวินอินดัสทรี่ จำกัด กรุงเทพมหานคร.

อรัญ หันพงศ์กิตติกูล, พูนสุข ประเสริฐสรรพ์, กัลยา ศรีสุวรรณ, เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล และวีรศักดิ์ ทองลิมป์. 2537. การศึกษาการแยกน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม : เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาการลดการสูญเสียน้ำมันในอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม วันที่ 7 เมษายน 2537 ณ ห้องเทพธานี โรงแรมสยามธานี สุราษฎร์ธานี.จัดโดย มหามหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อารี กังแฮ. 2536. การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนสจากวัสดุเศษเหลือจากโรงงานน้ำมันปาล์ม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อวยพร บัวใบ. 2531. การศึกษาประสิทธิภาพของถังกรองที่ใช้ทรายและถ่านกะลามะพร้าว.วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมโยธา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Alberti, N.B. and Klibanov, M.A. 1981. Enzymatic removal of dissolved aromatics fromindustrial aqueous effluents. Biotechnol. Bioeng. 11 : 373-379.

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

APHA, AWWA and WPCF. 1985. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater. 16th ed. American Public Health Association Washington, D.C.

Chao, W.L. and Lee, S.L. 1994. Decolorization of azo dyes by three white rot fungi : influence of carbon source. World J. Biotechnol. 10 (5) : 556-559.

Cheah, S.C., Ma, N.N., Ooi, L.C.L. and Ong, A.S.H. 1988. Biotechnological application for the utilization of wastes from palm oil mills. Fat Sci. Technol. 536-540.

Chooi, C.F. 1985. Ponding system for palm oil mill effluent treatment. *In* Proceeding of Workshop on Review of Palm Oil Mill Effluent Technology. Boustead Estates Agency Sdn. Bhd., 53-61.

Del Rosario, E., Matumura, M. and Kataoka, H. 1991. Decolorization of molasses malanoidin in alcohol distillery effluent using inorganic flocculants. Report of IC Biotech. 14 : 393-399.

Forster, C.F. 1992. Oil, fats and greases in waste-water treatment. J. Chem. Technol. Biotechnol. 55 : 402-404.

Hamdi, M. and Garcia, J.L. 1993. Anaerobic digestion of olive mill waste-water by prior culture of *Aspergillus niger*. Process Biochem. 28 (1) : 155-159.

Hamdi, M., Khadir, A. and Garcia, J. L. 1991. The use of *Aspergillus niger* for the bioconvention of olive mill waste-waters. Appl. Microbiol. Biotechnol. 34 : 828-831.

Hartley, C.W.S. 1977. Oil Palm Selection and Breeding *In* The Oil Palm. Longman. Inc., New York. pp 195-310.

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.

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

Klibanov, M.A., Alberti, B.N., Morris, E.D. and Felshin, L. M. 1980. Enzymatic removal of toxic phenol and anilines from waste water. J. Appl. Biochem. 2 : 414-421.

Klibanov, M.A., Tu, T.M. and Scott, P.K. 1983. Peroxidase-catalyzed removal of phenols from coal-conversion waste-water. Science. 211 : 259-260.

Kumar, V., Wati, L., Banat, I.M., Yadav, B.S., Singh, D. and Marchant, R. 1998. Decolorization and biodegradation of anaerobically digested sugarcane molasses spent wash effluent from biomethanation plants by white - rot fungi. Process Biochem. 33 (1) : 83-88.

Mandels, W.L. and Weber, J. 1969. The production of cellulase. *In* Cellulase and Their Applications. (ed. R.E.Gould) Adv. Chem. Ser. 95. pp. 391-398. Washington, D.C. : American Chemistry Society.

Migo, V.P., Matsumura, M., Rosario, E.J.D. and Kataoka, H. 1993. Decolorization of mollasses wastewater using an inorganic flocculant. J. Ferment. Bioeng. 75(6) : 438-442.

Migo, V.P., Rosario, E.J.D. and Matsumura, M. 1997. Flocculation of melanoidins induced by inorganic ions. J. Ferment. Bioeng. 83(3) : 287-291.

Nelson, N. 1944. A photometric adaptaion of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Bio. Chem. 153 : 375-380.

Nishizawa, Y., NaKabayashi, K. and Shinagawa, E. 1995. Purification and characterization of laccase from white rot fungus *Trametes sanguinea* M 85-2. J. Ferment. Bioeng. 80 (1) : 91-93.

Ohmomo, S., Kaneko, Y., Sirianuntapiboom, S., Somchai, P. and Atthasampunna, P. 1987. Decolorization of molasses waste water by a thermophlic strain, *Aspergillus fumigatus* G-2-6. Agric. Biol. Chem. 51 (12) : 3339-3346.

Ohmomo, S., Sirianuntapiboom, S. and Kataoka, H. 1985. Screening of fungi having the ability to decolorize molasse melanoidin in tropical zone. Report of IC Biotect. 8 : 371-372.

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) : 424-429.

Prasertsan, P., H-Kittikul, A., Kunghae, A., Maneesri and Oi, S. 1997. Optimization for xylanase and cellulase production from *Aspergillus niger* ATCC 6275 in palm oil mill wastes and its application. World J. Microbiol. Biotechnol. 13 : 555-559.

Roy-Arcand, L and Archibald, F.S.1991. Direct dechlorination of chlorophenolic compound by laccase from Trametes *Coriolus versicolor*. Enzyme Microbiol. Technol. 13: 194-203.

Salunkhe, D.K. and Desai, B.B. 1986. Oil Palm *In* Post Harvest Biotechnology of Oil Seed. CRC. Press., Inc. Florida. pp 147-158.

Sayadi, S. and Ellouz, R. 1992. Decolorization of olive mill waste-water by white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* : involvement of the lignin degradation system. Appl. Microbiol. Biotechnol. 37(6) : 813-817.

Shannon, M.L., Kay, E. and Lew, Y.J. 1966. Peroxidase isozymes from horseradish roots. J. Biol. Chem. 241(9) : 2166-2172.

Sigma Chemical company. 1994. Sigma quality control test procedure enzymatic assay of laccase. Post office box 14506 Saint Louis Missouri USA. pp 1-2.

Sirianuntapiboon, S., Ohmomo, S. and Hayashida, S. 1985. Study of enzymatic decolorization of melanoidin pigments by fungi. Report of IC Biotech. 8 : 291-293.

Srinivasan, C., D'Souza, T.M., Boominathan, K. and Reddy, C.A. 1995. Demonstration laccase in the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium* BKB-F1767. Appl. Environ. Microbiol. 61(12) : 4274-4277.

Tan, L.U.L., Yu, E.K.C., Louis-Seize, G.W. and Saddler, J.N. 1987. Inexpensive rapid procedure for bulk purification of cellulase - free beta, 1-4, D-xylanase for high specific activity. Biotechnol. Bioeng. 30 : 96-100.

Terasawa, N., Murata, M. and Homma, S. 1994. Isolation of a fungus to decolorize coffee. Biosci. Biotech. Biochem. 58 (11) : 2093-2095.

Viessman, W. and Hammer, M.J. 1985. Chemical treatment processes *In* Water Supply and Pollution Control. Harper & Row Publisher, New York. pp 351-425.

Yesilada, O., Sik, S. and Sam, M. 1998. Biodrgration of olive oil mill waste - water by *Coriolus versicolor* and *Funalia trogii* : effects of agitation, initial COD concentration, inoculum size and immobilization. World J. Microbiol. Biotechnol. 14 : 37-42.

ภาคผนวก

วิธีการวิเคราะห์

1. การวัดค่าสี (ธงชัย พรรณสวัสดิ์ และ อุษา วิเศษสุมน, 2535)

การวัดค่าสีของน้ำในปัจจุบันมีหลายวิธี เช่น วัดหน่วยโลวิบอนด์ หรือหน่วยเอดีเอ็มไอ (ADMI) แต่วิธีดังกล่าวใช้เครื่องมือซับซ้อนและมีราคาแพงรวมทั้งการวิเคราะห์ผลก็ทำได้ยาก ดังนั้นในการทดลองนี้จึงใช้วิธีการวัดซึ่งใช้ได้ง่าย และสะดวก รวดเร็วกว่า คือวิธีเปรียบเทียบแพลทตินัมโคบอลต์มาตรฐาน (Platinum Cobalt Standard)

เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
- เซลล์สำหรับบรรจุตัวอย่างที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสง

สารเคมี

สารละลายมาตรฐานคลอโรแพลทติเนท

การเตรียม

ละลายโพแทสเซียมคลอโรแพลทติเนท 0.1246 กรัม และผลึกโคบอลตัสคลอไรด์ 0.1 กรัมในน้ำกลั่นที่มีกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นอยู่ 10 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตรจะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นของสีเท่ากับ 500 หน่วยสี (Color unit) จากสารละลายมาตรฐานนี้นำมาเตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้นของสีตั้งแต่ 0-500 หน่วยสีได้ตามตารางภาคผนวกที่ 1

ตารางภาคผนวกที่ 1 การเตรียมสารละลายสีมาตรฐานความเข้มข้น 0-500 หน่วยสี

ความเข้มข้นของสารละลายสีมาตรฐาน (color units)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐาน 500 หน่วยสี (มิลลิลิตร)
0	-
10	0.5
20	1.0
30	1.5
40	2.0
50	2.5
100	5.0
150	7.5
200	10.0
250	12.5
300	15.0
350	17.5
400	20.0
450	22.5
500	25.0

จากตารางภาคผนวกที่ 1 เตรียมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน (500 หน่วยสี) ตามปริมาตรที่กำหนดของแต่ละความเข้มข้นแล้วนำมาเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 25 มิลลิลิตร ก็จะได้สารละลายสีมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน หลังจากนั้นนำสารละลายสีมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance : ABS) ที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร ก็จะได้กราฟมาตร

ฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี (Color unit) กับค่าการดูดกลืนแสง แสดงดังรูปภาคผนวกที่ 1 ซึ่งใช้ประโยชน์ในการวัดค่าสีของตัวอย่างได้

การวัดสีของตัวอย่าง

นำตัวอย่างน้ำมาแยกโดยใช้เครื่องแยกเหวี่ยง (Centrifugetor) ที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาทีเพื่อให้ของแข็งที่แขวนลอยตกตะกอนจนหมด ได้น้ำใส นำน้ำใสนั้นใส่ในเซลล์วัดการดูดกลืนแสง และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตรโดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank กรณีที่สีของน้ำมีความเข้มข้นมากจะต้องทำการเจือจางตัวอย่างน้ำก่อนด้วยน้ำกลั่น ก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงจากค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้เมื่อนำมาเทียบกับกราฟมาตรฐานก็จะทราบค่าสีของตัวอย่างได้

การคำนวณค่าสี

หน่วยสี (Color units) เท่ากับ C x D

เมื่อ C คือ ค่าสีที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน (Color units)

D คือ อัตราการเจือจางตัวอย่าง (dilution rate)

การคำนวณเปอร์เซ็นการลดลงหรือเพิ่มขึ้นของความเข้มของตัวอย่างน้ำ

เนื่องจากการใช้วิธีการที่ต่างกันในการกำจัดสีจะมีผลทำให้ความเข้มของสีของน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์มลดลงหรือเพิ่มขึ้นแตกต่างกันซึ่งหมายถึงประสิทธิภาพของวิธีการนั้นๆ ในการกำจัดสีดังนั้นเพื่อหาวิธีที่เหมาะสมที่สุด จึงต้องพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์ความเข้มสีที่เปลี่ยนแปลงของน้ำทิ้งหลังการปฏิบัติด้วยวิธีต่างๆ แล้ว

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความเข้มสีที่เปลี่ยนแปลง} = \frac{\left((C_F \times D_F) - (C_1 \times D_1) \right) \times 100}{C_1 \times D_1} = A$$

เมื่อ C_1 = ค่าสีของตัวอย่างน้ำเริ่มต้นที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน

C_F = ค่าสีของตัวอย่างน้ำหลังผ่านการกำจัดสีแล้วที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน

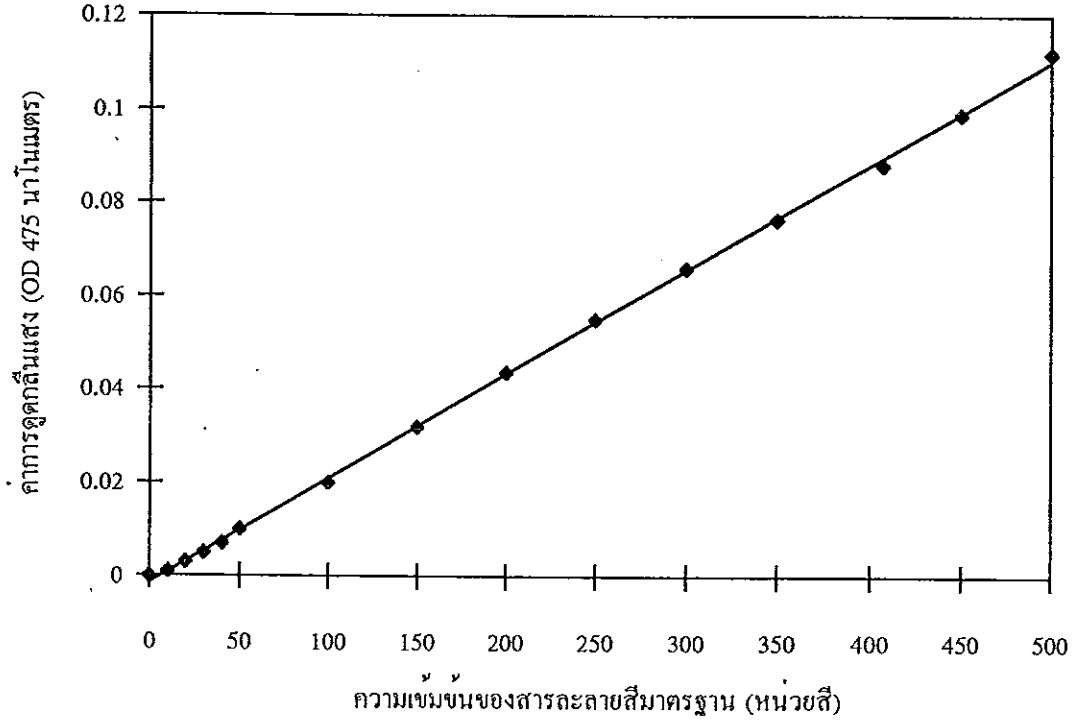
D_1 = อัตราการเจือจางตัวอย่างน้ำเริ่มต้น

D_F = อัตราการเจือจางตัวอย่างน้ำที่ผ่านการกำจัดสีแล้ว

การแปลความหมายจากค่าที่ได้

เปอร์เซ็นต์ความเข้มสีที่เปลี่ยนแปลงมีค่า

+A หมายถึง น้ำที่ผ่านการกำจัดสีแล้วมีสีเข้มขึ้นกว่าเดิม A%



รูปภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายแพลทตินัมโคบอลต์

-A หมายถึง น้ำที่ผ่านการกำจัดสีแล้วมีสีอ่อนกว่าเดิม A%

0 หมายถึง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของความเข้มสี

ดังนั้นประสิทธิภาพการกำจัดสีจะดีที่สุดเมื่อ -A มีค่าต่ำๆ (โดยที่ A มีค่าสูง ช่วง 0 ถึง 100) และประสิทธิภาพการกำจัดต่ำสุดเมื่อ +A มีค่าสูงมากๆ (โดยที่ A > 0)

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

อุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้องสำหรับระเหย
2. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส
3. อ่างไอน้ำ
4. โถดูดความชื้น
5. เครื่องชั่งน้ำ

วิธีการ

1. นำถ้วยระเหยล้างให้สะอาด อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ตวงตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร หรือน้อยกว่า ใส่ลงในถ้วยระเหยที่ทราบน้ำหนักแน่นอน
3. นำไประเหยให้แห้งในอ่างไอน้ำ
4. อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 45 นาที
6. ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{ของแข็งทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักของแข็ง(มิลลิกรัม)} \times 1{,}000}{\text{มิลลิลิตรตัวอย่าง}}$$

3.ของแข็งแขวนลอย (Suspended solids) (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

อุปกรณ์

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

วิธีการ

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

การคำนวณ

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

4. ปริมาณมวลชีวภาพ (A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1. ภาชนะจานแก้ว (plate)
2. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส
3. โถดูดความชื้น (desicator)
4. เครื่องชั่งชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. ตวงตัวอย่างประมาณ 30 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดสำหรับหมุนเหวี่ยง
2. นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 15 นาที
3. แยกเอาส่วนใสออก แล้วทำการล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น นำไปหมุนเหวี่ยงที่สภาวะเดียวกับข้อ 2
4. นำตะกอนเซลล์ที่ได้มาใส่ภาชนะจานแก้วที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียสจนแห้งหรือประมาณ 5-6 ชั่วโมง
5. นำออกจากตู้อบ ใส่ในโถดูดความชื้นตั้งทิ้งให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องแล้วชั่ง

การคำนวณ

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

5.ปริมาณน้ำมันและกรีส (Oil &Grease) (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

อุปกรณ์

1. เครื่องมือที่ใช้สำหรับสกัด (Soxhlet)
2. เครื่องดูดสูญญากาศ
3. Buchner funnel
4. ขวดสกัด ขนาด 250 มิลลิลิตร
5. เครื่องชั่งอย่างละเอียด
6. โถดูดความชื้น
7. ตู้อบ

สารเคมี

1. ปิโตรเลียม อีเทอร์ (petroleum ether)
2. กระดาษกรอง
3. Diatomaceous - silica filter suspension (10 กรัมต่อลิตรของน้ำกลั่น)
4. ผ้าขาวบาง

วิธีการ

1.วางกระดาษกรองใน Buchner funnel แล้วเทสารละลาย filter aid ที่เตรียมไว้ 100 มิลลิลิตร ใช้เครื่องดูดอากาศดูด ล้างด้วยน้ำกลั่นประมาณ 10 มิลลิลิตร จนกระทั่งแห้ง
2. กรองตัวอย่างที่เตรียมไว้ และดูดให้แห้ง
3. ใช้ปากคีบหยิบกระดาษกรองออกมา ม้วนกระดาษกรองเข้าด้วยกัน แล้วห่อด้วยผ้าขาวบาง นำไปอบให้แห้งที่ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
4. ใส่ลงในซอคเลต
5. เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดสกัดไขมัน 150 มลลิลิตร แล้ววางบนเตา
6. ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัด พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน
7.ใช้เวลาในการสกัด 4 ชั่วโมง เมื่อครบแล้ว กลั่นเก็บสารละลายจนเหลือสารละลายในขวดกลมเพียงเล็กน้อย นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลต
8.นำขวดสกัดนั้นไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส จนแห้งใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
9. ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของกรีสหรือน้ำมัน (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารที่สกัดได้ (มิลลิกรัม)} \times 1000}{\text{มิลลิลิตรของตัวอย่าง}}$$

6. ซีโอดี (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

อุปกรณ์

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

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.025 นอร์มอล ละลายโพโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) ซึ่งอบแห้งที่ 103 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จำนวน 12.259 กรัมในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟามิก (NH_2SO_3H) 0.12 กรัมแล้วเจือจางจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร
2. Sulfuric acid reagent ละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 22 กรัม ในกรดซัลฟูริกเข้มข้นบรรจุขวดขนาด 1 ปอนด์ (2.65 ลิตร) เนื่องจากซิลเวอร์ซัลเฟตละลายยากมากอาจใช้เวลา 1-2 วันจึงละลายหมด
3. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 0.10 นอร์มอล

   3.1 การเตรียมสารละลาย

   ละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ จำนวน 39 กรัมในน้ำกลั่นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตรทำให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

   3.2 การหาความเข้มข้นของสารละลาย

   ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (0.025 นอร์มอล) จำนวน 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติม sulfuric acid reagent 30 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น ไทเทรตด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต เติมเฟอร์โรอิน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์

ความเข้มข้น (นอร์มอล) = $\frac{\text{ปริมาณสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (มล.) x 0.25}}{\text{ปริมาณสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (ม ล.)}}$

4. สารละลายเฟอร์โรอิน

ละลาย 1-10 ฟีแนนโทรลีนโมโนเดรต ($C_{12}H_6N_2 . H_2O$) จำนวน 1,485 กรัม และเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4 . 7H_2O$) จำนวน 0.695 กรัม เติมน้ำจนปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

5. ซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) ชนิดผง

6. เมอร์คิวรี่ซัลเฟต ($HgSO_4$) ชนิดผลึกบริสุทธิ์หรือเป็นผงใช้เป็นตัวกำจัดอนุภาคคลอไรด์ (Cl^-) ในอัตราส่วน $HgSO_4$ ต่อ Cl^- = 10:1

7. กรดซัลฟามิก (Sulfamic acid) ใช้ในกรณีที่กำจัดไนไตรด์เท่านั้น

วิธีการ

1. เติมเมอร์คิวรี่ซัลเฟต 0.4 กรัมลงในขวดกลม
2. เติมตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร หรือส่วนของตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 20 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร และลูกแก้ว (glass bead) 3-5 เม็ด
4. ค่อยๆ เติม Sulfuric acid reagent 30 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเพื่อละลายเมอร์คิวรี่ซัลเฟตควรทำให้เย็นขณะเขย่าเพื่อหลีกเลี่ยงการสูญเสียของสารที่เป็นไอในตัวอย่าง (อาจแช่ในอ่างน้ำ)
5. กลั่นด้วยอุปกรณ์กลั่นไหลกลับประมาณ 2 ชั่วโมงปล่อยให้เย็น
6. ไทเทรตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่เกินพอด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ใช้เฟอร์โรอินเป็นอินดิเคเตอร์เมื่อถึงจุดยุติสีจะเปลี่ยนจากสีเขียวปนน้ำเงินไปเป็นสีน้ำตาลปนแดง
7. ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร แทนตัวอย่างน้ำทำเช่นเดียวกับตัวอย่าง (ข้อ 1-6)

การคำนวณ

$$\text{ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{(A-B) \times N \times 8 \times 1,000}{\text{ปริมาณตัวอย่าง(มล.)}}$$

A คือ ปริมาณสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรต blank

B คือ ปริมาณสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (นอร์มอล)

7. การวิเคราะห์หาน้ำตาลรีดิวส์ ตามวิธีการ Nelson-Somogyi (Nelson, 1944)

สารเคมี

1. การเตรียม Low-alkalinity of Somogyi (สารละลาย A) การเตรียมสารละลายนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ

1.1 ละลายโปแตสเซียม โซเดียมตาร์เตรท 12 กรัม และโซเดียมคาร์บอเนต 24 กรัม ในน้ำกลั่นต้มปริมาตร 250 มิลลิลิตร เติม $CuSO_4 . 5H_2O$ 4 กรัมซึ่งละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร กวนให้สารละลายผสมกันจากนั้นเติม $NaHCO_3$ 16 กรัม

1.2 ละลาย anhydrous Na_2SO_4 180 กรัมในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือดทิ้งไว้ให้เย็น

นำสารละลายในข้อ 1.2 เติมลงในสารละลายข้อ 1.1 แล้วเติมน้ำกลั่นต้มให้ครบ 1 ลิตร เก็บในขวดสีชาสารละลายนี้ต้องเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนนำไปใช้

2. การเตรียม Arsenomolybate reagent of Nelson (สารละลาย B) การเตรียมสารลารละลายนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ

2.1 ละลาย ammonium molybdate 25 กรัมในน้ำกลั่นปริมาตร 450 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 21 มิลลิลิตร

2.2 ละลาย $Na_2HAs_4.7H_2O$ 3 กรัมในน้ำกลั่นปริมาตร 25 มิลลิลิตร

นำสารละลายในข้อ 2.2 เติมในสารละลายข้อ 2.1 เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร เก็บในขวดสีชาสารละลายนี้ต้องเก็บอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนใช้

3. การเตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคสและไซโลสมาตรฐาน

ชั่งน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลไซโลสด้วยเครื่องชั่งอย่างละเอียดให้ได้ปริมาณ 0.75 กรัมใส่ใน volumetric flask เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร เขย่าจนละลายดีแล้วดูดมา 2 มิลลิลิตรใส่ใน volumetric flask เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร จาก stock solution นี้นำมาเจือจางให้ได้สารละลายมาตรฐานที่มีน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลไซโลส ความเข้มข้น 15-150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีการ

1. ใช้สารละลายน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลไซโลสความเข้มข้น15-150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. ใส่สารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรในหลอดทดสอบ
3. เติมสารละลาย somogyi ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด นาน 10 นาที แล้วทำให้เย็นทันที
4. เติมสารละลาย Nelson ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 15 นาที
5. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 101 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร เขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาล
6. สำหรับตัวอย่างที่จะหาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ก็วิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2-5 ถ้าตัวอย่างมีปริมาณน้ำตาลอยู่สูงต้องเจือจางให้อยู่ในช่วงที่วิเคราะห์ได้และหาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

การคำนวณหาค่าเอคทิวิตี้ไซลาเนส

ให้ค่าปริมาณน้ำตาลไซโลสโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน = X

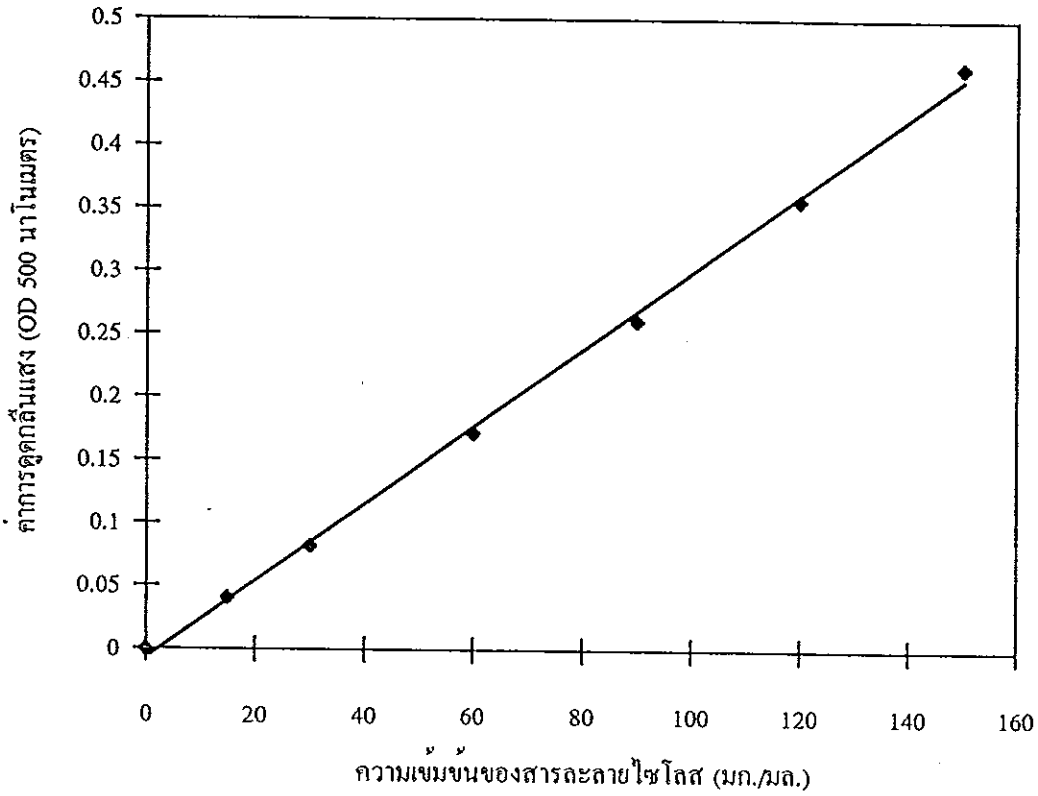
จำนวนเท่าของการเจือจางสารละลายเอนไซม์ = Y

$$\text{ยูนิต/มิลลิลิตร} = \frac{\text{มิลลิกรัมของไซโลส} \times 1{,}000 \times \text{จำนวนเท่าของการเจือจางสารละลายเอนไซม์}}{\text{น้ำหนักโมเลกุลไซโลส} \times \text{ระยะเวลาการบ่ม} \times \text{ปริมาตรสารละลายเอนไซม์}}$$

(กรัม/โมล) . (นาที) (มิลลิลิตร)

$$= \frac{\text{มิลลิกรัมของไซโลส} \times 1{,}000 \times \text{จำนวนเท่าของการเจือจางสารละลายเอนไซม์}}{150.13 \times 10 \times 0.5}$$

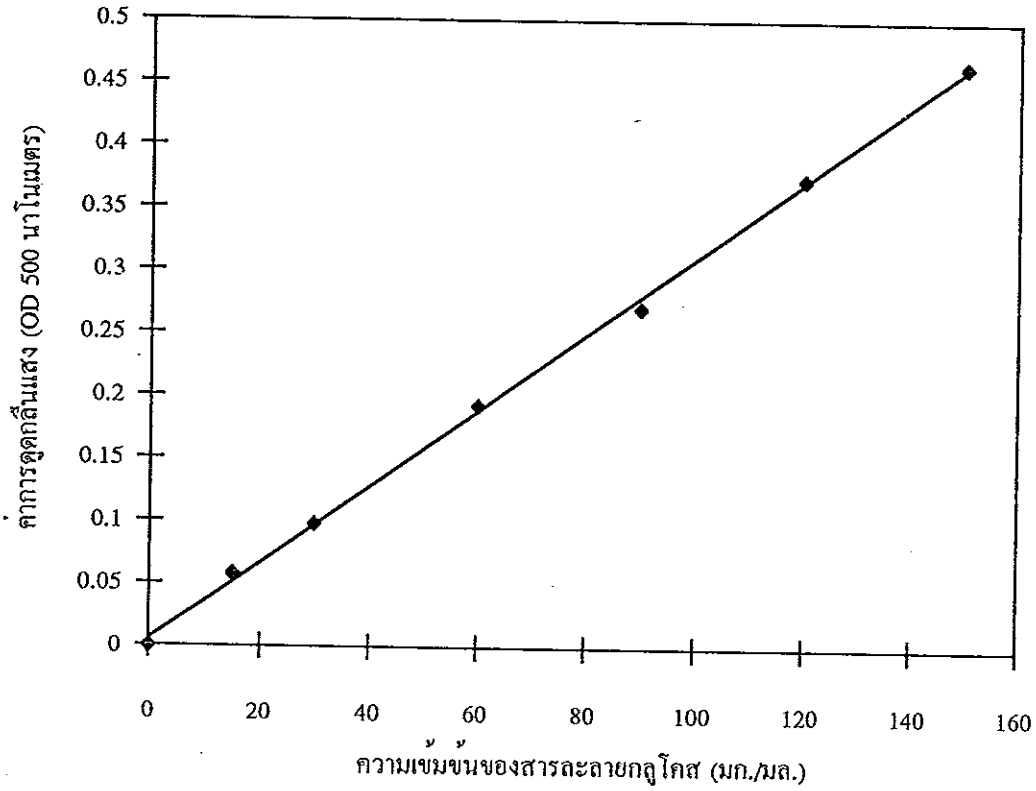
$$= 1.332XY = Z$$



รูปภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานไซโลส
วิเคราะห์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson

การคำนวณหาค่าแอคทิวิตี้ของ CMCase

เช่นเดียวกับการคำนวณแอคทิวิตี้ของไซลาเนส แต่ใช้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เทียบจากกราฟมาตรฐานแทน



รูปภาคผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกลูโคส
วิเคราะห์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวโสภา จันทภาโส

วัน เดือน ปี เกิด 7 กรกฎาคม 2513

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์)	สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล คณะเกษตรศาสตร์บางพระ	2534