



การบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม
และโรงงานผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป

**Treatment of Oil and Grease in Wastewater from Palm Oil Mill and Biodiesel
Production Processes using Immobilized Lipase**

ลลิตา บุหลาด

Lalita Bulad

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Environmental Management
Prince of Songkla University**

2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม
และโรงงานผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป

**Treatment of Oil and Grease in Wastewater from Palm Oil Mill and Biodiesel
Production Processes using Immobilized Lipase**

ลลิตา บุหลาด

Lalita Bulad

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Environmental Management
Prince of Songkla University**

2559

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์	การบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและโรงงานผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป
ผู้เขียน	นางสาวลลิตา บุหลาด
สาขาวิชา	การจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
คณะกรรมการสอบ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยศรี สุขสาโรจน์)

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พนาลี ชีวิกิตการ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะรัตน์ บุญแสง)

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธันวดี สุขสาโรจน์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. วีระศักดิ์ ทองลิ้มปี่)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยศรี สุขสาโรจน์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธันวดี สุขสาโรจน์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. วีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. ชัยศรี สุขสาโรจน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นางสาวลลิตา บุหลาด)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวลลิตา บุหลาด)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและโรงงานผลิตไบโอดีเซลโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรังรูป
ผู้เขียน	นางสาวลลิตา บุหลาด
สาขาวิชา	การจัดการสิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา	2558

บทคัดย่อ

น้ำมันและไขมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียมักเป็นปัญหาในการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศ ทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดต่ำ เนื่องจากน้ำมันและไขมันรบกวนการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบ อีกทั้งน้ำมันและไขมันย่อยสลายตามธรรมชาติได้ช้า ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการกำจัดน้ำมันและไขมันเบื้องต้นก่อนเข้าระบบหมักไร้อากาศ ซึ่งในการศึกษานี้ใช้เอนไซม์ในการบำบัดเบื้องต้น โดยเปรียบเทียบผลของเอนไซม์ตรังกับเอนไซม์อิสระ จากการศึกษาพบว่าการใช้เอนไซม์ตรังรูปบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นพบว่าน้ำมันและไขมันในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลลดลง 33.48 % และ 58.82 % ซีโอดีทั้งหมดลดลง 36.41% และ 63.43 % ตามลำดับ ส่วนการใช้เอนไซม์อิสระน้ำมันและไขมันในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลลดลง 42.29 % และ 58.82 % ซีโอดีทั้งหมดลดลง 44.56 % และ 66.12 % ตามลำดับ เมื่อศึกษาผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพและผลผลิตก๊าซชีวภาพพบว่าน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรังรูปและเอนไซม์อิสระสามารถเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพและสามารถเพิ่มผลผลิตมีเทนได้ โดยปริมาณน้ำมันและไขมันลดลง 54.74 % และ 61.31 % ให้ผลผลิตมีเทนเพิ่มขึ้น 31.24 % และ 38.65 % ตามลำดับ ส่วนน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลปริมาณน้ำมันและไขมันลดลง 59.01 % และ 65.29 % ให้ผลผลิตมีเทนเพิ่มขึ้น 76.24 % และ 87.73 % การใช้เอนไซม์อิสระจะให้ผลการศึกษาที่ดีกว่าแต่หากพิจารณาความคุ้มค่า การใช้เอนไซม์ตรังรูปมีความเหมาะสมมากกว่าเพราะเอนไซม์ตรังรูปสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ซึ่งในการศึกษานี้พบว่าเอนไซม์ที่ทำการตรังสามารถใช้งานซ้ำได้ 6 ครั้ง สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และใช้งานซ้ำได้ 5 ครั้ง สำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล กิจกรรมของเอนไซม์จึงจะลดลงเหลือ 50 % และแต่ละครั้งของการใช้งานซ้ำค่ากิจกรรมเอนไซม์ลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังนั้นการใช้เอนไซม์ตรังรูปในการบำบัดเบื้องต้นน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันสูงโดยเฉพาะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

Thesis Title	Treatment of Oil and Grease in Wastewater from Palm Oil Mill and Biodiesel Production Processes using Immobilized Lipase
Author	Miss Lalita Bulad
Major Program	Environmental Management
Academic Year	2015

ABSTRACT

Oil and grease which contained in wastewater are the main problems of treatment in anaerobic systems. It also reduced the biodegradability and interfered the treatment efficiency by microorganism. Therefore, it is necessary to remove the oil and grease before treatment by anaerobic fermentation. This study used the immobilized lipase as a pre-treatment and it was found that it exhibits the oil and grease removal in the palm oil mill wastewater and also the biodiesel wastewater by 33.48% and 58.82%, COD decreasing by 36.41% and 63.43% respectively. Moreover, the free lipase pre-treatment process could remove oil and grease content in the palm oil mill effluent and biodiesel wastewater by 42.29% and 58.82%, and their COD contents were decreased by 44.56% and 66.12% respectively. These pre-treatment processes also effected on the biodegradation and biogas production abilities of treated wastewater. The removal efficiencies of oil and grease content in palm oil mill wastewater pretreated by immobilized and free lipase can be increased by 54.74 % and 61.31 % and the methane product also were increased by 31.24% and 38.65% respectively. For the wastewater from biodiesel production, oil and grease was reduced by 59.01 % and 65.29 %, and the increasing of the methane production is 76.24% and 87.73% respectively when this wastewater was pretreated by immobilized and free lipase before biogas fermentation. Although the result obtained from free lipase experiments were better than that of immobilized lipase is more appropriate when it can be reused. The study of immobilized lipase reuse found that the immobilized lipase can be reused six times for palm oil mill wastewater treatment and five times for wastewater from the biodiesel production while the reduction of enzyme activity at 50% was used as criteria. Each experiment that reused immobilized lipase, its activity was decreased.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาอย่างยิ่งจาก ผศ. ดร. ชัยศรี สุขสาโรจน์ และ ผศ. ดร. รัชวดี สุขสาโรจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำในการทำวิจัย การค้นคว้าและการเขียนวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณ รศ. ดร. พนาลี จีวิจิตาการ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบทุกท่านที่ให้คำแนะนำและเสนอแนะข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ ตลอดจนช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ บริษัท พิทักษ์ปาล์มมอยส์ จำกัด อำเภอเสียว จังหวัดตรัง ที่ให้การสนับสนุนตัวอย่างน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและหัวเชื้อตะกอนจุลินทรีย์ ตลอดจนช่วยอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างน้ำเสียและหัวเชื้อตะกอนจุลินทรีย์

ขอขอบพระคุณสถานวิจัยและพัฒนาพลังงานทดแทนจากน้ำมันปาล์มและพืชน้ำมัน คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้การสนับสนุนตัวอย่างน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลตลอดจนช่วยอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างน้ำเสีย

ขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในการสนับสนุนเงินทุนในงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ และนักวิทยาศาสตร์ คณะการจัดการสิ่งแวดล้อมทุกท่าน ตลอดจนนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา ให้คำแนะนำต่างๆ และให้กำลังใจมาโดยตลอด

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ที่ให้การสนับสนุนในทุกๆ เรื่อง ทั้งกำลังใจ คำปลอบใจและโอกาสในการศึกษามาโดยตลอด ตลอดจนทุกท่านที่มีได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้ด้วย ที่มีส่วนช่วยทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ลลิตา บุหลาด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
Abstract	(6)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(11)
รายการตารางภาคผนวก	(13)
รายการภาพประกอบ	(14)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ	(16)
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 บทนำตั้งเรื่อง	1
1.2 การตรวจเอกสาร	4
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	39
1.4 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	55
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	55
1.6 ขอบเขตที่คาดว่าจะได้รับ	56
บทที่ 2 วิธีการวิจัย	
2.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	58
2.1.1 ตัวอย่างน้ำเสีย	58
2.1.2 ตะกอนจุลินทรีย์	59
2.1.3 วัสดุอุปกรณ์	59
2.1.4 สารเคมี	64
2.1.5 ถังปฏิกรณ์	66
2.2 วิธีดำเนินการวิจัย	67
2.2.1 การศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำเสีย	67
2.2.2 การตรึงเอนไซม์ไลเปสบนพอลิฟีนิลซันโฟน	67
2.2.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป	69
ในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันของน้ำเสียดังกล่าว	

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.2.4 การทดสอบความทนทานและอายุการใช้งาน	70
2.2.5 การบำบัดเบื้องต้นของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มก่อนการหมักภายใต้สภาวะไร้อากาศ	71
2.2.6 การบำบัดเบื้องต้นของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลก่อนการหมักภายใต้สภาวะไร้อากาศ	71
2.2.7 การศึกษาผลที่เกิดขึ้น (ก๊าซชีวภาพ) จากการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียตัวอย่างที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น	72
2.3 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำหลังผ่านการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศ	74
2.4 การวิเคราะห์ผลการศึกษา	74
บทที่ 3 ผลการศึกษาและอภิปรายผลการศึกษา	
3.1 บทนำ	75
3.2 น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	75
3.2.1 ลักษณะน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	75
3.2.2 ลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	77
3.2.3 การจัดการน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลในปัจจุบันและปัญหาที่พบ	82
3.3 การตรึงเอนไซม์	83
3.3.1 วิธีการตรึงเอนไซม์	83
3.3.2 การตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์	83
3.4 การทดสอบเอนไซม์	88
3.4.1 การทดสอบการตรึงเอนไซม์	88
3.4.2 การทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของการทำงานของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันของน้ำเสียตัวอย่าง	89
3.5 ผลของการใช้เอนไซม์บำบัดน้ำเสียเบื้องต้น	93
3.5.1 ผลการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้นน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	94

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5.2 ผลการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้น น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	100
3.5.3 ความแตกต่างการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้น	105
3.6 ผลของการใช้เอนไซม์บำบัดน้ำเสียเบื้องต้นต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ และผลผลิตก๊าซมีเทน	106
3.6.1 น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	107
3.6.2 น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	111
3.6.3 ความแตกต่างของผลการใช้เอนไซม์อิสระกับเอนไซม์ตรึงรูป บำบัดน้ำเสียต่อการย่อยสลายทางชีวภาพและผลผลิตก๊าซชีวภาพ	114
3.7 ผลการทดสอบสารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์วัสดุตรึงต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ	115
3.8 ผลการทดสอบความทนทานและอายุการใช้งาน	117
3.9 จุดเด่น-จุดด้อยและการประยุกต์ใช้ของการใช้เอนไซม์ไลเปสบำบัดน้ำมัน และไขมันในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	118
บทที่ 4 สรุปและข้อเสนอแนะ	
4.1 สรุปผลการศึกษา	120
4.2 ข้อเสนอแนะ	123
เอกสารอ้างอิง	124
ภาคผนวก	137
ประวัติผู้เขียน	182

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1-1 ตัวอย่างเอนไซม์ไลเปสที่ผลิตขายทางการค้า	5
1-2 ลักษณะของน้ำเสียในขั้นตอนต่างๆในการสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียรวมของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	25
1-3 ลักษณะน้ำเสียโดยเฉลี่ยจากโรงงานน้ำมันปาล์ม 4 โรงงาน	26
1-4 ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	28
1-5 ความเข้มข้นของอ็อกซิเจนที่กระตุ้นและยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบหมักไร้อากาศ	35
1-6 ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพด้านต่างๆ	37
2-1 วิธีวิเคราะห์ ความถี่ในการวิเคราะห์และสภาวะที่ต้องระมัดระวังในการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ทดสอบการตรึงเอนไซม์	69
2-2 วิธีวิเคราะห์ ความถี่ในการวิเคราะห์ และสิ่งที่ต้องระมัดระวังในการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม (จำนวนแผ่นเอนไซม์ตรึงและระยะเวลาสัมผัสของแผ่นเอนไซม์ตรึงกับน้ำเสียตัวอย่าง)	70
2-3 วิธีวิเคราะห์ ความถี่ในการวิเคราะห์ และสิ่งที่ต้องระมัดระวังในการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพ	73
3-1 ลักษณะสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล	78
3-2 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ตรึงรูป	89
3-3 สภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ตรึงรูปย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสีย	90
3-4 ปริมาณน้ำมันและไขมันที่ลดลงและปริมาณซีโอดีละลายน้ำที่เพิ่มขึ้นเมื่อใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส 24 ชั่วโมง และใช้แผ่นเอนไซม์ตรึง 2 และ 3 แผ่น (1 แผ่นขนาด 1 ตร.ซม.) ต่อน้ำเสีย 120 ml สำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลและน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ตามลำดับ	91
3-5 สภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ตรึงรูปย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียตัวอย่างที่เจือจางอัตราส่วนน้ำเสียต่อน้ำกลั่น 1:6	92

รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
3-6 ปริมาณน้ำมันและไขมันที่ลดลงและปริมาณซีโอดีละลายน้ำที่เพิ่มขึ้นของน้ำเสีย ที่ทำการเจือจางอัตราส่วน 1:6 โดยใช้ระยะเวลาทำปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง และใช้แผ่น เอนไซม์ 2 และ 3 แผ่น (1 แผ่น ขนาด 1 ตร.ซม.) ต่อปริมาตรน้ำเสีย 120 ml สำหรับ น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลและน้ำเสียจากโรงงานน้ำมันปาล์ม ตามลำดับ	93
3-7 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัด เบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป	95
3-8 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่าน การทิ้งให้ตกตะกอนแล้วบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป	97
3-9 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล ที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป	101
3-10 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล ที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดแล้วบำบัดต่อด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป	103
3-11 ปริมาณ Methane Yield และความสามารถในการกำจัดซีโอดี น้ำมันและไขมัน ของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยวิธีการต่างๆ	108
3-12 ปริมาณ Methane Yield และความสามารถในการกำจัดซีโอดี น้ำมันและไขมัน ของน้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยวิธีการต่างๆ	112
3-13 จำนวนครั้งของการใช้งานเอนไซม์ตรึงรูปซ้ำ	118

รายการตารางภาคผนวก

ตารางผนวก	หน้า
ก-1 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มก่อนและหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่อัตราส่วนการหมักต่างๆ	138
ก-2 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปก่อนและหลังบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่อัตราส่วนน้ำเสียดต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ 350:150 V/V	141
ก-3 ลักษณะของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ตกตะกอนแล้วใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดอีกครั้งก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนน้ำเสียดต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ 350:150 V/V	142
ก-4 ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลก่อนและหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่อัตราส่วนการหมักต่างๆ	143
ก-5 ลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วย เอนไซม์อิสระก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนการหมักต่างๆ	146
ก-6 ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ตรึงรูปก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนต่างๆ	149
ก-7 ลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดก่อนใช้เอนไซม์บำบัดขั้นต้นก่อนและหลังบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนต่างๆ	152
ก-8 ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดและเอนไซม์อิสระก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนต่างๆ	155
ก-9 ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดและเอนไซม์ตรึงรูปก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนต่างๆ	158
ก-10 ปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ไม่ผ่านการบำบัด	161
ก-11 ปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ไม่ผ่านการบำบัด	162
ก-12 ปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป	164
ข-1 ขนาดของหลอดแก้ว ปริมาตรตัวอย่างน้ำและสารเคมีที่เหมาะสม	171
ข-2 ช่วงของค่า BOD ₅ และวิธีการเจือจางน้ำ	178

รายการภาพประกอบ

ภาพที่	หน้า
1-1 การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีห่อหุ้มแบบ Enzyme Inclusion	15
1-2 การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีห่อหุ้มแบบ Micro-capsulation	16
1-3 กระบวนการตรึงเอนไซม์	16
1-4 การตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์โดยใช้กลูตาอัลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมขวาง	19
1-5 ส่วนประกอบของโมเลกุลไขมัน	20
1-6 การแตกตัวของน้ำมันและไขมัน	20
1-7 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศ	31
2-1 ลักษณะน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่อุณหภูมิต่ำ	58
2-2 ลักษณะตะกอนจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิต่ำ	59
2-3 ลักษณะชุดอุปกรณ์ การควบคุมอุณหภูมิและการวัดปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้น	67
2-4 การเก็บก๊าซชีวภาพและเครื่องวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการก๊าซชีวภาพ (GC)	73
3-1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่อุณหภูมิต่ำ	76
3-2 ลักษณะทางกายภาพของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่อุณหภูมิต่ำ	78
3-3 ความแตกต่างของกรดไขมันระเหยของน้ำเสียโรงงานปาล์มและน้ำเสียไบโอดีเซล	79
3-4 ความแตกต่างของอัตราส่วนของของแข็งทั้งหมดต่อของแข็งระเหยของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	80
3-5 ความแตกต่างของอัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดีทั้งหมดของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	81
3-6 ไนเตรทพอลิฟีนิลซัน โฟนและ เอมีนพอลิฟีนิลซัน โฟน	84
3-7 แบนด์หมู่ไนโตรของไนเตรทพอลิฟีนิลซัน โฟน (แผ่นพอลิเมอร์สังเคราะห์) ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR Spectroscopy ช่วงความถี่ 4000-400 cm^{-1}	85
3-8 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนหมู่ไนโตรให้เป็นหมู่เอมีนโดยใช้ไฮดรอะซีนไฮเดรต	86
3-9 แบนด์หมู่เอมีนของเอมีนพอลิฟีนิลซัน โฟน (แผ่นพอลิเมอร์สังเคราะห์) ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR Spectroscopy ช่วงความถี่ 4000-400 cm^{-1}	87
3-10 เอนไซม์ตรึงรูปบนเอมีนพอลิฟีนิลซัน โฟน ความเข้มข้นเอนไซม์ 140 $\mu\text{g/ml}$ ใช้กลูตาอัลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมขวาง	88

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3-11	ความสัมพันธ์ของการลดลงของซีโอดีทั้งหมดกับซีโอดีละลายน้ำหลังการใช้ เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้นของน้ำเสียโรงงานสกัด น้ำมันปาล์มและน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการทิ้งให้ตกตะกอน	98
3-12	ความแตกต่างของผลการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดน้ำเสีย โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลเบื้องต้น	106
3-13	ปริมาณมีเทนสะสม เปรียบเทียบเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป	115
3-14	ปริมาณมีเทนสะสมเปรียบเทียบระหว่างน้ำเสียที่แช่แผ่นพอลิเมอร์ ตั้งคราะห์และน้ำเสียที่ไม่แช่แผ่นพอลิเมอร์ตั้งคราะห์	117

สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

POME	=	Palm Oil Mill Effluent คือ น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม
BW	=	Biodiesel Wastewater คือ น้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล
TCOD	=	Total Chemical Oxygen Demand คือ ปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ใช้ในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ด้วยวิธีการทางเคมีทั้งในรูปของแข็งและในรูปที่ละลายอยู่ในน้ำ
SCOD	=	Soluble Chemical Oxygen Demand คือ ปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ใช้ในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ในรูปที่ละลายอยู่ในน้ำด้วยวิธีทางเคมี
BOD ₅	=	Biochemical Oxygen Demand คือ ปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ชนิดที่ย่อยสลายได้ด้วยวิธีทางชีวภาพ
TS	=	Total Solid คือ ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่อยู่ในน้ำ
SS	=	Suspended Solid คือ ปริมาณของแข็งที่แขวนลอยอยู่ในน้ำ
VS	=	Volatile Solid คือ ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้
O&G	=	Oil and Grease คือ ปริมาณน้ำมันและไขมันที่อยู่ในน้ำเสีย
FFA	=	Free Fatty Acid คือ กรดไขมันที่ไม่ได้รวมอยู่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride)
TKN	=	Total Kjeldahl Nitrogen คือ ปริมาณรวมทั้งหมดของไนโตรเจนอินทรีย์และแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่อยู่ในน้ำ
NH ₃ -N	=	ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
Alkalinity	=	ความสามารถของน้ำในการรับอนุภาคโปรตอน ส่วนใหญ่เกิดจากองค์ประกอบของสารละลายคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนต
VFA	=	Volatile Fatty Acid คือ กรดอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมไม่เกิน 6 สามารถละลายน้ำได้ น้ำหนักโมเลกุลต่ำ สามารถกักเก็บได้ที่ความดันบรรยากาศ
CPO	=	Crude Palm Oil คือ น้ำมันปาล์มดิบ
FTIR	=	Fourier Transform Infrared Spectroscopy คือ เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร โดยการวัดการดูดกลืนแสงในช่วงคลื่นอินฟราเรด
NMR	=	Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy คือ เครื่องมือระบุโครงสร้างของสาร และระบุตำแหน่งอะตอมในโมเลกุล โดยอาศัยกระบวนการดูดกลืนที่เกี่ยวข้องกับการหมุนของนิวเคลียสในสนามแม่เหล็กภายนอก

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำต้นเรื่อง

น้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันปนเปื้อนอยู่จะมีแหล่งกำเนิดมาจากแหล่งชุมชน ซึ่งส่วนใหญ่ มักมาจากกิจกรรมในการประกอบอาหาร กิจกรรมซักล้างและมาจากสถานบริการน้ำมัน เป็นต้น โดยจะมีปริมาณน้ำมันและไขมันร้อยละ 10 ของปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมด (กรมควบคุมมลพิษ, 2546) และมีแหล่งกำเนิดมาจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานอาหารแช่แข็ง โรงงานแปรรูปอาหาร โรงงานผลิตอาหารสัตว์ โรงงานสกัดน้ำมันพืช เป็นต้น โดยจะมีปริมาณน้ำมันและไขมันสูงมากและแตกต่างกันไปในแต่ละอุตสาหกรรม ซึ่งหากน้ำเสียที่ปนเปื้อนน้ำมันและไขมันดังกล่าว ไม่ได้รับการบำบัดที่ถูกต้องเหมาะสมจะส่งผลกระทบต่อแหล่งน้ำ เนื่องจากน้ำมันและไขมันที่อยู่ในสถานะที่สามารถลอยน้ำได้จะลอยคลุมผิวน้ำ ทำให้ออกซิเจนในอากาศไม่สามารถละลายลงสู่แหล่งน้ำได้ ส่งผลให้ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ลดลง เมื่อค่าออกซิเจนละลายน้ำลดลงจะส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำและทำให้แหล่งน้ำเกิดการเน่าเสีย ส่วนน้ำมันและไขมันที่อยู่ในสถานะที่เป็นอิมัลชันเมื่อตกตะกอนลงไปในก้นแม่น้ำอาจไปยับยั้งการย่อยสลายสารอาหารในน้ำเสียของจุลินทรีย์ก้นบ่อได้ ทำให้แหล่งน้ำเน่าเสียเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ไขมันและไขมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียอาจจะไปขัดขวางการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสีย ซึ่งเป็นสาเหตุให้ระบบบำบัดน้ำเสียมีประสิทธิภาพในการบำบัดลดลง จึงควรได้รับการจัดการอย่างเหมาะสมเพื่อป้องกันและลดผลกระทบดังกล่าว ทั้งนี้เพื่อให้ง่ายต่อการศึกษาวิธีการบำบัดที่เหมาะสมจะใช้น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมเนื่องจากน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมมีปริมาณน้ำมัน ไขมันและปริมาณสารอินทรีย์ค่อนข้างคงที่เพราะกระบวนการผลิตแต่ละครั้งเป็นแบบเดิม

โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมทางการเกษตรที่สำคัญในภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งในกระบวนการผลิตมีการใช้น้ำในปริมาณมาก ส่งผลให้เกิดน้ำเสียในปริมาณมากตามมาด้วย โดยน้ำเสียดังกล่าวจะมีปริมาณน้ำมันและไขมันปนเปื้อนอยู่สูงมาก ทั้งยังมีปริมาณของแข็งแขวนลอยและสารอินทรีย์ในรูปซีโอดีและบีโอดีสูง ขณะเดียวกันในการผลิตไบโอดีเซลมักใช้น้ำมันพืชดิบหรือน้ำมันพืชใช้แล้วเป็นวัตถุดิบในการผลิต ซึ่งพืชเศรษฐกิจที่เป็นพืชน้ำมันที่สำคัญ คือ ปาล์มน้ำมัน ดังนั้นโรงงานทั้งสองประเภทนี้มักเป็นโรงงานที่เกี่ยวข้องกัน ซึ่งโรงงานผลิตไบโอดีเซลก่อให้เกิดน้ำเสียที่มีปริมาณน้ำมันและไขมันสูงเช่นกัน โดยมีปริมาณน้ำมันและไขมันอยู่ในช่วงประมาณ 7,000-44,330 มิลลิกรัมต่อลิตร (จารุวรรณี เรืองคง และคณะ, 2551;

เอนก สวาเวอินทร์, 2552; Suehara *et al.*, 2005) ส่งผลให้มีปริมาณสารอินทรีย์ทั้งในรูปของบีโอดี และซีโอดีสูงตามไปด้วย อีกทั้งน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอาหารของจุลินทรีย์น้อยมาก ส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เนื่องจากองค์ประกอบของน้ำเสียไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Suehara *et al.*, 2005) จึงเป็นสาเหตุให้น้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลบำบัดได้ยากด้วยวิธีการทางชีวภาพ แต่ทั้งนี้คุณลักษณะของน้ำเสียทั้งสองชนิดมีคุณสมบัติที่สามารถนำมาผลิตเป็นก๊าซชีวภาพได้ ซึ่งจะเป็นการช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อมและได้ผลพลอยได้เป็นพลังงานทดแทน เป็นแหล่งเชื้อเพลิงเพื่อใช้ในการผลิตพลังงานความร้อน เช่น ใช้เป็นเชื้อเพลิงของหม้อต้มไอน้ำในโรงงาน และใช้ผลิตพลังงานไฟฟ้าเพื่อใช้ในโรงงานหรือจำหน่ายไฟฟ้าเข้าระบบสายส่ง เป็นต้น

วิธีการบำบัดน้ำมันและไขมันที่ใช้อยู่เดิมมีหลายวิธีทั้งวิธีการทางกายภาพ เช่น การคัดออก การใช้ถังดักไขมัน การทำให้ลอยด้วยอากาศ (Dissolved-air flotation) เป็นต้น วิธีการทางเคมี เช่น การใช้สารเคมีสร้างและรวมตะกอนเพื่อให้น้ำมันและไขมันรวมตัวกัน และวิธีการทางชีวภาพโดยการจุลินทรีย์มาใช้ในการบำบัด แต่ทั้งนี้การบำบัดด้วยวิธีการทางกายภาพเป็นวิธีการที่ต้องมีค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับการใช้พลังงานเนื่องจากการเติมอากาศ ส่วนการใช้วิธีการทางเคมีก็มีค่าใช้จ่ายในการบำบัดค่อนข้างสูงเนื่องจากต้องใช้สารเคมีค่อนข้างสูง โดยที่ประสิทธิภาพการบำบัดก็ไม่ได้สูงมากนักและตะกอนไขมันที่เหลือจากการบำบัดต้องมีการนำไปกำจัดต่อ การบำบัดด้วยวิธีการชีวภาพมีค่าใช้จ่ายในการบำบัดค่อนข้างต่ำ ไม่มีของเสียที่ต้องนำไปกำจัดต่อแต่การใช้จุลินทรีย์ในการบำบัดก็ยังมีข้อจำกัดอีกเช่นกัน เพราะการใช้จุลินทรีย์ต้องมีการปรับสภาพต่างๆให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เนื่องจากถ้าสถานะในระบบไม่เหมาะสมจุลินทรีย์จะไม่เจริญเติบโตส่งผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดลดลงหรือไม่สามารถบำบัดได้ จึงได้มีการนำเอนไซม์มาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันสูง ซึ่งสามารถบำบัดได้ดี ให้ประสิทธิภาพค่อนข้างสูงแต่อย่างไรก็ตามการใช้เอนไซม์อิสระ (Free lipase) ในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียมียข้อจำกัดหลายประการ เช่น เอนไซม์มักหลุดไปกับน้ำเสียที่บำบัด ทำให้ใช้งานได้เพียงครั้งเดียว ซึ่งส่งผลให้มีค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูงเพราะต้องมีการเติมเอนไซม์บ่อยๆ ส่งผลให้ไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในระบบบำบัดแบบต่อเนื่องได้และนอกจากนี้เอนไซม์อิสระมีความทนทานต่ออุณหภูมิและพีเอชได้น้อยกว่าเอนไซม์ตรึงรูป (Chang and Juang, 2005) ด้วยขีดจำกัดดังกล่าว จึงมีการคิดค้นการนำเทคโนโลยีของเอนไซม์ตรึงรูปมาใช้ในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสีย

เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป (Immobilized lipase) เป็นเอนไซม์ไลเปสที่ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อการประยุกต์ใช้โดยการทำให้เอนไซม์อยู่ในขอบเขตที่กำหนด เพื่อให้เอนไซม์ละลายน้ำได้ยากขึ้นหรือละลายน้ำไม่ได้เลย มีผลให้เอนไซม์เปลี่ยนจากสถานะตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของเหลวกลายเป็น

ตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของแข็ง ปัจจุบันมีการนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปมาประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ เช่น การใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการผลิตไบโอดีเซล การใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปในการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมัน เป็นต้น เพราะเอนไซม์ตรึงรูปมีเสถียรภาพสูง สามารถทนต่ออุณหภูมิได้สูง สามารถทำงานได้ในช่วงพีเอชที่กว้างขึ้นเมื่อเทียบกับเอนไซม์อิสระ (Gonchar and Auslender 1996; Bayramoglu *et al.*, 2002) และสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้ ซึ่งเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายและสามารถนำมาใช้งานในระบบแบบต่อเนื่องได้ นอกจากนี้การใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปในการย่อยสลายโมเลกุลของน้ำมันและไขมันทำให้ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพดีขึ้น อาจส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพได้ เพราะการใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปจะช่วยเพิ่มการย่อยสลายโมเลกุลของน้ำมันและไขมันให้มีการแตกตัวเป็นโมเลกุลเล็กๆ มากขึ้น ซึ่งช่วยให้เกิดกระบวนการเปลี่ยนสารโมเลกุลเล็กๆ เหล่านี้เป็นกรดอินทรีย์ที่จะเปลี่ยนไปเป็นมีเทนหรือก๊าซชีวภาพในกระบวนการของการเกิดก๊าซชีวภาพได้ง่ายขึ้น

การตรึงเอนไซม์มีหลายวิธี เช่น การตรึงแบบดูดซับ การตรึงด้วยพันธะโควาเลนต์ การตรึงแบบเชื่อมขวาง และการตรึงแบบห่อหุ้ม แต่การตรึงด้วยพันธะโควาเลนต์มีความเสถียรมากที่สุด เพราะการตรึงด้วยวิธีนี้มีแรงกระทำระหว่างตัวรองรับกับเอนไซม์ที่แข็งแรงมาก ทำให้เอนไซม์หลุดออกจากตัวรองรับได้ยาก อีกทั้งพันธะโควาเลนต์ที่เกิดขึ้นจะทำให้โครงสร้างของเอนไซม์ตรึงรูปแข็งแรงขึ้น ทนต่ออุณหภูมิและพีเอชที่แข็งแรงขึ้น ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อมีการนำกลับมาใช้ซ้ำ (Huckel *et al.*, 1996)

ดังนั้นการศึกษานี้จึงทำการตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์และนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่เป็นอุตสาหกรรมต่อเนื่องจากอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์มในเบื้องต้นก่อนนำไปหมักย่อยในสภาวะไร้อากาศเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพ ทั้งนี้เพื่อจะเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตก๊าซชีวภาพในตัวอย่งน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ตรึงรูปกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นและเปรียบเทียบน้ำเสียที่มีสารอาหารสูงกับน้ำเสียที่มีสารอาหารน้อย ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพหรือเพิ่มปริมาณก๊าซชีวภาพได้ และอาจเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันสูงและเป็นแนวทางในการพัฒนาระบบบำบัดน้ำเสียสำหรับบำบัดน้ำมันและไขมันในอนาคตต่อไป

1.2 การตรวจเอกสาร

1.2.1 เอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปสมีชื่อตามระบบ (Systematic name) ว่า “ไตรเอซิลกลีเซอรอลเอซิลไฮโดรเลส (Triacylglycerol acyl hydrolase)” และมีชื่อตามรหัส (Code name) ว่า EC 3.1.1.3 เอนไซม์ไลเปสเป็นเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส (Hydrolases) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) โมเลกุลของเอซิลกลีเซอรอลได้ผลิตกันซ์เป็นไดเอซิลกลีเซอรอล โมโนเอซิลกลีเซอรอล กรดไขมันและกลีเซอรอล ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นสามารถเกิดแบบย้อนกลับได้ขึ้นอยู่กับภาวะควบคุมสภาวะแวดล้อมของสารต่างๆ ในปฏิกิริยา นอกจากนี้ยังสามารถเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์เอสเทอร์ (Synthesis of ester) และการย้ายหมู่เอสเทอร์ (Transesterification)

เอนไซม์ไลเปสมีความจำเพาะกับพันธะเอสเทอร์ (RCOOR') โดยย่อยเอสเทอร์ได้เป็นกรดและแอลกอฮอล์ แต่จะมีความจำเพาะกับหมู่เอสเทอร์ที่มีสายโซ่คาร์บอนยาว เช่น การย่อยไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) ที่มีสายโซ่คาร์บอนยาว เช่น น้ำมันพืช เอนไซม์ไลเปสจะทำงานได้เฉพาะบริเวณที่น้ำมันสัมผัสกับน้ำเท่านั้น เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสละลายอยู่ในน้ำส่วนน้ำมันไม่ละลายในน้ำ ดังนั้นเอนไซม์ไลเปสจะย่อยน้ำมันที่ละลายอยู่ในน้ำได้ดี (อริญ หันพงศ์กิตติคุณ, 2556)

ปัจจุบันเอนไซม์ไลเปสถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการสังเคราะห์สารอินทรีย์ต่างๆ ทดแทนการสังเคราะห์ทางเคมีเพื่อผลิตสารที่สำคัญ ได้แก่ การสังเคราะห์ด้วยยาที่ใช้ในด้านเภสัชกรรม การสังเคราะห์สารตัวกลางและปรับปรุงโครงสร้างของไขมันธรรมชาติและมีการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและยา อุตสาหกรรมเครื่องหนัง เป็นต้น รวมทั้งนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากชุมชนและอุตสาหกรรมอาหาร (Sharma *et al.*, 2001) นอกจากนี้ยังสามารถเกิดปฏิกิริยาอินเตอร์เอสเทอริฟิเคชัน (Interesterification) ของน้ำมันและไขมันได้ผลิตกันซ์ที่มีคุณค่า เช่น Cocoa butter, Fatty acid ester (Berger *et al.*, 1992; Bornsheuer, 1995)

1.2.2 แหล่งที่พบเอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปสพบได้ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เอนไซม์ไลเปสที่ได้จากพืช ได้แก่ เอนไซม์ไลเปสจากเมล็ดละหุ่ง เมล็ดฝ้าย และจากธัญพืชพวกข้าวสาลี ข้าวไรย์และข้าวบาร์เลย์ เอนไซม์ไลเปสจากสัตว์จะพบในเนื้อเยื่ออวัยวะ เช่น ตับอ่อน หัวใจ สมอง ไต กล้ามเนื้อ และซีรัม ซึ่งเอนไซม์ไลเปสจากสัตว์ที่นำมาใช้มาก คือ เอนไซม์ไลเปสจากตับอ่อน เนื่องจากมีความเข้มข้นสูงและสามารถแยกสกัดออกมาได้ง่าย (Schwimmer, 1981) ส่วนเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์ได้มาจากจุลินทรีย์หลายชนิด ปัจจุบันได้รับความสนใจอย่างมากเนื่องจากมีความคงตัวสูง

กว่าเอนไซม์ไลเปสจากพืชและสัตว์ (Malcata *et al.*, 1992) สามารถผลิตเอนไซม์ได้ปริมาณมาก เนื่องจากจุลินทรีย์มีการเติบโตอย่างรวดเร็วจึงใช้ระยะเวลาในการผลิตสั้น ควบคุมสภาวะแวดล้อมในการผลิตได้ และคุณภาพของเอนไซม์มีความสม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยโดยวิธีการปรับปรุงทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์ทำให้ปัจจุบันมีจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสทางการค้าได้หลายชนิดทั้งยีสต์ ราและแบคทีเรีย ดังแสดงในตารางที่ 1-1

เอนไซม์ไลเปสมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และการควบคุมสภาวะต่างๆ ในการผลิต ยีสต์ที่นิยมนำมาผลิตเอนไซม์ไลเปสทางการค้าได้แก่ *Candida cylindracea* หรือ *Candida rugosa* สำหรับราที่นำผลิตเอนไซม์ไลเปสทางการค้าจะอยู่ในกลุ่ม *Rhizomucor* และแบคทีเรียที่ได้รับความนิยม ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonas*

ตารางที่ 1-1 ตัวอย่างเอนไซม์ไลเปสที่ผลิตขายทางการค้า

อักษรย่อ	แหล่งผลิต	บริษัทที่จำหน่าย
	จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	
PPL	ตับอ่อนของหมู (porcine pancreas)	Amano, Sigma, Fluka, Boehring Mannheim
CE (BSSL)	เอสเทอโคเลสเตอรอลจากตับอ่อน	Genzyme, Sigma
	จากยีสต์และรา	
CRL	เชื้อ <i>Candida rugosa</i> เชื้อ <i>Candida cylindracea</i>	Altus Biologics, Sangyu, Amano, Boehring Mannheim
CRL-A	เชื้อ <i>Candida antarctica A</i>	Boehring Mannheim, Novo Nordisk
CRL-B	เชื้อ <i>Candida antarctica B</i>	Boehring Mannheim, Sigma
CLL	เชื้อ <i>Candida lipolytica</i>	Amano
GCL	เชื้อ <i>Geotrichum candidum</i>	Amano
ANL	เชื้อ <i>Aspergillus niger</i>	Amano
ProqL	เชื้อ <i>Penicillium roqueforti</i>	Amano
	จากแบคทีเรีย	
PCL	เชื้อ <i>Pseudomonas cepacia</i>	Altus Biologics, Amano, Boehring Mannheim, Fluga, Sigma
PCL-AH	เชื้อ <i>Pseudomonas cepacia</i>	Amano
PFL	เชื้อ <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Amano, Biocatalysts Ltd.

ที่มา: ดัดแปลงจาก Kazlauskas และ Borncheuer (1997)

1.2.3 คุณสมบัติด้านเคมีและกายภาพของเอนไซม์ไลเปส

โดยทั่วไปเอนไซม์ไลเปสจะละลายได้ดีในน้ำแต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้ว เอนไซม์ไลเปสที่ได้จากสัตว์ส่วนใหญ่จะมีพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานในช่วงพีเอชที่เป็นด่าง (pH 8-9) แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสับสเตรท (Substrates) ปริมาณเกลือและชนิดของสารอิมัลซิฟายเออร์ (Emulsifier) ที่ใช้ ซึ่งอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชที่เหมาะสมให้อยู่ในช่วงที่เป็นกรดได้ (Malcata *et al.*, 1992) ส่วนเอนไซม์ไลเปสที่ทำงานได้ดีในช่วงพีเอชที่เป็นกรดจะพบมากในไลโซโซมในส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด สำหรับเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อจุลินทรีย์โดยทั่วไปจะทำงานได้ดีในช่วงพีเอช 5.6-8.5 และมีความคงตัวสูงในช่วงพีเอชที่เป็นกลางและมีความคงตัวต่ออุณหภูมิสูงกว่าเอนไซม์ไลเปสจากพืชและสัตว์ (Yamane, 1987) เอนไซม์ไลเปสส่วนใหญ่ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส

1.2.4 โครงสร้างและบริเวณเร่งของเอนไซม์ไลเปส

โครงสร้างของเอนไซม์ไลเปสจะประกอบด้วยบริเวณที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic areas) มากกว่าบริเวณที่ชอบน้ำ (Hydrophilic areas) และยังมีส่วนที่เป็นฝาเปิดปิด เรียกว่า ลิด (Lid) ซึ่งภายในลิดจะมีบริเวณเร่ง (Active site) ของเอนไซม์อยู่ ลิดจะทำหน้าที่เปิดปิดให้สับสเตรท (Substrates) ของเอนไซม์เข้ามาทำปฏิกิริยาและปล่อยผลิตภัณฑ์ออกไปและภายในลิดจะเป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ เมื่อสับสเตรทที่เป็นไขมันซึ่งมีความไม่ชอบน้ำสูงเข้ามาใกล้ๆ ลิดจะทำให้ฝาเปิดสามารถเปิดออกได้ด้วยแรงดึงคูดของบริเวณที่ไม่ชอบน้ำ ทำให้สับสเตรทเข้าไปในลิดได้และจะไปจับกับบริเวณเร่งภายในลิด จากนั้นก็จะทำปฏิกิริยาจนได้เป็นผลิตภัณฑ์ออกมา ส่วนบริเวณเร่ง (Active site) ของเอนไซม์ไลเปสจะประกอบด้วยกรดอะมิโน (Amino acid) 3 ตัวที่เรียงอยู่ใกล้กัน เรียกว่า “คะตะไลติก ไทรแอด (Catalytic triad)” ซึ่งกรดอะมิโนทั้ง 3 นี้ ได้แก่ กรดแอสปาร์ติก (Aspartic acid) ใช้สัญลักษณ์ Asp ฮิสทีดีน (Histidine) ใช้สัญลักษณ์ His และเซรีน (Serine) ใช้สัญลักษณ์ Ser โดยบริเวณคะตะไลติก ไทรแอดนี้เป็นบริเวณที่เกิดการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับสับสเตรทที่เกิดขึ้นในบริเวณเร่ง (Wong, 1995)

1.2.5 การทำงานของเอนไซม์ไลเปส

ถ้าแบ่งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสตามความจำเพาะต่อตำแหน่งโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์จะแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ กลุ่มที่มีความจำเพาะกับตำแหน่งที่ 1 แล 3 บนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ และกลุ่มที่มีความจำเพาะต่อชนิดกรดไขมันบนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ (Wong, 1995)

กลุ่มที่ 1 เป็นเอนไซม์ไลเปสที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ ปฏิกิริยาจะเกิดแบบสุ่มและจะสามารถแลกเปลี่ยนหมู่เอซิลได้ทุกตำแหน่งบนโมเลกุลของน้ำมันและไขมันหรือไตรกลีเซอไรด์ เอนไซม์กลุ่มนี้จะย่อยไตรกลีเซอไรด์ได้สมบูรณ์ ดังนั้นจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid) และกลีเซอรอล (Glycerol) แต่อาจจะพบพวกไดกลีเซอไรด์และโมนอกลิเซอไรด์เป็นสารอินเทอร์มีเดียท (Intermediate) ในปฏิกิริยาได้ ตัวอย่างของเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida cylindracea*, *Corynebacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* และเชื้อ *Pseudomonas fluorescens*

กลุ่มที่ 2 เป็นเอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะกับตำแหน่งที่ 1 และ 3 บนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งไฮโดรไลสไตรกลีเซอไรด์ได้เป็นกรดไขมันอิสระ และ 1, 2- หรือ 2, 3- ไดกลีเซอไรด์ และได้ 2-โมนอกลิเซอไรด์ แต่เนื่องจากกลีเซอไรด์ที่ได้นี้เป็นสารประกอบที่ไม่คงตัว ถ้ามีการบ่มไว้เป็นเวลานานก็จะเกิดการเคลื่อนย้ายหมู่เอซิลทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็น 1,3- ไดกลีเซอไรด์และ 1- หรือ 3-โมนอกลิเซอไรด์ แต่ถ้าให้ปฏิกิริยาการย่อยเกิดอย่างสมบูรณ์ก็จะได้อะซิลกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ ตัวอย่างของเอนไซม์ไลเปสกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus niger*, *Pseudomonas fluorescens*, *Mucor javanicus*, *Rhizopus arrhizus* เป็นต้น

กลุ่มที่ 3 เป็นเอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อชนิดของกรดไขมันบนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์ทั่วไปไม่มีคุณสมบัติข้อนี้ ยกเว้นเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์บางพวก เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *Penicillium cyclopium* จะเร่งปฏิกิริยาได้สูงสุดเมื่อสารตั้งต้นเป็นโมนอกเอซิลกลีเซอรอล แต่ถ้ามีไดเอซิลกลีเซอรอลหรือไตรเอซิลกลีเซอรอล ความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาจะลดต่ำลง เอนไซม์ไลเปสจาก *Geotrichum candidum* จะย่อยไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันอิสระที่มีพันธะคู่เป็น cis form ซึ่งพบในธรรมชาติตรงตำแหน่งที่ 9 ได้ดี แต่ถ้าเป็นไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันอิสระอิ่มตัวหรือกรดไขมันอิสระไม่อิ่มตัวที่ไม่มีพันธะคู่ที่ตำแหน่งที่ 9 ก็จะย่อยได้ไม่ดี

1.2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส

ในการทำงานของเอนไซม์ไลเปสมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องมากมาย ได้แก่ อุณหภูมิ (Temperature) พีเอช (pH) ตัวยับยั้ง (Inhibitors) และความเข้มข้นของสับสเตรท (Substrate concentration) ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ดังนี้

1. อุณหภูมิ (Temperature) อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ (Enzyme activity) โดยจะมีผลให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลดลง ซึ่งพบว่าเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Rhizopus oryzae* กิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และกิจกรรมของเอนไซม์จะหายไปเกือบหมดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส หลังจากบ่มไว้เป็นเวลา

30 นาที (Hiol *et al.*, 2000) เอนไซม์ไลเปสจาก *Penicillium roqueforti* จะมีกิจกรรมลดลงถึง 65 เปอร์เซ็นต์ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที (Eitenmiller *et al.*, 1970) กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่ได้จาก *Pseudomonas fragi* จะลดลง 27.1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (Lu and Liska, 1969) และเอนไซม์ไลเปสจาก *Aspergillus niger* จะไม่ทำงานที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (Fukumoto *et al.*, 1963)

2. พีเอช (pH) ปัจจัยเรื่องพีเอชก็เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส เนื่องจากถ้าพีเอชไม่เหมาะสมเอนไซม์จะเกิดการเสื่อมสภาพส่งผลให้เอนไซม์มีค่ากิจกรรมลดลงหรืออาจทำงานไม่ได้ เช่น เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Rhizopus oryzae* จะมีกิจกรรมลดลงครึ่งหนึ่ง เมื่อบ่มไว้ที่พีเอช 8.5 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (Hiol *et al.*, 2000) ส่วนเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Yarrowia lipolytica* 681 กิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อพีเอชสูงกว่า 8.0 (Destain *et al.*, 1997) เอนไซม์ไลเปสจาก *Penicillium roqueforti* มีพีเอชที่เหมาะสมต่อการเกิดกิจกรรมเท่ากับ 8.0

3. ตัวยับยั้ง (Inhibitors) ไอออนของโลหะหนักบางชนิด เช่น Hg^{2+} , Al^{3+} และ Fe^{2+} จะยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่ผลิตจาก *Bacillus sp.* (Handelsman and Shoham, 1994) ส่วนเอนไซม์ไลเปสที่ได้จาก *Pseudomonas fragi* จะถูกยับยั้งการทำงานเมื่อมีไอออนของ Fe^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , Co^{2+} และ Cu^{2+} (Lu and Liska, 1964) เอนไซม์ไลเปสจาก *Penicillium roqueforti* S-86 จะถูกยับยั้งการทำงานด้วย K^+ และ Na^+ ที่ความเข้มข้น 50 โมลาร์ (Petrovic *et al.*, 1990)

สารซักฟอกก็ยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ ซึ่งพบว่าสารซักฟอกโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium Dodecyl Sulfate; SDS) ที่ความเข้มข้น 1-7 มิลลิโมลาร์จะยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (Hiol *et al.*, 2000) นอกจากนี้กรดโอเลอิก (Oleic acid) ความเข้มข้น 14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสจาก *Chromobacterium* ลดลงครึ่งหนึ่ง ส่วนกรดไขมันที่ชื่อว่าเดคาโนอิก (Decanoic) และดิวเดคาโนอิก (Dodecanoic) จะยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่ได้จาก *Clostridium viscosum* และ *Acinetobacter sp.* OPA55 ตามลำดับ (Jenta *et al.*, 1997)

4. ความเข้มข้นของสับสเตรท (Substrate concentration) ความเข้มข้นของสับสเตรท (Substrate) ก็สามารทำให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงได้ด้วยเช่นกัน เช่น เนยเหลวและน้ำมันมะกอกที่ความเข้มข้นมากกว่า 5 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จะลดกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (Eitenmiller *et al.*, 1970) เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Achromobacter lipolyticum* จะแสดงกิจกรรมลดลงเมื่อใช้กลีเซอไรด์สังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์เป็นสับสเตรท (Khan *et al.*, 1967)

1.2.7 ข้อจำกัดของการใช้เอนไซม์อิสระ

การนำเอนไซม์อิสระ (Free enzyme) มาประยุกต์ใช้มีข้อจำกัดมากมาย เช่น เอนไซม์อิสระไม่เสถียร มีความทนทานต่ออุณหภูมิและพีเอชที่รุนแรงได้น้อยกว่าเอนไซม์ตรึงรูป (Chang and Juang, 2005) เอนไซม์อิสระใช้งานในลักษณะต่อเนื่องหรือใช้ซ้ำไม่ได้และถ้าจะให้เอนไซม์อิสระมีกิจกรรมของเอนไซม์สูงต้องทำให้บริสุทธิ์ก่อนการใช้งาน เอนไซม์อิสระจะผสมปนลงไปในสารละลายของสับสเตรท (Substrate) และผลผลิตซึ่งแยกออกได้ยากหรือไม่ได้เลยและเนื่องจากเอนไซม์เป็นโปรตีนจะเกิดการปนเปื้อนในลักษณะของสารปนเปื้อนโปรตีนได้ (Proteinous contaminants) โดยเฉพาะถ้าอยู่ในอาหารจะเกิดเป็นตะกอนเมื่ออยู่ในระดับอุณหภูมิและพีเอชของโปรตีนชนิดนั้น จะแยกออกได้ต้องใช้กรรมวิธีเพิ่มเติม คือ ต้องผ่านหน่วยแยกอีกครั้ง (ปราณี อ่านเปลื้อง, 2547) เอนไซม์อิสระมีสถานะทำปฏิกิริยาจำเพาะ บางครั้งอาจไม่เหมาะสมที่นำเอนไซม์อิสระมาใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหารหรืออุตสาหกรรมที่ต้องใช้เอนไซม์ชนิดนั้นๆ เอนไซม์อิสระส่วนใหญ่ละลายในน้ำหรือสารละลายได้ ฉะนั้นจะนำมาใช้ในลักษณะตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของแข็งไม่ได้ มีผลให้ไม่สามารถใช้งานกับเครื่องปฏิกรณ์ประเภทต่างๆ เช่น ฟลูอิดไคซ์เบด (Fluidized bed) เบดบรรจุ (Packed bed) ที่เป็นระบบต่อเนื่องได้และการใช้เอนไซม์อิสระในอุตสาหกรรมมีต้นทุนสูง เพราะต้องมีการเติมเอนไซม์บ่อยๆ (ปราณี อ่านเปลื้อง, 2547) ด้วยข้อจำกัดของเอนไซม์อิสระดังกล่าวนี้ จึงมีการคิดค้นหาแนวทางแก้ไขข้อจำกัดดังกล่าวโดยการนำเทคโนโลยีการตรึงเอนไซม์มาประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆทดแทนการใช้เอนไซม์อิสระ

1.2.8 เอนไซม์ตรึงรูป (Immobilized enzymes)

เอนไซม์ตรึงรูป (Immobilized enzymes) คือ เอนไซม์ที่พัฒนาขึ้นมา โดยการเปลี่ยนสถานะจากตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของเหลวให้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของแข็งขณะทำปฏิกิริยา ซึ่งจะมีคุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำหรือละลายน้ำได้น้อยมาก โดยการนำเอาเอนไซม์อิสระมาจำกัดให้อยู่ในขอบเขตที่กำหนดไว้หรือนำมายึดไว้กับตัวกลางต่างๆ ที่มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำหรือทำให้โมเลกุลของเอนไซม์เชื่อมกันเองโดยการเชื่อมพันธะเคมี เพื่อทำให้การเร่งปฏิกิริยาทำได้อย่างต่อเนื่องและสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก สามารถใช้สภาวะในการทำปฏิกิริยาที่แตกต่างไปจากเอนไซม์อิสระได้ แต่ขึ้นอยู่กับทางเลือกชนิดของตัวกลางที่ใช้ วิธีการตรึงรูป จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางมากกว่าการใช้เอนไซม์อิสระ

1.2.9 ข้อดีของเอนไซม์ตรึงรูป

ข้อดีของเอนไซม์ตรึงรูป คือ สามารถทนต่ออุณหภูมิที่สูงขึ้นและยังสามารถทำงานได้ในช่วงพีเอช (pH) ที่กว้างขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์อิสระ (Gonchar and Auslender 1996; Bayramoglu *et al.*, 2002) มีโอกาสเพิ่มกิจกรรมและเสถียรภาพของเอนไซม์ได้ถ้าวิธีที่ใช้เหมาะสม สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ซ้ำได้ทำให้สามารถนำไปใช้กับระบบแบบต่อเนื่องได้ เช่น ระบบ Packed bed reactors (PBR) ระบบ Fluidized bed reactors และระบบ Continuous stirred tank reactor เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นกับรูปร่างตัวรองรับ (Supporter) และลักษณะของสับสเตรท (Substrate) เอนไซม์ที่นำมาตรึงไม่ต้องทำให้บริสุทธิ์ก็สามารถทำงานได้ดีเหมือนกับเอนไซม์บริสุทธิ์และมีราคาถูกกว่าเมื่อเทียบกับการใช้เอนไซม์อิสระ (ปราณี อ่านเปลื้อง, 2547) นอกจากนี้การใช้เอนไซม์ตรึงรูปในอุตสาหกรรมทำให้สามารถดำเนินการผลิตได้อย่างต่อเนื่องและควบคุมการผลิตได้ดี สามารถแยกผลผลิตออกจากเอนไซม์ได้ง่ายและสามารถใช้เอนไซม์หลายชนิดร่วมกันในกระบวนการผลิตที่ซับซ้อน (อรัญ หันพงศ์กิตติคุณ 2556)

1.2.10 วิธีการตรึงและวัสดุตัวกลางที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์

วิธีการตรึงรูปเอนไซม์แบ่งเป็น 3 วิธีใหญ่ๆ คือ การเชื่อมกับตัวรองรับ การเชื่อมขวางและการห่อหุ้ม (ปราณี อ่านเปลื้อง, 2547) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. วิธีการเชื่อมกับตัวรองรับ (Carrier binding method) การตรึงเอนไซม์ด้วยการเชื่อมกับตัวรองรับ สามารถทำได้ 3 วิธี คือ วิธีการดูดซับทางกายภาพ (Physical adsorption method) วิธีการเชื่อมด้วยพันธะไอออนิก (Ionic binding method) และวิธีการเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนต์ (Covalent binding method)

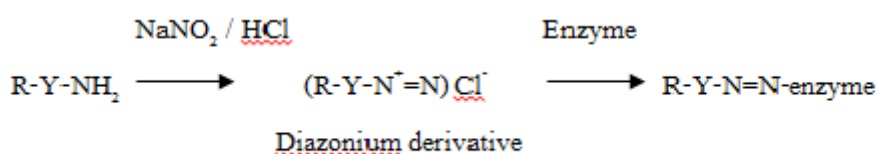
1.1 วิธีการดูดซับทางกายภาพ (Physical adsorption method) คือ การดูดซับของเอนไซม์บนพื้นผิวภายนอกของตัวรองรับที่ไม่ละลายน้ำ วิธีการตรึงรูปวิธีนี้จะไม่มีผลกระทบต่อโครงสร้างสามมิติ เนื่องจากไม่มีพันธะเคมีเกิดขึ้นและแรงที่ยึดเกาะกันระหว่างเอนไซม์กับตัวรองรับอ่อนมาก ซึ่งพันธะที่เกิดขึ้นในวิธีนี้จะเป็พันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bonding) แรงแวนเดอวาลส์ (Van der waals force) และแรงกระทำระหว่างส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic interaction) และวิธีนี้อาจมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์บ้างเล็กน้อยในลักษณะของการหมุนตัวของเอนไซม์เพื่อจับกับสับสเตรท (Stereospecific effect) การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้ทำได้โดยผสมสารละลายเอนไซม์กับตัวรองรับที่ใช้ตรึงภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทิ้งไว้เพื่อให้มีการจับกัน จากนั้นแยกเอนไซม์ที่ถูกตรึงออกด้วยการกรอง ตัวรองรับที่นิยมใช้ตรึงรูปเอนไซม์ด้วยวิธีนี้ได้แก่ เบนโทไนต์ (Bentonite) ถ่านกัมมันต์ (Activated carbon) เจลแคลเซียมฟอสเฟต (Calcium phosphate gel) แก้วพรุน (Porous glass) โคลนกรด (Acid clay) คาโอลิไนต์ (Kaolinite)

อะลูมินา (Alumina) และพอลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น แป้ง คอลลาเจน วิธีการผลิตเอนไซม์ตรีงรูปด้วยวิธีการดูดซับทางกายภาพเป็นวิธีการที่ง่ายที่สุด ราคาถูก แต่เอนไซม์หลุดออกจากตัวรองรับได้ง่าย เนื่องจากมีแรงกระทำระหว่างโมเลกุลที่อ่อนมาก (Chaplin and Bucke, 1990; Murray *et al.*, 1996)

1.2 วิธีการเชื่อมด้วยพันธะไอออนิก (Ionic binding method) คือ การเชื่อมระหว่างเอนไซม์กับตัวรองรับที่ไม่ละลายน้ำโดยใช้พันธะไอออนิก ตัวอย่างตัวรองรับที่นิยมใช้ตรีงรูปเอนไซม์ด้วยวิธีนี้ได้แก่ สารที่มีอนุภาคแลกเปลี่ยนประจุ เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) และพอลิเมอร์สังเคราะห์ เป็นต้น ซึ่งอนุภาคประจุในตัวรองรับและในเอนไซม์ต้องต่างกัน เช่น เอนไซม์มีอนุภาคประจุบวก (Anion) เช่น กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) และตัวรองรับมีอนุภาคประจุลบ (Cationic) เช่น DEAE-cellulose และ DEAE-sephadex เป็นต้น

1.3 วิธีการเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนต์ (Covalent binding method) คือ การเชื่อมพันธะระหว่างเอนไซม์กับตัวรองรับด้วยพันธะโควาเลนต์ วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมทำกันมากที่สุด เนื่องจากวิธีนี้มีแรงกระทำระหว่างตัวรองรับกับเอนไซม์ที่แข็งแกร่งมาก ทำให้เอนไซม์หลุดออกจากตัวรองรับได้ยาก แต่จะมีการเตรียมที่ยุ่งยากและราคาสูง (Chaplin and Bucke, 1990) พันธะโควาเลนต์ที่เกิดขึ้นนี้จะทำให้โครงสร้างของเอนไซม์ตรีงรูปแข็งแรงขึ้น ทนต่ออุณหภูมิ และ pH ที่รุนแรงได้มากขึ้นและควมมีเสถียรภาพเหล่านี้จะส่งผลให้กิจกรรมเอนไซม์ลดลงเพียงแค่น้อยเท่านั้นเมื่อมีการนำกลับมาใช้ซ้ำ (Huckel *et al.*, 1996) การตรีงรูปด้วยวิธีนี้สามารถทำได้ 7 วิธีดังนี้

ก. วิธีไดอะโซ (Diazo method) คือ การสร้างพันธะระหว่างเอนไซม์และตัวรองรับที่มีอนุพันธ์ไดอะโซเนียม ($-N=N$) เรียกกระบวนการนี้ว่า ไดอะโซไทเซชัน (Diazotization) เช่น ตัวรองรับที่มี Aromatic amino group ($R-Y-NH_2$) แสดงดังสมการที่ 1

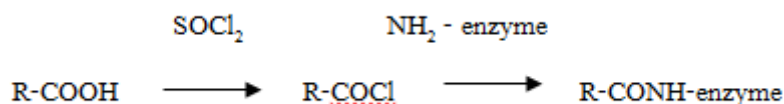


สมการที่ 1 ปฏิกิริยาไดอะโซไทเซชัน

เอนไซม์ที่สามารถสร้างพันธะโควาเลนต์โดยวิธีนี้ได้แก่ เอนไซม์ที่มีหมู่อะมิโนอิสระ เอนไซม์ที่มีหมู่อิมิดาโซลหรือหมู่ฟีนอลิกไฮดรอกซิล

ข. วิธีการเชื่อมด้วยพันธะเปปไทด์ (Peptide binding method) คือ การเชื่อมระหว่างโมเลกุลเอนไซม์และตัวรองรับด้วยพันธะเปปไทด์ ($-CO-NH-$) ซึ่งมี 2 ลักษณะ คือ

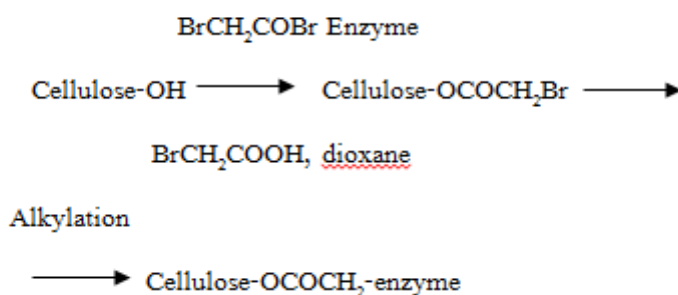
1) ตัวรองรับมีหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) และหมู่อะมิโน (-NH₂) ถูกทำให้เป็นอนุพันธ์ที่ไวต่อปฏิกิริยา เช่น อนุพันธ์ของ Acid azide, อนุพันธ์ของคลอไรด์ไอโซไซยานาต และอนุพันธ์ของคลอไรด์ เป็นต้น แล้วเชื่อมกับหมู่อะมิโนของเอนไซม์ ตัวอย่างปฏิกิริยาที่ตัวรองรับถูกทำให้เป็นอนุพันธ์คลอไรด์ แสดงดังสมการที่ 2



สมการที่ 2 ปฏิกิริยาที่ตัวรองรับถูกทำให้เป็นอนุพันธ์คลอไรด์

2) ใช้สารควบแน่น ได้แก่ คาร์โบไดอิมิด (Carbodiimide) Woodward's reagent K เป็นตัวกลางสร้างพันธะเปปไทด์ เมื่อพันธะเปปไทด์เกิดขึ้นแล้วสารควบแน่นจะถูกปล่อยกลับคืนมาดังเดิม

ค. วิธีการเติมหมู่อัลคิล (Alkylation method) คือ การเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนต์ระหว่างหมู่อะมิโน (Amino group) หมู่ฟีนอลิก (Phenolic) หรือหมู่ซัลไฟดริล (Sulfhydryl group) ของเอนไซม์กับหมู่เฮไลด์ (Halide) ของตัวรองรับแบบ Alkylation แสดงดังสมการที่ 3



สมการที่ 3 ปฏิกิริยาการเติมหมู่อัลคิล (Alkyl)

ปฏิกิริยาข้างต้นนี้ ตัวรองรับที่ไม่ละลายน้ำมีหมู่คาร์บอกซิลผสมรวมกับ สารละลายเอนไซม์ซึ่งมีหมู่อะมิโน (H_2N -enzyme) จากนั้นเติมอะเซทัลดีไฮด์ (Acetaldehyde (CH_3CHO) และ 3-dimethylaminopropylisocyanide กวนสารละลายทั้งหมดเป็นเวลา 6 ชั่วโมงที่ พีเอช 6.5 ซึ่งปรับโดยสารละลายไฮโดรคลอริก 0.5 นอร์มอล (0.5 N HCl) จะได้เอนไซม์ตรึงรูปใน ลักษณะ N-substituted amide

ฉ. วิธีการเชื่อมพันธะโดยการเปลี่ยนหมู่ไทออล (Thiol, -SH) เป็นไดซัลไฟด์ (Disulfide) ซึ่งเป็นวิธีการตรึงรูปแบบแลกเปลี่ยนหมู่ไทออลของเอนไซม์และตัวรองรับซึ่ง การตรึงรูปวิธีนี้ค่อนข้างจำกัดกับเอนไซม์ยูริเอสเท่านั้นเนื่องจากเอนไซม์ยูริเอสมีหมู่ไทออล แต่ ปัจจุบันก็มีการศึกษาการตรึงกับเอนไซม์ที่ไม่มีหมู่ไทออล เช่น แอลฟาอะไมเลส ซึ่งต้องเติมหมู่ ไทออล (Thiolation) ให้กับเอนไซม์ก่อน

ช. วิธีการเชื่อมพันธะกับตัวรองรับด้วยวิธีอื่นๆ ได้แก่

1) การใช้แป้งไดอัลดีไฮด์ (Dialdehyde starch, OHC-starch-CHO) ซึ่งเป็น ตัวรองรับที่มีหมู่อัลดีไฮด์ 2 หมู่ สามารถใช้เป็นตัวรองรับในการจับกับหมู่อะมิโนของเอนไซม์แบบ ปฏิกิริยาซิฟเบส ได้แก่ การตรึงรูปปาเปน

2) การใช้ Poly (4-formylmethoxyphenol) methacrylate) เป็นตัวรองรับที่มี หมู่อัลดีไฮด์ที่ไวต่อปฏิกิริยา จะทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนของเอนไซม์เช่นเดียวกับข้อ ก

3) วิธีการสร้างพันธะกัวอะนินีน (Guanidine)

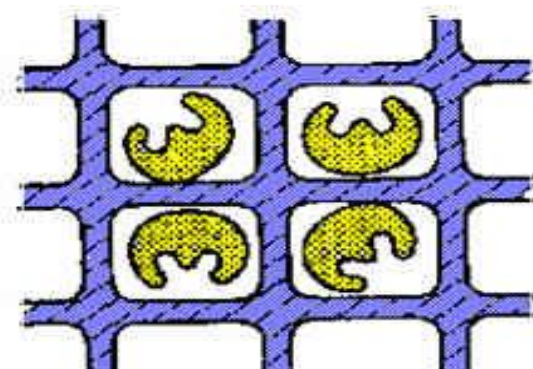
4) วิธีการตรึงรูปเอนไซม์ร่วมกับโคแฟกเตอร์

2. วิธีการเชื่อมขวาง (Cross-linking method) การทำเอนไซม์ตรึงรูปวิธีนี้อาศัย วิธีการสร้างพันธะเคมีเหมือนกับวิธีการสร้างพันธะโควาเลนต์ แต่วิธีนี้ไม่ต้องใช้ตัวรองรับ เอนไซม์ จะถูกตรึงรูปอยู่ได้โดยการสร้างพันธะเชื่อมขวาง (Cross-linkers) ระหว่างโมเลกุลของเอนไซม์ โดย อาศัยสารเชื่อมขวางทำหน้าที่เชื่อมระหว่าง 2 โมเลกุลหรือมากกว่า (Bi-or multifunctional reagents) ซึ่งมีผลให้เอนไซม์หลายโมเลกุลเกาะกลุ่มกัน กลายเป็นโมเลกุลใหญ่ที่ละลายน้ำได้น้อยลง เนื่องจากวิธีการตรึงนี้ก่อให้เกิดพันธะโควาเลนต์ระหว่างโมเลกุลเอนไซม์ ตัวอย่างสารเชื่อมขวาง (Crosslink agent) ได้แก่ กลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) อนุพันธ์ไอโซไซยาเนต (Isothiocyanate derivative) และอนุพันธ์ไอโซไซยาเนต (Isocyanate derivative) และไบซไดอะโซเบนซิดีน (Bisdiazobenzidine) เป็นต้น

3. วิธีการห่อหุ้ม (Entrapping method) เป็นวิธีการตรึงรูปแบบรวมเอนไซม์อิสระ ไว้ในช่องว่างของตาข่ายพอลิเมอร์ (Polymer) หรือห่อหุ้มเอนไซม์อิสระไว้ด้วยเยื่อบางที่ยอมให้ มี สารซึมผ่านได้ (Semipermeable membrane) การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้แตกต่างจากการตรึงเอนไซม์

ด้วยวิธีแบบดูดซับและวิธีเชื่อมขวาง เนื่องจากการตรึงวิธีนี้จะไม่มีการเชื่อมพันธะเคมีใดๆ ระหว่าง เอนไซม์กับพอลิเมอร์ (Polymer) หรือแผ่นเมมเบรน (Membrane) ที่ล้อมรอบเอนไซม์และเอนไซม์ ไม่ได้จับยึดกับตัวพวงหรือจับยึดกันเอง แต่จะถูกขังให้อยู่ในบริเวณที่จำกัด ดังนั้นจึงสามารถใช้ตรึง เอนไซม์ได้ทุกชนิดรวมทั้งเซลล์และองค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ ทั้งที่มีขนาดและคุณสมบัติ แตกต่างกัน การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้ทำให้ความสามารถในการกระตุ้นปฏิกิริยาของเอนไซม์ลดลง เพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับการตรึงเอนไซม์ที่ใช้พันธะทางเคมี ซึ่งการตรึงด้วยวิธีนี้มีอยู่ 2 แบบ คือ

3.1 Enzyme inclusion การตรึงแบบนี้เอนไซม์จะถูกขังหรือห่อหุ้มไว้ ภายในช่องตาข่ายของสารพอลิเมอร์ (Polymer) ที่ไม่ละลายน้ำอย่างสม่ำเสมอ ดังแสดงในภาพที่ 1-1 สารที่ใช้ห่อหุ้มเอนไซม์วิธีนี้อาจเป็นสารพอลิเมอร์ธรรมชาติ (Natural polymer) หรือสารพอลิเมอร์ สังเคราะห์ (Synthetic polymer) ก็ได้ การเตรียมเอนไซม์วิธีนี้จะต้องเลือกชนิดของสารพอลิเมอร์ให้ เหมาะสมกับเอนไซม์ที่ใช้ เนื่องจากสารบางชนิดขณะเกิดเป็นพอลิเมอร์จะมีปฏิกริยารุนแรงจนทำให้เสถียรภาพของเอนไซม์เสียหายไปได้



ภาพที่ 1-1 การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีห่อหุ้มแบบ Enzyme Inclusion

ที่มา : <http://agri.npu.ac.th/publication/>

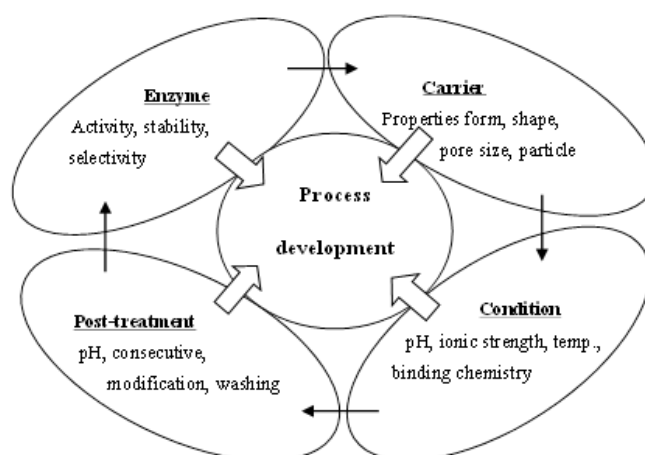
3.2 Micro-capsulation แบบนี้เอนไซม์จะถูกห่อหุ้มไว้ในแคปซูลขนาดเล็กที่มีคุณสมบัติยอมให้สารบางชนิดผ่านเข้า-ออกได้ แต่เอนไซม์ผ่านออกมาไม่ได้ ดังแสดงใน ภาพที่ 1-2 การเตรียมเอนไซม์วิธีนี้จะต้องควบคุมสภาวะที่ใช้ทำปฏิกิริยาขณะเกิดสารพอลิเมอร์ (Polymer) ให้ดี มิฉะนั้นจะมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ (Enzyme activity) ที่ได้



ภาพที่ 1-2 การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีห่อหุ้มแบบ Micro-capsulation

ที่มา: <http://agri.npu.ac.th/publication/>

อย่างไรก็ตามการตรึงเอนไซม์จะต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายๆ ปัจจัยทั้งก่อนและหลังการตรึง เนื่องจากปัจจัยเหล่านี้อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์หลังตรึงรูปทั้งสิ้น ดังภาพที่ 1-3 ที่แสดงถึงภาพรวมของกระบวนการตรึงเอนไซม์ที่ต้องพิจารณาตั้งแต่ตัวเอนไซม์ที่จะใช้ในการตรึง ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (Enzyme activity) ความคงตัว (Stability) และความจำเพาะต่อการทำปฏิกิริยา (Selectivity) ตัวพวงที่ใช้ในการตรึง การปรับสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงเอนไซม์ ตลอดจนขั้นตอนการปฏิบัติที่ถูกต้องเกี่ยวกับการตรึง หลักการตรึงเอนไซม์ เพื่อไม่ให้เอนไซม์ที่ตรึงสูญเสียกิจกรรมหลังการตรึงและมีความคงตัวต่อสภาวะที่จะนำไปใช้ในอนาคต



ภาพที่ 1-3 กระบวนการตรึงเอนไซม์

ที่มา: ดัดแปลงจาก Cao (2005)

1.2.11 พอลิฟีนิลซัลโฟน (Polyphenylsulfone)

พอลิฟีนิลซัลโฟน (Polyphenylsulfone) เป็นพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งที่สูงขึ้นจากมอนอเมอร์ (Monomer) ของไบฟีนอล (Biphenol) ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่ทำให้พลาสติกมีความแข็งแรง ทนทานและคงรูป และ 4,4-ไดคลอโรไดฟีนิลซัลโฟน (4,4-Dichlorodiphenylsulfone) โดยพอลิฟีนิลซัลโฟนจัดเป็นเทอร์โมพลาสติกพอลิเมอร์ที่มีลักษณะโปร่งใส มีความแข็ง เหนียว ทนต่ออุณหภูมิสูงและทนต่อสารเคมี พอลิฟีนิลซัลโฟนที่ใช้ในการศึกษามีชื่อทางการค้าว่า “เรเดลอาร์-พอลิฟีนิลซัลโฟน (RADEL® Polyphenylsulfone,)” ใช้สัญลักษณ์ย่อว่า PPSU มีสูตรโมเลกุลเป็น $(-C_6H_4-4SO_2C_6H_4-4OC_6H_4-4C_6H_4-4O-)_n$ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (Weight average molecular weight) เท่ากับ 63,000 คำนี้น้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 14-20 กรัมต่อ 10 นาที คำนี้น้ำหนักแห้ง n 20/D เท่ากับ 1.672 อุณหภูมิกลาสทรานซิชัน (Glass transition temperature, Tg) 208 องศาเซลเซียส และมีความหนาแน่น 1.29 กรัมต่อมิลลิเมตร ที่ 25 องศาเซลเซียส

1.2.12 การเติมหมู่เอมีนให้กับพอลิฟีนิลซัลโฟน

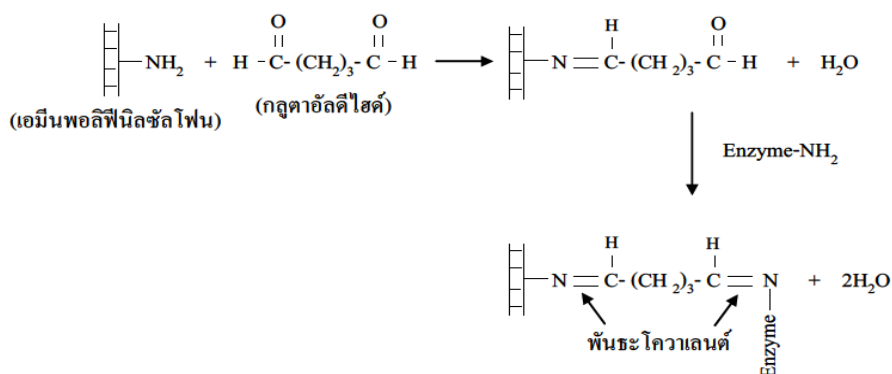
เอมีนพอลิเมอร์มีการใช้งานอย่างแพร่หลาย เช่น การใช้เป็นเรซินแลกเปลี่ยนไอออน (Ion exchange resin) ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย ใช้ในทางเภสัชกรรม เป็นต้น เอมีนพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติสามารถทำหน้าที่เป็นกรด-เบส นิวคลีโอไฟล์ (Nucleophiles) ลิแกนด์ (Ligands) ของโลหะ และสารแลกเปลี่ยนประจุ เอมีนพอลิเมอร์โดยทั่วไป เช่น Polyvinyl amine จะเตรียมได้ยากและการสังเคราะห์มีหลายขั้นตอน ปัจจุบันจึงมีการเติมหมู่เอมีนให้กับพอลิเมอร์เพื่อการประยุกต์ใช้ ซึ่งการเติมหมู่เอมีนให้กับพอลิเมอร์จะประกอบด้วยกระบวนการ 2 ขั้นตอน คือ

1. ขั้นตอนการทำไนเตรชัน เป็นขั้นตอนการเติมหมู่ไนเตรตเข้าไปที่สายโซ่ของพอลิเมอร์ ซึ่งสารที่ใช้ทำปฏิกิริยาไนเตรชัน (Nitrating agent) มักเป็นสารละลายกรดผสมระหว่างกรดไนตริกและกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปฏิกิริยาไนเตรชันนั้นมีประโยชน์มากในการเติมหมู่ไนโตร ($-NO_2$) ให้แก่สารประกอบอะโรมาติกและหมู่ไนโตร ($-NO_2$) นี้สามารถถูกเปลี่ยนเป็นหมู่อะมิโน ($-NH_2$) ได้ด้วยปฏิกิริยารีดักชัน ซึ่งสามารถเปลี่ยนให้เป็นเกลือไดอะโซเนียม และแทนที่ด้วยหมู่ต่างๆ ได้ง่าย ดังนั้น ปฏิกิริยาไนเตรชันจึงเป็นวิธีหนึ่งในการเตรียมอนุพันธ์ของสารประกอบอะโรมาติก โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกที่ไม่มีหมู่แทนที่ใดๆ ซึ่งสารประกอบไนโตรอะโรมาติกที่ได้มักจะเป็นผลึกที่มีจุดหลอมเหลวที่แน่นอน จึงสามารถใช้บ่งบอกชนิดของสารประกอบอะโรมาติกนั้นๆ ได้ เมื่อนำสารประกอบไนโตรอะโรมาติกไปรีดิวซ์ด้วยตัวรีดิวซ์ที่เหมาะสมจะได้อะโรมาติกเอมีนปฐมภูมิ นอกจากนี้การเติมหมู่ไนโตรให้กับพอลิเมอร์จะทำให้วงฟีนิล (Phenyl ring) มีความไวต่อการทำปฏิกิริยากับนิวคลีโอไฟล์ (Nucleophile) อีกทั้งยังทำให้พอลิเมอร์มีค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันเพิ่มขึ้น (Ghosal *et al.*, 2003)

2. ขั้นตอนการทำปฏิกิริยารีดักชัน เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนจากหมูไนเตรตเป็นหมูเอมีน ซึ่งเป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องจากปฏิกิริยาไนเตรชัน ขั้นตอนการเปลี่ยนจากหมูไนเตรตเป็นหมูเอมีนต้องใช้รีดิวซ์เอเจนต์ (Reducing agent) รีดิวซ์เอเจนต์ที่ใช้ได้แก่ ไดมethylฟอร์มเอมายด์ (Dimethylformamide, DMF) ไดมethylอะเซตเอมายด์ (Dimethylacetamide, DMAc) ไดมethylซัลฟอกไซด์ (Dimethylsulfoxide, DMSO) หรือเมทิลไพโรลิโดน (N-methylpyrrolidone, NMP) ซึ่งเมื่อพอลิเมอร์ผ่านการปรับปรุงแล้วจะสามารถนำไปใช้งานได้หลากหลายขึ้น (Jayaswal *et al.*, 2000; Sinha *et al.*, 2002; Pugazhenthii and Kumar 2004; Hill *et al.*, 2006) ทั้งนี้ในงานวิจัยจะใช้พอลิฟีนิลซัลโฟนา มาทำปฏิกิริยาดังกล่าวเพื่อเติมหมูเอมีนและนำไปใช้ในการตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโคเวเลนต์ ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโคเวเลนต์ โดยให้หมูอัลดีไฮด์ที่ปลายข้างหนึ่งของสารเชื่อมขวางที่ใช้ในการตรึงแบบโคเวเลนต์จับกับหมูเอมีนของเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟนา และให้หมูอัลดีไฮด์ของสารเชื่อมขวางที่ปลายอีกข้างหนึ่งจับกับหมูเอมีนของเอนไซม์

1.2.13 การตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยพันธะโคเวเลนต์บนพอลิฟีนิลซัลโฟนา

การตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยพันธะโคเวเลนต์บนพอลิฟีนิลซัลโฟนาจะต้องทำการเติมหมูเอมีนบนพอลิฟีนิลซัลโฟนา ก่อนด้วยการทำปฏิกิริยาไนเตรชัน (Nitration reaction) เพื่อเติมหมูไนเตรตเข้าไปที่สายโซ่พอลิเมอร์ของพอลิฟีนิลซัลโฟนา และทำปฏิกิริยารีดักชัน เพื่อเปลี่ยนหมูไนเตรตเป็นหมูเอมีน เมื่อทำการเติมหมูเอมีนบนพอลิฟีนิลซัลโฟนาเรียบร้อยแล้วจะทำการตรึงเอนไซม์บนเอมีนบนพอลิฟีนิลซัลโฟนา โดยใช้สารเชื่อมขวางเพื่อให้เกิดพันธะโคเวเลนต์ ซึ่งนิยมใช้กลูตารัลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมขวาง (Bryjak 2006; Magnan 2004; Desai 2005; Rocha 1998) โดยที่ปลายทั้งสองข้างจะมีหมูอัลดีไฮด์ ซึ่งหมูอัลดีไฮด์ที่ปลายข้างหนึ่งจะจับกับหมูเอมีนของเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟนาด้วยพันธะโคเวเลนต์และหมูอัลดีไฮด์ที่ปลายอีกข้างหนึ่งจะไปจับกับหมูเอมีนของเอนไซม์ด้วยพันธะโคเวเลนต์เช่นกัน ทำให้เกิดการยึดติดกันกันระหว่างพอลิฟีนิลซัลโฟนาและเอนไซม์ดังภาพที่ 1-4



ภาพที่ 1-4 การตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์โดยใช้กลูตาอัลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมขวาง
ที่มา: อีสลาห์ คีอราแม (2551)

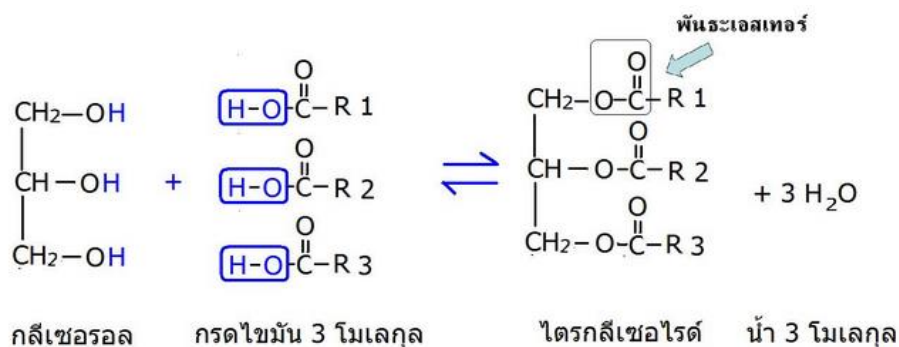
1.2.14 น้ำมันและไขมัน

น้ำมันและไขมันเป็นสารกลุ่มเดียวกันที่เรียกว่า “ลิพิด (Lipid)” โดยทั้งไขมันและน้ำมันเป็นสารที่มีสมบัติใกล้เคียงกัน คือ เป็นสารที่มีองค์ประกอบหลักเป็นธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ซึ่งจะไม่ละลายในน้ำ คือ เมื่ออยู่ในน้ำจะแยกออกจากน้ำเป็นชั้น โดยลอยอยู่บนผิวน้ำ แต่น้ำมันและไขมันจะสามารถละลายได้ดีในสารที่เป็นน้ำมันหรือในสารตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด เช่น แอลกอฮอล์ (Alcohol) เป็นต้น น้ำมันและไขมันเป็นสารประกอบพวกแอลกอฮอล์ (Alcohol) หรือพวกกลีเซอรอล (Glycerol) ร่วมกับกรดไขมันชนิดต่างๆ โดยส่วนที่เป็นของเหลว ณ อุณหภูมิปกติจะเป็นน้ำมันและส่วนที่เป็นของแข็งจะเป็นไขมัน

1.2.15 โมเลกุลและการแตกตัวของน้ำมันและไขมัน

โมเลกุลของน้ำมันและไขมัน ประกอบด้วยกลีเซอริน (Glycerine) 1 โมเลกุล และกรดไขมัน (Fatty acid) 3 โมเลกุล โดยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเอสเทอร์ ดังภาพที่ 1-5 ซึ่งกลีเซอริน (Glycerine) หรือกลีเซอรอล (Glycerol) เป็นสารจำพวกแอลกอฮอล์ (Alcohol) ไม่มีสี ไม่มีกลิ่นและไม่มีรสหวาน มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ ส่วนกรดไขมันเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่ง ประกอบด้วยโซ่คาร์บอนที่มีจำนวนแตกต่างกันและมีหมู่คาร์บอกซิล ($-\text{COOH}$) เป็นหมู่ฟังก์ชัน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) ถ้ากรดไขมันอิ่มตัวมากจะเป็นไขมัน (Lipids) ตัวอย่างกรดไขมันอิ่มตัว เช่น กรดปาล์มิติก (Palmitic acid) กรดลอริก (Lauric acid) กรดไมริสติก (Myristic acid) กรดสเตียริก (Stearic Acid) แต่ถ้ากรดไขมัน

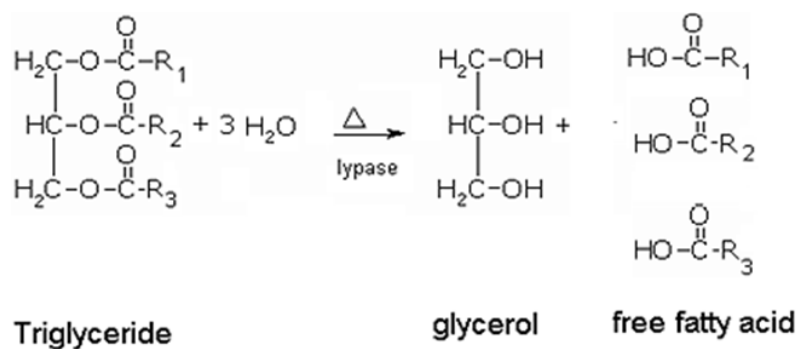
ไม่อิ่มตัวมีมากจะเป็นน้ำมัน เช่น กรดปาล์มิโตเลอิก (Palmitoleic acid) กรดโอเลอิก (Oleic acid) กรดไลโนเลอิก (Linoleic acid) ยังมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากเท่าใด สถานะยิ่งเหลวมากเท่านั้น



ภาพที่ 1-5 ส่วนประกอบของโมเลกุลไขมัน

ที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com/vocab/wordcap/triglyceride>

โมเลกุลของน้ำมันและไขมันเมื่อเกิดการย่อยสลายจะเกิดการแตกตัวเป็น กลีเซอรอล (Glycerol) และกรดไขมัน (Fatty acid) ดังสมการในภาพที่ 1-6



ภาพที่ 1-6 การแตกตัวของน้ำมันและไขมัน

ที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com/vocab/wordcap/triglyceride>

1.2.16 น้ำมันและไขมันในน้ำเสีย

โดยทั่วไปในน้ำเสียจะมีน้ำมันและไขมันเป็นส่วนประกอบอยู่ระหว่าง 1 – 1,480 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นอยู่กับแหล่งที่ผลิตน้ำเสียออกมา (Kramer, 1971) น้ำมันและไขมันที่พบในน้ำเสียนั้นเป็นสารอินทรีย์ที่มีเสถียรภาพและย่อยสลายโดยแบคทีเรียได้ยาก (เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์, 2539) ซึ่งน้ำมันและไขมันประกอบด้วยสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon) กลีเซอไรด์ (Glyceride) สเตียรอยด์ (Steroid) และกรดไขมัน (Fatty acid) ซึ่งกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบไขมันที่พบในน้ำเสียจะมีอยู่ด้วยกัน 2 พวก คือ กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) เช่น กรดสเตียริก (Stearic acid) กรดปาล์มิติก (Palmitic acid) เป็นต้น และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) ซึ่งพบว่าเป็นกรดโอเลอิกถึง 95 เปอร์เซ็นต์ (Kramer, 1971) ซึ่งส่วนประกอบต่างๆ ของไขมันจะไม่ละลายน้ำ จึงทำให้ส่วนประกอบดังกล่าวเกิดการแยกชั้นกับน้ำ

1.2.17 แหล่งที่มาของน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมัน

น้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันสามารถแบ่งแหล่งที่มาได้ 2 แหล่งใหญ่ คือ

1. น้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันจากแหล่งชุมชน น้ำมันและไขมันเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่พบในน้ำเสียชุมชน โดยน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันจากแหล่งชุมชนจะมีปริมาณน้ำมันและไขมันร้อยละ 10 ของปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมด (กรมควบคุมมลพิษ, 2546) น้ำเสียชุมชนที่มีน้ำมันและไขมันปนเปื้อนส่วนใหญ่มักมาจากกิจกรรมการประกอบอาหาร กิจกรรมการซักล้าง และสถานบริการน้ำมัน เป็นต้น (กรมควบคุมมลพิษ, 2551)

2. น้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โรงงานอาหารแช่แข็ง โรงงานอาหารแปรรูป โรงงานผลิตอาหารสัตว์ โรงงานสกัดน้ำมันพืช โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โรงงานทำสบู่ และโรงงานผลิตเครื่องหนัง เป็นต้น ซึ่งน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันที่มีแหล่งกำเนิดมาจากโรงงานอุตสาหกรรมจะมีปริมาณน้ำมันและไขมันปนเปื้อนอยู่ในปริมาณที่สูง จึงมักมีปัญหาสำคัญในการกำจัดไขมันออกจากน้ำทิ้ง เนื่องจากไขมันจะแผ่ปกคลุมผิวน้ำน้ำเสมอ มีผลทำให้ออกซิเจนไม่สามารถละลายสู่น้ำได้ ก่อให้เกิดภาวะขาดออกซิเจน เกิดกลิ่นเหม็นและยังทำให้ประสิทธิภาพของระบบการบำบัดน้ำเสียลดลงอีกด้วย (ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล, 2552)

1.2.18 ประเภทของน้ำมันและไขมันในน้ำเสีย

น้ำมันและไขมันในน้ำเสียสามารถแบ่งออกเป็นประเภทต่างๆ ได้หลายประเภท โดยอาศัยหลักการต่างๆ มากมาย แต่ส่วนใหญ่มักใช้การแบ่งโดยใช้หลักเกณฑ์ของความสามารถในการย่อยสลายทางชีววิทยา (Biodegradability) ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ ย่อยสลายทางชีวภาพได้กับย่อยสลายทางชีวภาพไม่ได้ โดยน้ำมันและไขมันในน้ำเสียที่มาจากอุตสาหกรรมอาหารจะสามารถ

ย่อยสลายได้ทางชีวภาพและจะกลายเป็นสารอินทรีย์ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ ส่วนของเสียที่มาจากปิโตรเลียมหรือแหล่งแร่ธาตุจะไม่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้และใช้การแบ่งโดยใช้ลักษณะทางฟิสิกส์ของน้ำมันและไขมัน ซึ่งจะแบ่งเป็น 2 ชนิดเช่นกัน คือ ไขมันที่ไม่ลอยตัวกับไขมันลอยตัว โดยไขมันที่ลอยตัวมักจะพบได้โดยทั่วไปแต่ก็ไม่พบในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม เนื่องจากมักจะไปสะสมอยู่ในท่อน้ำเสียและเป็นสาเหตุให้เกิดการอุดตัน ส่วนไขมันที่ไม่ลอยตัวมักจะถูกแยกออกในกระบวนการตกตะกอนเบื้องต้นในระบบบำบัดน้ำเสียและถูกกำจัดออกโดยการตัดออกหรือการดูดซับ (Adsorption)

1.2.19 สถานะของน้ำมันและไขมันในน้ำเสีย

สถานะของน้ำมันและไขมันในน้ำเสียมียหลายสถานะ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆ ปัจจัย เช่น อุณหภูมิของน้ำเสีย กรรมวิธีการผลิตของอุตสาหกรรมที่แตกต่างกัน เป็นต้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท (มันตินและมันรัศย์ ตันทุลเวศม์, 2551) ดังต่อไปนี้

1. **น้ำมันละลายน้ำ** โดยทั่วไปมักคิดและเข้าใจกันว่าน้ำมันไม่เข้ากับน้ำหรือน้ำมันไม่ละลายน้ำ แท้ที่จริงแล้วน้ำมันสามารถละลายในน้ำได้ ความสามารถในการละลายน้ำขึ้นอยู่กับลักษณะสมบัติประจำตัวของน้ำมัน ไฮโดรคาร์บอนที่ระเหยได้ง่าย (มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ) มักละลายได้ในน้ำ โมเลกุลที่ไม่อิมตัวโดยเฉพาะอย่างยิ่งไฮโดรคาร์บอนที่มีวงแหวนเบนซินจะละลายน้ำได้ดี น้ำมันที่ละลายน้ำมักจะมองไม่เห็นด้วยตาเปล่าแต่อาจรู้ได้โดยการดม นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันละลายน้ำมักเป็นพิษและเป็นสาเหตุให้เกิดมะเร็ง

2. **น้ำมันลอยบนผิวน้ำ** น้ำมันหรือไฮโดรคาร์บอนส่วนใหญ่มักมีความหนาแน่นต่ำกว่าน้ำจึงเป็นเรื่องปกติที่มักพบว่าน้ำมันลอยอยู่เหนือผิวน้ำในลักษณะเป็นฝ้าหรือฟิล์ม ซึ่งน้ำมันประเภทนี้จะขวางกั้นการถ่ายเทออกซิเจนลงสู่แหล่งน้ำหรือบดบังแสง โดยน้ำมันเพียงเล็กน้อยก็สามารถสร้างฟิล์มปิดพื้นที่ผิวน้ำได้มากมาย เนื่องจากฟิล์มเหล่านี้มักเป็น โมเลกุลเดี่ยว โดยเฉพาะน้ำมันที่มีความหนืดต่ำ

3. **น้ำมันในรูปอิมัลชันที่ไม่มีสารลดแรงตึงผิว (Surfactant)** น้ำมันที่อยู่ในรูปของอิมัลชัน (Emulsion) เป็นน้ำมันที่มีอนุภาคขนาดเล็กคล้ายคอลลอยด์ (Colloid) ดังนั้นจึงมองเห็นเป็นความขุ่นในน้ำ ทั้งนี้ไขมันละลายน้ำหรือลอยน้ำอาจกลายเป็นน้ำมันที่อยู่ในรูปของอิมัลชันได้เมื่อถูกกระทำด้วยแรงภายนอก เช่น ถูกอัดหรือบด เป็นต้น ขนาดของเม็ดน้ำมันที่พบจะมีตั้งแต่เล็กกว่า 20 ไมครอนจนถึงขนาดใหญ่กว่า 100 ไมครอน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประเภทของไฮโดรคาร์บอน ถ้าไฮโดรคาร์บอนที่มีแรงตึงผิวสูงจะมีขนาดใหญ่ ส่วนเม็ดน้ำมันที่มีขนาดเล็กจะเป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีแรงตึงผิวต่ำ ในกระบวนการกลั่นน้ำมันจะพบได้ทั้งน้ำมันอิสระและน้ำมัน

อิมัลชัน เช่น ในกระบวนการกำจัดสารละลายเกลือแร่ออกจากน้ำดิบจะต้องล้างน้ำมันดิบด้วยน้ำ และมีการผสมส่งผลให้เกิดอิมัลชันในน้ำที่ใช้ล้าง น้ำเสียที่เกิดขึ้นจึงปนเปื้อนน้ำมันในรูปอิมัลชันที่ต้องกำจัดออก ซึ่งการกำจัดน้ำมันอิมัลชันออกจากน้ำเสียนั้นสามารถทำได้ด้วยวิธีที่คล้ายกับการกำจัดตะกอนแขวนลอย เช่น การตกตะกอนที่ใช้หรือไม่ใช้สาร โคลแอกกูเลชัน (Coagulation)

4. น้ำมันในรูปอิมัลชันที่มีสารลดแรงตึงผิว (Surfactant) ในโรงงานอุตสาหกรรมบางประเภทมีการใช้สารซักฟอกในงานชำระล้างน้ำมัน ลักษณะของน้ำมันที่พบในน้ำจึงอาจมีสารลดแรงตึงผิวละลายปนอยู่ด้วย เมื่อน้ำมันอิมัลชันชนิดนี้เป็นเมื่อน้ำมันที่มีความคงตัวสูงมาก ทำให้น้ำมันชนิดนี้แยกออกจากน้ำเสียได้ยาก สาเหตุที่อิมัลชันมีความคงตัวมากเนื่องจากสารลดแรงตึงผิวหรือสารซักฟอกทำให้เมื่อน้ำมันมีประจุชนิดเดียวกันและลดแรงตึงผิวของเมื่อน้ำมันทำให้เมื่อน้ำมันมีขนาดอนุภาคเล็กมากจนแยกออกจากน้ำได้ยาก

1.2.20 ผลกระทบจากน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมัน

น้ำมันและไขมันที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสีย หากถูกระบายลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติโดยไม่ได้ผ่านการบำบัดจะก่อให้เกิดผลกระทบต่อคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำ เนื่องจากไขมันและไขมันจะลอยปิดผิวหน้าของพื้นผิวน้ำ ทำให้ออกซิเจนในอากาศไม่สามารถละลายและถ่ายเทลงสู่ผิวน้ำด้านล่างได้ ทำให้ปริมาณออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen) ลดลง ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำ ทั้งพืช สัตว์น้ำและสิ่งมีชีวิตอื่นๆ และนอกจากนี้ยังส่งผลให้แหล่งน้ำและบริเวณโดยรอบเกิดความเสื่อมโทรมได้และก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมโดยรอบขยายเป็นบริเวณกว้างขึ้น นอกจากนี้ไขมันและน้ำมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียยังไปขัดขวางการทำงานของโครงสร้างของระบบบำบัดน้ำเสีย ทำให้เกิดการอุดตันและขัดขวางการทำงานของระบบ น้ำมันและไขมันที่ตกตะกอนลงก้นบ่อหรือสระน้ำของระบบบำบัดอาจไปยับยั้งการย่อยสลายตามปกติของจุลินทรีย์ก้นบ่อได้ ซึ่งเป็นสาเหตุให้ระบบบำบัดน้ำเสีย มีประสิทธิภาพต่ำกว่าที่ได้รับการออกแบบไว้

1.2.21 น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเป็นน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มซึ่งจะมาจาก 2 ขั้นตอน คือ น้ำเสียจากหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Sterilizer condensate) และน้ำเสียจากเครื่องดีเคนเตอร์ (Decanter) หรือเครื่องแยก (Separator) โดยน้ำเสียที่เกิดจากหม้อนึ่งฆ่าเชื้อจะมีประมาณ 200 ลิตรต่อ 10 ตันทลายปาล์ม หรือ 10% ของน้ำมันที่ผลิตได้ ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 2 (ปริมาตรโดยน้ำหนัก) ของทะลายปาล์มน้ำมัน (พูนสุข ประเสริฐสรรพ และคณะ, 2533)

จุฬารัตน์ หนูสุข (2546) กล่าวว่า น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มจะมาจากแหล่งกำเนิด 5 แหล่งใหญ่ คือ น้ำเสียจากการอบทะลายปาล์มด้วยไอน้ำ น้ำส่วนนี้แม้จะมีน้ำมันอยู่

แต่มีปริมาณสารแขวนลอยต่ำและไม่มีสภาพเป็นอิมัลชัน (Emulsion) น้ำเสียจากการแยกน้ำและกากตะกอน (Sludge) ออกจากน้ำมัน น้ำเสียส่วนนี้เกิดขึ้นมากที่สุดและเป็นน้ำเสียที่มีของแข็งแขวนลอยปริมาณมาก น้ำเสียจากการล้างทำความสะอาดเครื่องมือต่างๆ เครื่องมือที่ต้องทำความสะอาดบ่อย ได้แก่ เครื่องแยกกรวดทราย ต้องทำการล้างทุกครึ่งชั่วโมงใช้น้ำในการล้างประมาณ 0.05-0.1 ลูกบาศก์เมตร เครื่องแยกน้ำและกากตะกอน (Sludge) ออกจากน้ำมันซึ่งเมื่อใช้งานไประยะหนึ่งต้องมีการล้างทำความสะอาด โดยจะมีน้ำทิ้งเกิดขึ้นครั้ง 0.2-0.5 ลูกบาศก์เมตร เครื่องแยกเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge) ต้องทำการล้างทุกๆ 20-30 นาที ในการล้างจะใช้น้ำครั้งละประมาณ 0.05-0.06 ลูกบาศก์เมตร นอกจากนี้ยังต้องล้างทำความสะอาดพื้น ถังพักและภาชนะต่างๆ อีกด้วย น้ำเสียจากการหล่อเย็นหม้อต้ม ไอ่น้ำและเครื่องระเหย เป็นน้ำเสียที่มีปริมาณของแข็งแขวนลอยต่ำมากและยังสะอาดอยู่ ส่วนใหญ่จะมีการหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่และน้ำเสียจากกากตะกอน (Sludge) ที่มาจากเครื่องแยกเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge)

1.2.22 ลักษณะของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มจะมีลักษณะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับแหล่งกำเนิดหรือแหล่งที่มา ซึ่งได้แก่ น้ำเสียจากบ่อรวบรวมน้ำเสีย น้ำเสียจากหม้อน้ำมาเชื้อและน้ำเสียจากเครื่องเหวี่ยง (Centrifuge) หรือเครื่อง Decanter พูนสุข ประเสริฐธรรม์ และคณะ (2533) รายงานว่า ลักษณะน้ำเสียส่วนใหญ่จากบ่อรวบรวมน้ำเสียจะมีค่าบีโอดี 57.38 กรัมต่อลิตร มีค่าซีโอดี 73.23 กรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด 68.98 กรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย 35.25 กรัมต่อลิตร น้ำมัน 1.23 กรัมต่อลิตร ซึ่งเฉลี่ยจะสูงกว่าน้ำทิ้งจากเครื่อง Decanter คือ น้ำเสียจากเครื่อง Decanter มีค่าต่างๆ เฉลี่ยเท่ากับ 33.19, 52.91, 23.63, 11.60 และ 0.005 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่น้ำทิ้งจากเครื่อง Condensate มีค่าซีโอดี 75.60 กรัมต่อลิตร และของแข็งทั้งหมด 72.56 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าน้ำเสียจากบ่อบำบัดน้ำเสียรวม แสดงในตารางที่ 1-2

ตารางที่ 1-2 ลักษณะของน้ำเสียในขั้นตอนต่างๆในการสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียรวมของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

พารามิเตอร์	น้ำเสียรวม	น้ำเสียจากหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ	น้ำเสียจากเครื่อง Decanter
สี	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาล	น้ำตาลดำ
พีเอช	4.05-4.62	4.84-5.35	4.61-4.89
บีโอดี	54,750-60,000	22,800-41,985	21,000-45,375
ซีโอดี	80,523-115,934	45,360-80,146	38,246-67,567
กรดระเหย	3,128-5,870	998-7,125	1,838-2,773
สภาพความเป็นด่าง	68-200	3.75-1.576	86.5-480
น้ำมัน	16-2,449	20.9-1,103	4.7
ของแข็งทั้งหมด	49,053-88,508	26,367-76,733	25,634-47,242
ของแข็งระเหยง่าย	42,063-81,872	24,415-67,635	23,056-39,617
ของแข็งแขวนลอย	18,500-52,000	2,600-6,100	2,900-20,300
ไนโตรเจน			
- แอมโมเนีย	27-61	7.7-66.3	22.8-23.0
- สารอินทรีย์	551-1,172	22.4-1,287	518.5

หมายเหตุ หน่วยทุกหน่วยมีค่าเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรยกเว้นสีและค่าพีเอช

ที่มา: คัดแปลงมาจากพูนสุข ประเสริฐสรรพ และคณะ (2533)

อรัญ หันพงษ์กิตติกุล และคณะ (2537) ศึกษาลักษณะน้ำเสียจากการผลิตต่างๆของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 4 โรงงาน พบว่าลักษณะน้ำเสียจากแต่ละโรงงานจะขึ้นอยู่กับขั้นตอนการผลิตต่างๆ ของโรงงาน ซึ่งจากการศึกษาพบว่า น้ำเสียจากหม้อนึ่งฆ่าเชื้อจะมีปริมาณสารแขวนลอยต่ำ เฉลี่ย 10.30 กรัมต่อลิตร และมีน้ำมันค่อนข้างสูงเฉลี่ย 14.57 กรัมต่อลิตร น้ำเสียจากเครื่องแยก (Separater) มีน้ำมันอยู่ 12.78 กรัมต่อลิตร ในขณะที่น้ำเสียจากเครื่องดีแคนเตอร์ (Decanter) มีน้ำมัน 15.21 กรัมต่อลิตร น้ำเสียจากบ่อกักน้ำทิ้งรวมและน้ำเสียจากบ่อดักน้ำมันสุดท้ายมีน้ำมัน 9.45 และ 11.36 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยเฉลี่ยโรงงานสกัดน้ำมันที่สำรวจมีปริมาณน้ำเสีย 0.87 ลูกบาศก์เมตรต่อตันทะลายปาล์มสด ซึ่งมีค่าซีโอดี บีโอดี สารแขวนลอยและ

น้ำมันเท่ากับ 52.45, 26.59, 12.84 และ 8.72 กิโลกรัมต่อตันทะลายปาล์มสด ตามลำดับ ซึ่งรายละเอียดแสดงในตารางที่ 1-3

ตารางที่ 1-3 ลักษณะน้ำเสียโดยเฉลี่ยจากโรงงานน้ำมันปาล์ม 4 โรงงาน

Mills	pH	Temp	COD	BOD	COD/BOD	SS	O&G
Asian Palm Oil Company Ltd. ^a	4.65	64.9	113,960	59,389	1.94	26.30	14.70
Southern Palm Oil Company Ltd. ^b	4.58	64.9	68,344	30,704	2.29	20.80	7.60
Siam Palm Oil and industry Company Ltd. ^c	4.67	63.4	42,644	21,450	2.00	5.20	14.20
United Palm Oil Industry Company Ltd. ^b	4.53	54.1	57,641	29,100	1.98	1.98	7.70
Mean	4.61	66.3	70,647	35,160	2.05	17.50	11.10
Std. Deviation	0.06	3.70	26,249	14,149	0.14	7.80	3.40

หมายเหตุ a-using decanter, b-using separator and decanter, c- using separator

ที่มา: คัดแปลงจาก อนุรักษ์ หันพวงศักรัตติกุล และคณะ (2537)

1.2.23 ปริมาณน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

อนุรักษ์ หันพวงศักรัตติกุล และคณะ (2537) ศึกษาการแยกน้ำมันออกจากน้ำเสียที่เกิดขึ้นจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 4 โรงงาน ซึ่งพบว่าในจำนวนโรงงานทั้ง 4 โรงงานมีการแยกน้ำมัน 3 แบบ คือ การแยกน้ำมันโดยใช้เครื่องดีเคนเตอร์ (Decanter) การแยกน้ำมันจากตะกอนสลัดจ์โดยใช้เครื่องแยก (Separator) และการแยกน้ำมันโดยใช้เครื่องแยกร่วมกับดีเคนเตอร์ (Decanter) พบว่าโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ใช้ Decanter ในการแยกน้ำมันโดยตรงจะมีปริมาณน้ำเสียน้อยที่สุด คือ 0.44 ลูกบาศก์เมตรต่อตันทะลายปาล์มสด ในขณะที่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ใช้ Separator หรือใช้ Separator ร่วมกับ Decanter มีปริมาณน้ำเสีย 0.90-1.81 ลูกบาศก์เมตรต่อตันทะลายปาล์มสด ทั้งนี้เนื่องจากการแยกน้ำมันโดยใช้เครื่อง Decanter มีการผสมน้ำในปริมาณน้อยมากประมาณ 1 ลูกบาศก์เมตรต่อตันทะลายปาล์มสด ในขณะที่การแยกน้ำมันจากน้ำและตะกอนสลัดจ์โดยใช้เครื่อง Separator หรือใช้ Separator ร่วมกับ Decanter ต้องมีถังลอย ซึ่งต้องเติมน้ำเพื่อให้ไขมันแยกตัวออกจากสารแขวนลอย ส่วนตะกอนสลัดจ์ที่จมอยู่ก่อนสามารถแยกโดยใช้ Separator ร่วมกับ Decanter แต่ต้องเติมน้ำเข้าไป

1.2.24 น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลส่วนใหญ่เกิดขึ้นจากขั้นตอนการล้างไบโอดีเซล เพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน เช่น สบู่ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ กรดไขมันอิสระหรือน้ำมัน กลีเซอรอลที่ละลายอยู่ในชั้นเมทิลเอสเทอร์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นต้น (คารินทร์ ภูกิจงาม, 2551) ซึ่งโดยปกติใช้น้ำล้างในอัตราส่วนระหว่างน้ำสะอาดต่อปริมาณน้ำมันไบโอดีเซลในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร ดังนั้นปริมาณน้ำเสียที่เกิดขึ้นจะเท่ากับปริมาณน้ำมันไบโอดีเซล น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีสภาพเป็นอิมัลชัน (Emulsion) เนื่องจากการปนเปื้อนสบู่ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน (Saponification reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาข้างเคียงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิต (Gerpen *et al.*, 2004) และสบู่เป็นสารลดแรงตึงผิว (Surfactant) สามารถรวมตัวกับไขมันและน้ำมันกลายเป็นโครงสร้างที่เรียกว่าไมเซลล์ (Micelle) ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ ส่วนที่ไม่ชอบน้ำไว้หันเข้าด้านใน และเอาส่วนที่ชอบน้ำไว้ด้านนอกเพื่อสัมผัสกับน้ำ (Wade, 2003; Jones, 2005) สารดังกล่าวสามารถแขวนลอยอยู่ในน้ำเกิดการตกจมหรือลอยแยกออกจากน้ำได้ยาก เป็นผลทำให้น้ำเสียมีสภาพเป็นอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (Zaki, 1997; Ichikawart *et al.*, 2006; Calderon and Schmitt, 2008)

น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลเป็นน้ำเสียมีปริมาณน้ำมันและไขมันอยู่สูงมาก (จารุวรรณี เรืองคง และคณะ, 2551; เอนก สภาวะอินทร์, 2552; Suehara *et al.*, 2005) ทำให้ปริมาณสารอินทรีย์ทั้งในรูปของ COD และ BOD มีปริมาณสูงขึ้นไปด้วย เนื่องจากไขมันและน้ำมันเป็นสารอินทรีย์ (Wade, 2003; Jones, 2005) นอกจากน้ำมันและไขมันแล้วยังมีองค์ประกอบอื่นๆ อีก เช่น ของแข็งทั้งหมด ของแข็งแขวนลอย กรดไขมันระเหยง่าย คาร์บอนไนโตรเจน เมทานอล เป็นต้น (จารุวรรณี เรืองคง และคณะ, 2551; Suehara *et al.*, 2005) ซึ่งลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลแสดงดังตารางที่ 1-4

ตารางที่ 1-4 ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

พารามิเตอร์	ค่าจากการวิเคราะห์	หน่วย
pH	8.40-8.59	-
COD	175,000-545,000	mg/L
BOD	105,000-300,000	mg/L
Total Solid	15,750-49,050	mg/L
Suspended Solid	10,224-28,790	mg/L
Grease and Oil	37,580-44,330	mg/L
Volatize Fatty Acid	200-400	mg/L as CaCO ³
Alkalinity	350-450	mg/L as CaCO ³
Nitrogen	268-420	mg/L
Methanol	7,690-7,940	mg/L
ที่มา: จารุวรรณิ เรืองคง และคณะ (2551)		
Grease and Oil	7,00-1,5000	mg/L
COD	60,000-150,000	mg/L
BOD	30,000-60,000	mg/L
Suspended Solid	1,500-5,000	mg/L
ที่มา: เอนก สภาวะอินทร์ (2552)		
pH	11	-
Grease and Oil	15,100	mg/L
Carbon	14,800	mg/L
Nitrogen	64.7	mg/L
Solid content	2,670	mg/L
ที่มา: Suehara <i>et al.</i> (2005)		

1.2.25 กลไกการย่อยไขมันของเอนไซม์ไลเปส

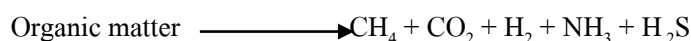
เอนไซม์ไลเปสจะทำปฏิกิริยากับไขมัน โดยการย่อยสลายไขมันหรือไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นอาจเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์หรือไม่สมบูรณ์ก็ได้ ในกรณีที่การย่อยสลายเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ไตรกลีเซอไรด์จะถูกย่อยเป็นกรดไขมันกับโมโนกลีเซอไรด์หรือไดกลีเซอไรด์

ก็ได้ ซึ่งเป็นสารประกอบที่ไม่คงตัว ถ้าบ่มไว้เป็นเวลาก็เกิดการย้ายหมู่เอซิล แล้วต่อมาก็จะถูกย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ได้เป็นกรดไขมันอิสระกับกลีเซอรอล ซึ่ง โมโนกลีเซอไรด์หรือไดกลีเซอไรด์มีประโยชน์ในการนำไปใช้เป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ในผลิตภัณฑ์อาหาร ยา และเครื่องสำอาง แต่ถ้าเกิดการย่อยอย่างสมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันแต่อาจพบไดกลีเซอไรด์และโมโนกลีเซอไรด์เป็นอินเตอร์มีเดียท (Intermediate) ในปฏิกิริยาได้

1.2.26 กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศ

การย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศเป็นกระบวนการทางชีววิทยาของแบคทีเรียในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเพื่อเปลี่ยนสารอินทรีย์เป็นก๊าซมีเทน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซอื่นๆ ดังแสดงในสมการที่ 6 ซึ่งกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศจะมีแบคทีเรียที่สำคัญทำงานร่วมกันอยู่ 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรียกลุ่มสร้างกรด (Acidogenic bacteria) และแบคทีเรียสร้างมีเทน (Methanogenic bacteria)

Anaerobic digestion



สมการที่ 6 การย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศ

การย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศมีขั้นตอนการย่อยสลายดังแสดงในภาพที่ 1-7 ซึ่งสามารถแบ่งขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาได้เป็น 4 ขั้นตอน คือ

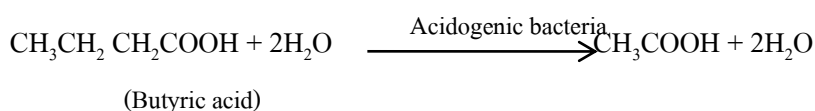
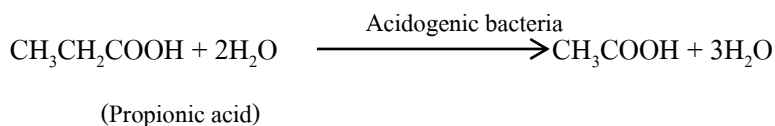
ขั้นตอนที่ 1 ขั้นการย่อยสลายสารอินทรีย์ (Hydrolysis) ในขั้นตอนนี้สารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ทั้งที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีนจะถูกแบคทีเรียย่อยสลายให้กลายเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลเล็กละลายน้ำได้ โดยใช้เอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (Extracellular enzyme) ซึ่งความเร็วของกระบวนการย่อยสลายขึ้นอยู่กับเอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกมาจากแบคทีเรีย ความเข้มข้นของสารอินทรีย์ ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ถูกปล่อยออกมา อุณหภูมิ รวมถึงการสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับสารอินทรีย์ เป็นต้น

ขั้นตอนที่ 2 ขั้นการหมักกรดอินทรีย์ระเหยง่าย (Acidogenesis) ในขั้นตอนนี้สารอินทรีย์โมเลกุลเล็กซึ่งเป็นสารผลิตภัณฑ์ของการย่อยในขั้นที่ 1 จะถูกเปลี่ยนให้เป็นกรดอินทรีย์ที่ระเหยง่าย เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดโพรไพโอนิก (Propionic acid) กรดวาเลอริก (Valeric acid) และกรดแลคติก (Lactic acid) โดยแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรด ทั้งนี้กรดที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่จะเป็นกรดอะซิติก นอกจากนี้จะมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) และไฮโดรเจน

(H₂) เกิดขึ้นด้วย โดยชนิดของแบคทีเรียสร้างกรดจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสารอินทรีย์ ความเข้มข้นของสารอินทรีย์นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมของปฏิกิริยาดัง

ขั้นตอนที่ 3 ขั้นการเปลี่ยนกรดอินทรีย์ระเหยง่ายเป็นกรดอะซิติก

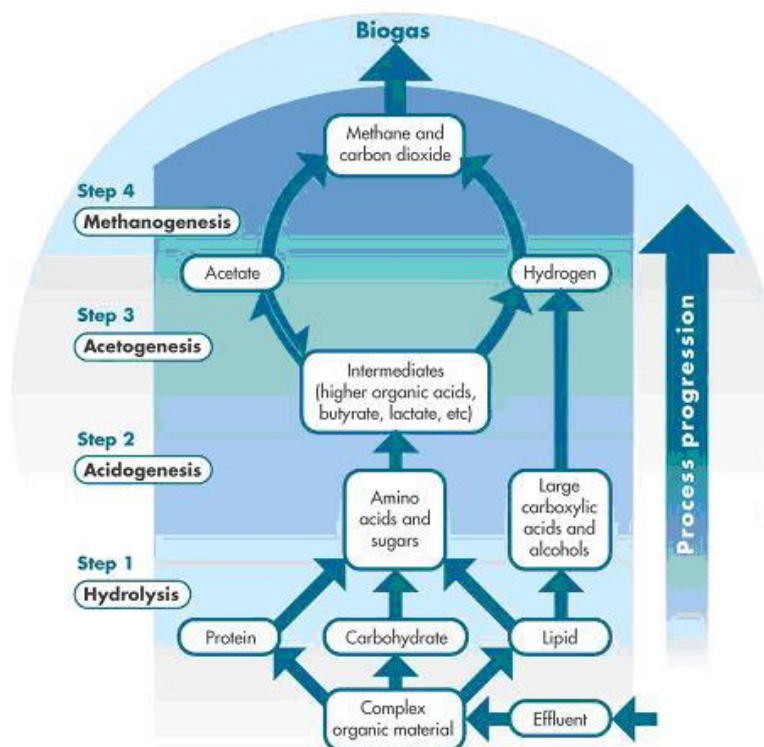
(Acetogenesis) ขั้นตอนนี้กรดอินทรีย์ระเหยง่ายที่เกิดขึ้นจากกระบวนการอะซิโดเจเนซิส (Acidogenesis) จะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก (Acetic acid) โดยแบคทีเรียโฮโมอะซิโตเจนิค (Homoacetogenic bacteria) ดังสมการที่ 7 และ 8 และนอกจากนี้ยังเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) และก๊าซไฮโดรเจน (H₂) ด้วย ซึ่งเป็นสารประกอบสำคัญในการสร้างก๊าซมีเทน แต่หากก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นมีปริมาณมากเกินไปจะมีผลในการยับยั้งกระบวนการสร้างก๊าซมีเทนได้เช่นกัน



สมการที่ 7 และ 8 การเปลี่ยนกรดอินทรีย์ระเหยง่ายเป็นกรดอะซิติก

ขั้นตอนที่ 4 ขั้นการสร้างก๊าซมีเทน (Methanogenesis) ขั้นตอนนี้

ผลิตภัณฑ์จากขั้นตอนการสร้างกรด คือ กรดอะซิติก ก๊าซไฮโดรเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จะถูกใช้เพื่อสร้างก๊าซมีเทน โดยแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างก๊าซมีเทน (Methanogenic bacteria) ก๊าซที่สำคัญ ได้แก่ ก๊าซมีเทน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจน ทั้งนี้การสร้างก๊าซมีเทนมีได้ 2 แบบ แบบแรกจะเกิดจากการเปลี่ยนกรดอะซิติกเป็นก๊าซมีเทน โดยคิดเป็น 70% ของก๊าซมีเทนที่เกิดขึ้นได้ในระบบ อีกแบบหนึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนให้กลายเป็นก๊าซมีเทน ซึ่งแบคทีเรียที่เป็นตัวสร้างมีเทนเจริญเติบโตได้ช้าและสภาพแวดล้อมมีผลต่อการเจริญเติบโตค่อนข้างมาก ช่วงค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของแบคทีเรียแคบ สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงพีเอชประมาณ 6.8-7.2 นอกจากนี้อุณหภูมิก็มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตเช่นกัน อีกทั้งแบคทีเรียในกลุ่มนี้ต้องการสารอาหารที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อนในการดำรงชีพ ดังนั้นการเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นตัวสร้างมีเทนจึงขึ้นอยู่กับการทำงานของแบคทีเรียในขั้นตอนไฮโดรไลซิสและการสร้างกรด โดยต้องทำงานอย่างสัมพันธ์กัน



ภาพที่ 1-7 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศ

ที่มา: http://www.em-group.co.th/Technology_Theory%20of%20Biogas.html

1.2.27 ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศ

กระบวนการหมักแบบไร้อากาศอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ 2 กลุ่มที่มีความเกี่ยวข้องกันในการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ 2 กลุ่มนี้ คือ กลุ่มจุลินทรีย์ผลิตกรดและกลุ่มจุลินทรีย์ผลิตมีเทน ซึ่งหากเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นในจุลินทรีย์กลุ่มใดกลุ่มหนึ่งย่อมส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการทำงานของทั้งระบบ ดังนั้นการควบคุมสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการทำงานและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มนี้จึงมีความจำเป็นเพื่อให้กระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศดำเนินไปอย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบไร้อากาศ ได้แก่ อุณหภูมิ (Temperature) พีเอช (pH) สภาพความเป็นด่าง (Alkalinity) กรดระเหยง่าย (Volatile Fatty Acid) สารอาหารเสริม (Nutrient) สารพิษ (Toxic substance) อัตราส่วน C/N (C/N Ratio) อัตราการป้อนสารอินทรีย์ (Organic loading rate) ระยะเวลาที่กักเก็บ (Hydraulic retention time) และการกวนหรือการคลุกเคล้า (Mixing) เป็นต้น

1. อุณหภูมิ (Temperature) อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมการทำงานและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดสามารถทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แบ่งได้เป็น 3 ช่วงอุณหภูมิคือ ช่วงอุณหภูมิต่ำ (Psychrophilic) 10-30 องศาเซลเซียส ช่วงอุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic) 20-45 องศาเซลเซียส ช่วงอุณหภูมิสูง (Thermophilic) 35-75 องศาเซลเซียส (Zhanzhao, 2012) สำหรับจุลินทรีย์ในระบบไร้อากาศจะสามารถทำงานและเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิปานกลางและช่วงอุณหภูมิสูง แต่ในช่วงอุณหภูมิสูงสามารถทำงานได้ดีกว่าในช่วงอุณหภูมิปานกลางคือ ในช่วงอุณหภูมิสูงอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเร็วกว่า ประสิทธิภาพการย่อยสารอินทรีย์ดีกว่าและอัตราการผลิตมีเทนจะสูงกว่าในช่วงอุณหภูมิปานกลาง (Zabranska *et al.*, 1999) นอกจากนี้ที่อุณหภูมิสูงยังสามารถลดความเข้มข้นของปรสิตและเชื้อก่อโรคได้ด้วย (Oropeza *et al.*, 2000) แต่อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิสูงมากๆ ก็มีโอกาสดังกล่าวเกิด Thermal shock ได้มากกว่าในช่วงอุณหภูมิปานกลาง (Zhanzhao, 2012) จะเห็นได้ว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมี อัตราการทำงานและอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นแต่ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นสูงเกินไปอัตราการการทำงานและอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จะลดลงหรือหยุดชะงักได้ ดังนั้นการควบคุมอุณหภูมิให้สม่ำเสมอจึงมีความสำคัญมากกว่าการควบคุมให้ระบบมีอุณหภูมิอยู่ในจุดที่ให้อัตราการย่อยสลายสูงสุด โดยทั่วไปจึงมักจะออกแบบให้จุลินทรีย์ในระบบทำงานในช่วงอุณหภูมิปานกลางและป้องกันไม่ให้อุณหภูมิของระบบเปลี่ยนแปลงมากกว่า 10 องศาเซลเซียสต่อวัน (เฉลิมเดช ณ ลำพูน, 2553 อ้างถึงโดย เมธิยา หมวดฉิม, 2555)

2. พีเอช (pH) พีเอชในระบบไร้อากาศเป็นค่าที่แสดงให้เห็นถึงผลที่จะกระทบต่อการทำงานของจุลินทรีย์โดยเฉพาะจุลินทรีย์กลุ่มผลิตมีเทน (Methanogens) เนื่องจากจุลินทรีย์กลุ่มนี้มีความไวต่อค่าพีเอชเป็นอย่างมาก ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มผลิตมีเทนสามารถทำงานได้ดีในช่วงพีเอช 6.7-7.4 แต่ค่าพีเอชที่เหมาะสมที่สุดจะอยู่ในช่วง 7.0-7.2 โดยประสิทธิภาพของระบบจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อพีเอชมีค่าต่ำกว่า 6.0 ส่วนจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดจะทำงานได้ดีในช่วงพีเอช 4.0-6.5 (Speece, 1996) นอกจากนี้ค่าพีเอชยังสามารถส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์กลุ่มผลิตมีเทน โดยจะส่งผลกระทบต่อความเข้มข้นหรือไอออนของสารต่างๆ เช่น กรดระเหยง่าย (Volatile Fatty Acid) แอมโมเนีย (NH_3) และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ซึ่งจะมีความเป็นพิษต่อแบคทีเรียแตกต่างกัน (ศาสตรา เชื้อวงศ์สกุล, 2551) ดังนั้นการควบคุมค่าพีเอชในระบบจึงมีความสำคัญค่อนข้างมากต่อการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบ เพ็ญศิริ ประชาภิตตกุล (2551) กล่าวว่า “การควบคุมพีเอชสามารถควบคุมได้โดยการควบคุมปริมาณของกรดระเหยง่ายและสภาพความเป็นด่าง” ซึ่งปริมาณ

ของกรดระเหยง่ายขึ้นอยู่กับปริมาณของสารอินทรีย์ที่ป้อนเข้าระบบ หากสารอินทรีย์ถูกป้อนเข้าระบบมากจะทำให้จุลินทรีย์ในกลุ่มผลิตมีเทนทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ให้กลายเป็นกรดระเหยง่ายมากขึ้น เมื่อจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตมีเทนไม่สามารถย่อยสลายกรดระเหยง่ายได้ทันจะทำให้เกิดการสะสมของกรดระเหยง่ายมากขึ้น ส่งผลให้ค่าพีเอชในระบบลดลง ในบางครั้งการออกแบบระบบบำบัดแบบไม่ใช้อากาศจึงมีการแยกขั้นตอนการผลิตกรดและผลิตมีเทนออกจากกัน เรียกระบบไร้อากาศแบบนี้ว่า “Two-Stage Anaerobic Reactor” เพื่ออำนวยความสะดวกค่าพีเอชในระบบ

3. สภาพความเป็นด่าง (Alkalinity) สภาพความเป็นด่างในระบบไร้อากาศทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ในการควบคุมความเป็นกรด-ด่างของระบบ ในกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศสภาพความเป็นด่างส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปความเป็นด่างไบคาร์บอเนตที่เกิดมาจากการทำปฏิกิริยาระหว่างแอมโมเนีย (NH_3) กับคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ที่แบคทีเรียขับออกมาและน้ำกลายเป็นแอมโมเนียมไบคาร์บอเนต (NH_4HCO_3) ซึ่งจะเพิ่มค่าความเป็นด่างเพิ่มขึ้นและช่วยควบคุมให้ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในสภาวะสมดุลเพิ่มสูงขึ้น โดยทั่วไปแล้วระบบแบบไร้อากาศควรมีสภาพความเป็นด่างอยู่ในช่วง 1,000-5,000 mg/L as CaCO_3 (Metcalf and Eddy, 1991) แต่ในบางครั้งในระบบจะมีปริมาณความเป็นด่างไม่เพียงพอที่จะควบคุมค่าพีเอช จึงต้องมีการเติมสารเคมีเข้าไปเพื่อให้ระบบมีความเป็นด่างสูงขึ้น ซึ่งสารเคมีที่ใช้มีหลายชนิด ได้แก่ ปูนขาว โซเดียมไบคาร์บอเนต โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) เป็นต้น

4. กรดระเหยง่าย (Volatile Fatty Acid) กรดอินทรีย์ระเหยง่ายเป็นกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในขั้นตอนการไฮโดรไลซิสและการผลิตกรดของจุลินทรีย์ผลิตกรด เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดโพรพิอิก (Propionic acid) และกรดบิวทริก (Butyric acid) ซึ่งจะถูกระบายที่เรียกผลิตมีเทนนำไปใช้เป็นสารอาหารและพลังงาน ปริมาณกรดระเหยง่ายจะมีส่วนสำคัญต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของระบบ ระบบที่ทำงานปกติจะมีค่าความเข้มข้นกรดระเหยง่ายไม่เกิน 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ถ้าปริมาณความเข้มข้นมีมากถึง 8,000-10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้เป็นอันตรายต่อระบบโดยตรงหรือถ้าปริมาณความเข้มข้นของกรดระเหยง่ายมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วจะเป็นสัญญาณแสดงถึงการเสียสมดุลที่จะเกิดขึ้นกับระบบ และปกติในระบบควรมีค่าความเข้มข้นของกรดอะซิติกประมาณ 50-500 mg/L ถ้าระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกมีค่าเกิน 800 mg/L หรืออัตราส่วนของกรดโพรพานอิกต่อกรดอะซิติกเกิน 1.4 จะทำให้ระบบเกิดการล้มเหลวได้ (Marchaim and Krause, 1993)

5. สารอาหาร (Nutrient) ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในสภาวะไร้อากาศร้อยละ 90 ของสารอินทรีย์ที่ถูกใช้จะเปลี่ยนเป็นก๊าซชีวภาพและร้อยละ 10 จะถูกใช้ไปในการสร้างเซลล์ใหม่ ซึ่งการที่แบคทีเรียจะทำงานได้ดีจำเป็นต้องมีสารอาหารหลายชนิด สารอาหารสามารถ

แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ สารอาหารหลัก (Macronutrient) ได้แก่ คาร์บอน (Carbon) ไนโตรเจน (Nitrogen) ฟอสฟอรัส (Phosphorus) และสารอาหารรอง (Micronutrient) ได้แก่ แคลเซียม (Calcium) แมกนีเซียม (Magnesium) แมงกานีส (Manganese) สังกะสี (Zinc) ทองแดง (Copper) โคบอลต์ (Cobalt) เหล็ก (Iron) นิกเกิล (Nickel) โดยทั่วไปน้ำเสียที่เข้าสู่ระบบควรมีปริมาณสารอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งในระบบแบบไร้อากาศควรมีอัตราส่วน BOD:N:P เท่ากับ 100:1.1:0.2 และ COD:N:P เท่ากับ 150:1:0.2

6. สารพิษ (Toxic substance) สารพิษที่มีผลกระทบต่อกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศอาจเกิดขึ้นจากการปนเปื้อนมากับของเสียหรือจากผลของปฏิกิริยาชีวเคมีของแบคทีเรียในระบบ ซึ่งอาจเป็นพิษโดยตรงต่อแบคทีเรียหรืออาจมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตหรือการทำงานของแบคทีเรีย ทั้งนี้ความรุนแรงขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของสารพิษ แต่บางชนิดถ้ามีน้อยอาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของแบคทีเรีย สารพิษที่มีผลกระทบต่อกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ ได้แก่ ซัลไฟด์ (Sulfide) แอมโมเนีย (Ammonia) ไอออนบวกของโลหะเบาบางชนิด (Light metal cation) และ โลหะหนัก (Heavy metal)

- **พิษของไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S)** ไฮโดรเจนซัลไฟด์เป็นสารพิษตัวหนึ่งที่มีผลกระทบต่อการทำงานของแบคทีเรียในกระบวนการย่อยสลายแบบไร้อากาศ ซึ่งปกติไฮโดรเจนซัลไฟด์จะได้ออกมาจากการย่อยสลายสารประกอบซัลเฟตที่ละลายอยู่ในน้ำและจากการย่อยสลายสารอินทรีย์จำพวก โปรตีนที่ปะปนมากับของเสีย สารประกอบซัลไฟด์ที่ละลายน้ำหากมีปริมาณมากกว่า 200 mg/L จะมีผลกระทบต่อแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทน หากมีมากกว่า 300 mg/L จะมีผลกระทบต่อแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรด ซึ่งผลกระทบจากไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีผลต่อแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ ยับยั้งกระบวนการสร้างมีเทน และส่งผลให้จำนวนแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนลดลง การยับยั้งลักษณะนี้จะเกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์สูงกว่า 200 mg/L (เพ็ญศิริ ประชาภิตตกุล, 2551)

- **พิษของแอมโมเนีย (Ammonia)** เป็นสารที่มาจากกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยไนโตรเจนภายใต้สภาวะไม่ใช้อากาศ เช่น โปรตีน เป็นแอมโมเนียไนโตรเจน ซึ่งอาจอยู่ในรูปของแอมโมเนียไอออน (NH_4^+) และแอมโมเนีย (NH_3) ซึ่งถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 7.2 จะมีแอมโมเนียไอออนมากกว่าแต่ถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 7.2 จะมีแอมโมเนียมากกว่า โดยแอมโมเนียที่อยู่ในรูป NH_3 จะมีพิษต่อจุลินทรีย์มากกว่าในรูปของ NH_4^+ คือแอมโมเนียที่อยู่ในรูปของ NH_3 จะมีเริ่มความเป็นพิษเมื่อมีความเข้มข้นประมาณ 100 mg/L แต่จะเป็นพิษโดยตรงต่อจุลินทรีย์เมื่อความเข้มข้นมากกว่า 3,000 mg/L ส่วนในรูปของ NH_4^+ จะเป็นพิษเมื่อมีความเข้มข้น 7,000-9,000 mg/L (เมธิยา หมวดลิม, 2555)

- **พิษของไอออนบวกของโลหะเบาบางชนิด (Light metal cation)** ไอออนบวกของโลหะเบาบางชนิดที่เกิดขึ้นมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือการเติมสารเคมีเพื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างในระบบ เช่น ไอออนของโซเดียม (Na^+) ไอออนของโพแทสเซียม (K^+) แคลเซียม (Ca^{2+}) และแมกนีเซียม (Mg^{2+}) จะมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในระบบหากไอออนบวกพวกนี้มีความเข้มข้นสูง แต่อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้นน้อยไอออนบวกพวกนี้ก็จะมิมีประโยชน์ในลักษณะที่เป็นตัวกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ได้ ซึ่งความเข้มข้นของไอออนบวกแต่ละชนิดที่มีพิษต่อจุลินทรีย์แสดงดังตารางที่ 1-5

ตารางที่ 1-5 ความเข้มข้นของไอออนบวกที่กระตุ้นและยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบหมักไร้อากาศ

ชนิดของไอออนบวก	ความเข้มข้น (mg/L)		
	กระตุ้น	ยับยั้งปานกลาง	ยับยั้งมาก
Na^+	100-200	3,500-5,500	> 8,000
K^+	200-400	2,500-4,500	>12,000
Ca^{2+}	100-200	2,500-4,500	>8,000
Mg^{2+}	75-150	1,000-1,500	>3,000

ที่มา: McCarty, 1964

- **พิษของโลหะหนัก (Heavy metal)** โลหะหนัก ได้แก่ เหล็ก ตะกั่ว ดีบุก สังกะสี ทองแดง แคดเมียม โคบอลต์ โครเมียมและนิกเกิล เป็นต้น ซึ่งไอออนของโลหะหนักเหล่านี้เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ โดยพิษของโลหะหนักก็ขึ้นอยู่กับว่าเกลือของโลหะหนักนั้นจะละลายน้ำได้มากน้อยเพียงใดและพิษของโลหะหนักจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีอยู่ในของเสียนั้น (Grady *et al.*, 1999)

7. **อัตราส่วน C/N (C/N Ratio)** อัตราส่วนของ C/N มีความสำคัญต่อการย่อยสลายทางชีวภาพมากเพราะคาร์บอนและไนโตรเจนที่มีอยู่ในระบบจะถูกแบคทีเรียนำไปสร้างเซลล์ใหม่และสร้างบัพเฟอร์ให้กับระบบ อัตราส่วนของ C/N ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายในสภาพไร้อากาศ จะอยู่ในช่วง 20-30 ถ้าอัตราส่วนของ C/N สูงเกินไปไนโตรเจนจะถูกใช้ให้หมดไปอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้อัตราการเกิดเซลล์แบคทีเรียลดลง ทำให้เกิดก๊าซชีวภาพได้น้อยลง แต่ถ้าอัตราส่วนของ C/N ต่ำเกินไปไนโตรเจนในระบบที่มีมากเกินไปของแบคทีเรียจะเปลี่ยนรูปกลายเป็นแอมโมเนียไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ซึ่งมีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในระบบ เนื่องจากแอมโมเนีย

ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) เป็นตัวยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบให้ไม่สามารถทำงานได้และอาจยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระบบด้วย

8. อัตราการป้อนสารอินทรีย์ (Organic loading rate, OLR) อัตราการป้อนสารอินทรีย์เป็นปัจจัยสำคัญที่ใช้ในการกำหนดความสามารถของการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายใต้สภาวะไร้อากาศ การปรับอัตราการป้อนสารอินทรีย์ให้มีค่าแตกต่างกัน ทำได้โดยการเปลี่ยนอัตราการไหลของของเสียที่ไหลผ่านถังหมักหรือเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของของแข็งหรือความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่ใส่เข้าไป ภาระบรรทุกสารอินทรีย์มีหน่วยเป็น $\text{kg COD/m}^3/\text{d}$ หรือ $\text{VSS/m}^3/\text{d}$ ถ้าระบบมีภาระบรรทุกสารอินทรีย์มากเกินไปจะทำให้กรดไขมันระเหยง่ายเกิดมาก เมื่อกรดไขมันระเหยง่ายจะทำให้ค่าพีเอชในระบบมีค่าต่ำลง แต่ถ้าภาระบรรทุกสารอินทรีย์ต่ำเกินไปจะทำให้การเกิดก๊าซชีวภาพลดลง ซึ่งการเปลี่ยนอัตราการป้อนสารอินทรีย์มีผลต่อระยะเวลาเก็บกักด้วย

9. ระยะเวลาเก็บกัก (Hydraulic retention time, HRT) ระยะเวลาเก็บกักเป็นปัจจัยหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมประสิทธิภาพของระบบแบบไร้อากาศ โดยอัตราเร็วของการย่อยสลายสารอินทรีย์จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่กักหรือเก็บกักสารอินทรีย์จนถึงค่าสูงสุดค่าหนึ่ง หลังจากนั้นอัตราการย่อยสลายก็จะลดลงจนถึงขั้นหนึ่งที่จุลินทรีย์ถูกล้างออกจากระบบก่อนที่จุลินทรีย์จะเพิ่มจำนวนขึ้น (Yilmazer and Yenigun, 1999) ซึ่งอาจส่งผลให้ระบบล้มเหลวได้ แต่สามารถแก้ไขปัญหานั้นที่จุลินทรีย์ถูกล้างออกจากระบบก่อนการเพิ่มจำนวนได้โดยการเพิ่มระยะเวลาเก็บกักสารอินทรีย์ให้นานขึ้น (Wen *et al.*, 1999) ซึ่งระยะเวลาเก็บกักน้ำเสียที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของน้ำเสียและสภาพแวดล้อม โดยจะต้องมีระยะเวลานานพอที่จะสามารถเกิดกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียภายในระบบหรือถึงปฏิกรณ์ ระบบที่มีจุลินทรีย์เจริญอยู่ในแบบยีสติดตัวกลางจะมีระยะเวลาเก็บกักน้ำเสีย 1-10 วัน ระบบที่มีจุลินทรีย์เจริญเติบโตอยู่ในแบบแขวนลอยระยะเวลาเก็บกักน้ำเสีย 10-60 วัน ส่วนระบบที่มีอุณหภูมิสูงและอุณหภูมิปานกลางจะมีระยะเวลาเก็บกักน้ำเสียอยู่ในช่วงระหว่าง 25-35 วัน (ศาสตรา เชื้อวงศ์สกุล, 2551)

10. การกวนหรือคลุกเคล้า (Mixing) การคลุกเคล้าตะกอน น้ำและสารอินทรีย์ในระบบเป็นส่วนสำคัญอีกส่วนหนึ่งเนื่องจากจะทำให้จุลินทรีย์สัมผัสกับสารอินทรีย์ได้อย่างทั่วถึง ทำให้แบคทีเรียในระบบทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ส่งผลให้เกิดก๊าซชีวภาพเร็วขึ้นและมีปริมาณมากขึ้น วิธีการในการกวนมีหลายวิธี เช่น การใช้เครื่องกวน การสูบลมอัดก๊าซไปทางด้านก้นของถังหมัก เป็นต้น (เมธิยา หมวดฉิม, 2555)

1.2.28 ก๊าซชีวภาพ (Biogas)

ก๊าซชีวภาพเป็นก๊าซที่เกิดขึ้นจากกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์แบบไร้ออกซิเจน (Anaerobic process) โดยที่ก๊าซชีวภาพจะมีก๊าซมีเทน (CH_4) เป็นองค์ประกอบหลักอยู่ประมาณ 60-65% ซึ่งเป็นก๊าซที่มีประโยชน์ทางเศรษฐกิจและสามารถนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับการเผาไหม้ ก๊าซมีเทนบริสุทธิ์ให้ค่าความร้อนประมาณ $35,800 \text{ kJ/m}^3$ ก๊าซชีวภาพที่มีสัดส่วนก๊าซมีเทน 65 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าความร้อนประมาณ $22,400 \text{ kJ/m}^3$ ปริมาณความร้อนของก๊าซชีวภาพขึ้นอยู่กับปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) หรือระดับความบริสุทธิ์ของก๊าซชีวภาพ ส่วนก๊าซธรรมชาติที่มีส่วนผสมของก๊าซมีเทน (Methane) โพรเพน (Propane) และ บิวเทน (Butane) ให้ค่าความร้อนประมาณ $37,300 \text{ kJ/m}^3$ (Metcalf and Eddy, 2003) นอกจากนั้นจะเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ประมาณ 35- 38% และมีก๊าซ H_2S , N_2 , H_2 อีกเล็กน้อยประมาณ 2% ซึ่งสัดส่วนของก๊าซขึ้นอยู่กับปัจจัยด้านอุณหภูมิ องค์ประกอบของน้ำเสีย พีเอช (pH) สภาพด่าง (Alkalinity) ระยะเวลากักกักน้ำเสีย (Hydraulic retention time; HRT) ค่ากักเก็บของแข็ง (Solid retention time; SRT) สารพิษ สารอาหารและธาตุอาหาร (Metcalf and Eddy, 2003; Gerardi, 2003) และก๊าซที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับลักษณะของเสียที่ป้อนเข้าระบบหรือสารอินทรีย์เริ่มต้น

1.2.29 ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพ

ก๊าซชีวภาพสามารถนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนในรูปแบบต่างๆ ได้หลากหลาย ดังนั้นก๊าซชีวภาพจึงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายประการดังตารางที่ 1-6

ตารางที่ 1-6 ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพด้านต่างๆ

ด้าน	ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพ
พลังงาน	<ul style="list-style-type: none"> - ใช้เป็นเชื้อเพลิงเพื่อให้ความร้อนกับหม้อต้มไอน้ำ (boiler) ทดแทนการใช้ น้ำมันเตา - ใช้ผลิตกระแสไฟฟ้าเพื่อใช้ในโรงงานหรือขายให้กับการไฟฟ้าส่วนภูมิภาค - ใช้ในรูปของพลังงานร่วม โดยใช้ในการผลิตไฟฟ้าและให้ความร้อนกับกระบวนการผลิตร่วมกัน (ก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้จะต้องมีปริมาณมากพอ)
ด้านเศรษฐกิจ	<ul style="list-style-type: none"> - สามารถช่วยลดต้นทุนในการผลิต - มีรายได้จากการขายไฟฟ้า - มีรายได้จากการขายคาร์บอนเครดิต (Carbon Credit)

ตารางที่ 1-6 ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพด้านต่างๆ (ต่อ)

ด้าน	ประโยชน์ของก๊าซชีวภาพ
ด้านสิ่งแวดล้อมและ การจัดการของเสีย	<ul style="list-style-type: none"> - ลดปัญหาของกลิ่นและก๊าซพิษ - ลดการปล่อยก๊าซมีเทนสู่บรรยากาศ - ลดปัญหาต่อคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติ - ลดเขม่าจากการใช้ฟืนในการหุงต้ม - ลดการตัดไม้ทำลายป่า - เป็นเทคโนโลยีบำบัดขยะมูลฝอยที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม - สามารถลดปัญหาสัตว์พาหะนำโรค - สามารถลดปริมาณขยะมูลฝอยที่จะต้องกำจัดในขั้นตอนสุดท้าย
ด้านอื่นๆ	<ul style="list-style-type: none"> - น้ำที่ผ่านการบำบัดจากระบบสามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ยน้ำได้ - กากตะกอนที่ผ่านการย่อยสลายสามารถนำไปใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ได้

ที่มา: กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน (2549)

1.2.30 การผลิตก๊าซชีวภาพ

การผลิตก๊าซชีวภาพนั้นเป็นกระบวนการทางธรรมชาติ ที่อาศัยการทำงานของจุลินทรีย์พวกที่ไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งจุลินทรีย์แบบไม่ใช้ออกซิเจนนั้นมี 2 พวก คือ พวกที่สร้างมีเทน (Methanogenic bacteria) และ พวกที่ไม่สร้างมีเทน (Non-methanogenic bacteria) โดยจุลินทรีย์ประเภทกลุ่มสร้างมีเทนนี้จะใช้สารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อนเป็นสารอาหาร และให้ผลผลิตเป็นก๊าซมีเทน (CH_4) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นหลัก โดยมีก๊าซอื่นๆในปริมาณเล็กน้อย เช่น ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) จุลินทรีย์กลุ่มนี้ไม่ชอบออกซิเจนอิสระ (O_2) ดังนั้นในการผลิตก๊าซชีวภาพนั้นจะต้องระวังไม่ให้ออกซิเจนสามารถเข้าไปสัมผัสกับจุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างมีเทน เพราะจะทำให้การผลิตก๊าซมีเทนด้อยประสิทธิภาพและเนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทน สามารถใช้สารอาหารที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อนเท่านั้น การผลิตก๊าซมีเทนจากสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน จึงต้องอาศัยการทำงานของแบคทีเรียกลุ่มไม่สร้างมีเทน เพื่อทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีความซับซ้อนสูงให้กลายเป็นสารอินทรีย์ที่มีความซับซ้อนต่ำ เพื่อที่แบคทีเรียกลุ่มสร้างมีเทนสามารถย่อยสลายได้ ดังนั้นในการผลิตก๊าซมีเทนจะต้องอาศัยการร่วมมือของแบคทีเรียหลายๆกลุ่มเข้าด้วยกัน โดยทั่วไปน้ำเสียและขยะที่มีสารอินทรีย์สามารถนำมาผลิตก๊าซชีวภาพได้

1.2.31 หลักการผลิตก๊าซชีวภาพ

หลักการย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อการผลิตก๊าซชีวภาพ คือ สารอินทรีย์จะถูกย่อยสลายโดยกลุ่มจุลินทรีย์ในสภาวะไร้อากาศ โดยสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีนและไขมัน จะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์กลุ่มที่เปลี่ยนสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ให้เป็นกรดอินทรีย์ขนาดเล็กเช่น น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว กรดอะมิโน และกรดไขมัน เป็นต้น กลุ่มแบคทีเรียที่สร้างกรดจะเปลี่ยนกรดอินทรีย์ขนาดเล็กให้เป็นกรดอะซิติกและก๊าซไฮโดรเจน และขั้นตอนสุดท้ายกลุ่มแบคทีเรียจะสร้างมีเทน โดยเปลี่ยนกรดอะซิติกและไฮโดรเจนให้กลายเป็นก๊าซมีเทน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งก๊าซดังกล่าวที่เกิดขึ้นจะลอยตัวขึ้นเหนือผิวน้ำและจะถูกรวบรวมนำไปใช้ผลิตพลังงานทดแทนต่อไป

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.3.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรึงเอ็นไซม์

การตรึงเอ็นไซม์ช่วยลดการสูญเสียเอ็นไซม์ที่มีราคาแพง เอ็นไซม์ตรึงมีเสถียรภาพมากกว่าเอ็นไซม์อิสระสามารถทำงานได้ในช่วงพีเอชและอุณหภูมิที่กว้างกว่า สามารถใช้งานได้หลายครั้ง (Liu *et al.*, 2013) เอ็นไซม์ตรึงรูปมีความสามารถในการจับกับสับสเตรทได้มากกว่าเอ็นไซม์อิสระ (Chang and Juang, 2007; อิสลาห์ ดือราแม, 2551) หรือมีประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยามากกว่าเอ็นไซม์อิสระ (Zhao *et al.*, 2012) การตรึงเอ็นไซม์ด้วยพันธะโคเวเลนต์เป็นวิธีการตรึงที่เอ็นไซม์หลุดออกจากตัวรองรับได้ยาก พันธะโคเวเลนต์ที่เกิดขึ้นจะทำให้โครงสร้างของเอ็นไซม์ตรึงรูปแข็งแรงขึ้น ทนต่ออุณหภูมิและพีเอชที่รุนแรงได้มากขึ้น ส่งผลให้กิจกรรมของเอ็นไซม์ลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อมีการนำกลับมาใช้ซ้ำ (Huckel *et al.*, 1996) เนื่องจากเกิดการสูญเสียกิจกรรมของเอ็นไซม์น้อยกว่าการตรึงด้วยวิธีการดูดซับ (Hwang *et al.*, 2004) โดยรายละเอียดของงานวิจัยที่เกี่ยวข้องมีดังนี้

Chang และ Juang (2007) ศึกษาเสถียรภาพและการทำงานของเอ็นไซม์ตรึงรูปเปรียบเทียบกับเอ็นไซม์อิสระ โดยตรึงเอ็นไซม์ฟอสฟาเทส (phosphatase) บนวัสดุคอมโพสิตที่เตรียมจาก (1) สารผสมระหว่างไคโตซานและเซอโคเนียมออกไซด์แบบแห้ง (DCZ) (2) สารผสมระหว่างไคโตซานและเซอโคเนียมออกไซด์แบบเปียก (WCZ) (3) ไคโตซานแบบแห้ง (DC) (4) ไคโตซานแบบเปียก (WC) โดยมีสถานะในการตรึงเอ็นไซม์ คือ ความเข้มข้นของเอ็นไซม์เป็น 0.4 ถึง 0.5 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ค่ากิจกรรมเอ็นไซม์สูงสุด โดยใช้ความเข้มข้นของกลูตาอัลดีไฮด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลาในการกระตุ้น 90 นาที ในการศึกษาเสถียรภาพต่ออุณหภูมิและพีเอชพบว่า เอ็นไซม์ตรึงรูปทั้ง 4 ชนิด มีเสถียรภาพ ทนต่อค่าพีเอชที่มากกว่าเอ็นไซม์อิสระ โดยค่ากิจกรรมของเอ็นไซม์ตรึงรูปค่อนข้างคงที่ในช่วงพีเอชที่ศึกษา ขณะที่เอ็นไซม์อิสระค่ากิจกรรมจะสูงสุดที่พีเอช

หนึ่งเท่านั้น (เป็นรูปประหมังกว่ำ) และทั้งเอนไซม์ตรีงรูปและเอนไซม์อิสระมีแนวโน้มนที่เหมือนกันในการศึกษาเสถียรภาพต่ออุณหภูมิและจากการศึกษาจลนพลศาสตร์ พบว่า เอนไซม์ตรีงรูปทั้ง 4 ชนิดมีค่าความเร็วเริ่มต้นสูงสุด (V_{max}) สูงกว่าเอนไซม์อิสระ และค่าคงที่ Michaelis-Menten (K_m) ของเอนไซม์ตรีงรูปน้อยกว่าเอนไซม์อิสระ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า เอนไซม์ตรีงรูปมีความสามารถในการจับกับสับสเตรทได้มากกว่าเอนไซม์อิสระและจากการศึกษาการเสื่อมสภาพด้วยความร้อน พบว่าเอนไซม์ตรีงรูปมีค่าคงที่การเสื่อมสภาพ (K_d) น้อยกว่า ค่าครึ่งชีวิตที่สูงกว่าและค่าพลังงานในการทำให้เอนไซม์เสื่อมสภาพต่ำกว่าเอนไซม์อิสระ แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ตรีงรูปมีความทนทานต่ออุณหภูมิมากกว่าเอนไซม์อิสระ

Bayramoglu และคณะ (2011) ศึกษาการตรีงเอนไซม์ไลเปสด้วยพันธะโคเวเลนต์บนแผ่นแมมเบรนพอลิโพรพิลีน ซึ่งใช้หมู่เอมีนในการสร้างพันธะโคเวเลนต์ โดยใช้กลูตาไรต์ดีไฮด์เป็นสารเชื่อมขวาง ตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของแผ่นแมมเบรนที่มีการเติมหมู่เอมีน โดยเครื่อง FTIR ศึกษาผลของพีเอชและอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์ตรีงที่พีเอชในช่วง 4-9 อุณหภูมิในช่วง 40-60 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำมันมะกอกเป็นสับสเตรท ทำปฏิกิริยาที่ 35 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ศึกษาเสถียรภาพด้านการทนต่อความร้อน โดยทดสอบที่อุณหภูมิ 55 และ 65 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ซึ่งดูกิจกรรมเอนไซม์คงเหลือหลังการทดสอบกับสับสเตรทที่ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เป็นเวลา 15 นาที จากการศึกษพบว่าโครงสร้างทางเคมีของแมมเบรนที่มีการเติมหมู่เอมีน พบแบนด์ของหมู่เอมีนที่ตำแหน่ง 3,404 และ 3,300 เซนติเมตร⁻¹ และเกลือของเอมีนที่ตำแหน่ง 1,628 เซนติเมตร⁻¹ จากการศึกษาผลของพีเอชและอุณหภูมิ พบว่า พีเอชที่เหมาะสมของการทำงานของเอนไซม์อิสระ คือ 7 ส่วนเอนไซม์ตรีง คือ 7.5 จะเห็นว่าพีเอชหลังการตรีงอาจเป็นเพราะวิธีการตรีง โครงสร้างของวัสดุตรีงและอาจเกิดกรดไขมัน (Fatty acid) รอบเอนไซม์ตรีง ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 35 และ 40 องศาเซลเซียส สำหรับเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรีง และจากการศึกษาการทนความร้อน พบว่ายิ่งอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นค่ากิจกรรมของเอนไซม์อิสระลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วนเอนไซม์ตรีงมีค่าลดลงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ตรีงทนต่ออุณหภูมิที่สูงขึ้นได้ดีกว่า

Zhao และคณะ (2012) ศึกษาการตรีงเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida sp.* สายพันธุ์ 99-125 บนซิลิเกต โดยศึกษาลักษณะและการประยุกต์ใช้ ซึ่งทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ ความเสถียร และการนำไปประยุกต์ใช้ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส การประยุกต์ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล (ปฏิกิริยาเอสเทอร์ิฟิเคชันและปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ิฟิเคชัน) ซึ่งการศึกษาเสถียรภาพของเอนไซม์ไลเปสประเมินโดยการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียสในเอทานอล (Ethanol) และไซโครเฮกเซน (Cyclohexane) โดยสารละลายทั้งสองเตรียมโดยใช้อัตราส่วน 1:1 กับสารละลาย

โซเดียมฟอสเฟต 0.1 โมลาร์ พีเอช 7 ส่วนการประยุกต์ใช้ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสใช้เอทิลโอเลเอท (Ethyl oleate) เป็นสับสเตรท ผลการศึกษาพบว่าเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปที่ถูกทดสอบความเสถียรด้วยเอทานอลและไซโคลเฮกเซนให้ผลที่แตกต่างกันคือค่ากิจกรรมคงเหลือของเอนไซม์เมื่อถูกทดสอบในสารละลายเอทานอลค่ากิจกรรมคงเหลือมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญและลดลงอย่างรวดเร็วจนหมดเมื่อเวลาผ่านไป 168 ชั่วโมง ส่วนในสารละลายไซโคลเฮกเซนกิจกรรมเอนไซม์คงเหลือค่อนข้างสูงโดยที่ 168 ชั่วโมง กิจกรรมคงเหลือ 105.1 เปอร์เซ็นต์ การประยุกต์ใช้ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส พบว่า เอนไซม์ไลเปสที่ทำการตรึงบนซิติลเกิดให้ประสิทธิภาพในการทำปฏิกิริยามากกว่าเอนไซม์อิสระ เนื่องจากพบการเปลี่ยนแปลงของเอทิลโอเลเอตน้อยกว่า คือ มีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของเอทิลโอเลเอต 66.86 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในเอนไซม์ตรึงมีเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง 68 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเวลาผ่านไป 10 ชั่วโมง ส่วนการทดสอบการประยุกต์ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล พบว่า ในการทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปให้ผลผลิตเอทิลโอเลเอตสูงสุด 90.4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเอนไซม์อิสระให้ผลผลิตเอทิลโอเลเอตสูงสุด 81.3 เปอร์เซ็นต์ ที่ 1 รอบของการทำปฏิกิริยา ส่วนในรอบที่ 5 ของการทำปฏิกิริยาเอนไซม์อิสระให้ผลผลิตเอทิลโอเลเอตสูงสุดแค่ 21.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเอนไซม์ตรึงยังคงให้ผลผลิตเอทิลโอเลเอตสูงสุด 78.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับเอนไซม์อิสระ ส่วนในการทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอร์ฟิเคชันในรอบแรกของการผลิตให้ผลผลิตไบโอดีเซลสูงสุด 84.5 และ 77.6 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลผลิตสูงสุดในรอบที่ 5 ของการทำปฏิกิริยา 67.0 และ 19.4 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเอนไซม์ตรึงและเอนไซม์อิสระ แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ตรึงรูปเพิ่มกิจกรรมในการทำปฏิกิริยาได้มากขึ้นสามารถใช้ซ้ำได้หลายครั้ง ดังนั้นเอนไซม์ตรึงจึงมีเสถียรภาพมากกว่าเอนไซม์อิสระ

Lima และคณะ (2013) ศึกษาการตรึงเอนไซม์และเสถียรภาพของเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยการตรึงแบบโคเวเลนต์บนไกลออกซิล (Glyoxyl) ใช้หมู่เอมีนหรือหมู่อะมิโนในการตรึงแบบโคเวเลนต์ ซึ่งทำการตรึงที่พีเอช 8 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อทดสอบเสถียรภาพด้านความร้อน โดยบ่มในโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7 ที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส โดยทำการตรวจสอบเสถียรภาพจากค่ากิจกรรมคงเหลือของเอนไซม์หลังการทำปฏิกิริยา และทดสอบเสถียรภาพด้านการทนทานต่อสารอินทรีย์ โดยทดสอบกับสารละลาย Tert-amyl alcohol และ Cyclohexane ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าเมื่อทำการบ่มในโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงอย่างรวดเร็วและลดลงเป็น 0 เมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมง ส่วนการทดสอบกับสารละลายอินทรีย์ พบว่าการทดสอบกับ Cyclohexane มีผลในการลดค่ากิจกรรมเอนไซมน้อยกว่าสารละลาย Tert-amyl alcohol โดย Cyclohexane ค่ากิจกรรมเอนไซม์คงเหลือ 75 เปอร์เซ็นต์ ส่วน

Tert-amyl alcohol ค่ากิจกรรมเอนไซม์คงเหลือ 30 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 100 ชั่วโมง สามารถสรุปได้ว่าเอนไซม์ตรีงมีความทนทานต่อสารอินทรีย์เพราะต้องใช้เวลานานในการทำปฏิกิริยาก่อนข้างนานกว่าค่ากิจกรรมเอนไซม์จะลดลง

Liu และคณะ (2013) ศึกษาการตรึงเอนไซม์ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ไลเอส (Hydroperoxide lyase) บนไคโตซานที่ผสมไฮโดรเจลด้วยวิธีการสร้างพันธะโคเวเลนต์ ซึ่งทำการศึกษาโดยใช้กลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) และ คาร์โบไดอิมิด (Carbodiimide) เป็นสารเชื่อมขวางในการสร้างพันธะระหว่างเอนไซม์กับวัสดุตรีง ศึกษาผลของพีเอชและอุณหภูมิที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ โดยศึกษาพีเอชและอุณหภูมิในช่วง 4-9 และ 20-55 องศาเซลเซียส ศึกษาความจำเพาะต่อสับสเตรทและจลศาสตร์ของเอนไซม์ (K_m และ V_{max}) ศึกษาเสถียรภาพของเอนไซม์โดยศึกษาความทนทานต่อความร้อนและการนำกลับมาใช้ซ้ำ ผลการศึกษาพบว่าเอนไซม์ที่ตรีงโดยใช้สารเชื่อมคาร์โบไดอิมิดให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าการใช้กลูตารัลดีไฮด์ ค่าพีเอชที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับกิจกรรมของเอนไซม์ โดยเอนไซม์อิสระจะให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดที่พีเอช 6 ส่วนเอนไซม์ตรีงจะให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุดที่พีเอช 5 ซึ่งลดลงจากเอนไซม์อิสระ ส่วนอุณหภูมิมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งเอนไซม์ตรีงและเอนไซม์อิสระ โดยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเอนไซม์อิสระจะให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุดและเอนไซม์ตรีงจะให้ค่ากิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสและพบว่าเอนไซม์ที่ผ่านการตรีงสามารถทำงานได้ในช่วงอุณหภูมิที่กว้างกว่าเอนไซม์อิสระเนื่องจากค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงช้ากว่าเอนไซม์อิสระมากเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น สำหรับการศึกษากลศาสตร์ของเอนไซม์พบว่าเอนไซม์ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ไลเอสอิสระมีค่า K_m และ V_{max} เท่ากับ 108.62 ไมโครโมล และ 51.51 ไมโครโมลต่อนาที ตามลำดับ เอนไซม์ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ไลเอสที่ตรีงบน Chitosan-K-Carragenan hydrogel มีค่า K_m และ V_{max} เท่ากับ 212.33 ไมโครโมล และ 67.02 ไมโครโมลต่อนาที ตามลำดับ เมื่อใช้ 13-HPOD เป็นสับสเตรทในการศึกษา ส่วนการใช้ 13-HPOT เป็นสับสเตรทพบว่าเอนไซม์ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ไลเอสอิสระมีค่า K_m และ V_{max} เท่ากับ 62.7 ไมโครโมล และ 178.52 ไมโครโมลต่อนาที ตามลำดับ เอนไซม์ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ไลเอสที่ตรีงบน Chitosan-K-Carragenan hydrogel มีค่า K_m และ V_{max} เท่ากับ 92.65 ไมโครโมล และ 45.29 ไมโครโมลต่อนาที ตามลำดับ และเมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการทนทานต่อความร้อนและการใช้งานซ้ำ พบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์อิสระจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นซึ่งต่างกับเอนไซม์ตรีงรูปที่ค่ากิจกรรมเอนไซม์ลดลงเพียงเล็กน้อยแม้จะเพิ่มอุณหภูมิเป็น 55 องศาเซลเซียสคือ กิจกรรมของเอนไซม์ยังคงเหลือ 78.13 ± 0.98 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่ผ่านการตรีงมีความเสถียรต่ออุณหภูมิที่สูงขึ้นมากกว่าเอนไซม์อิสระและเมื่อ

ใช้งานไป 7 ครั้ง กิจกรรมของเอนไซม์คงเหลือ 92.09 ± 2.15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ 13-HPOD เป็นสับสเตรท แต่เมื่อใช้ 13-HPOT เป็นสับสเตรทกิจกรรมเอนไซม์คงเหลือ 73.73 ± 3.13 เปอร์เซ็นต์

อิสลาห์ ดือราม (2551) ศึกษาเกี่ยวกับการตรึงเอนไซม์ไลเปสบนพอลิ-ฟีนิลซัลโฟนด้วยพันธะโควาเลนต์ โดยทดลองศึกษาการเติมหมู่เอมีนให้พอลิฟีนิลซัลโฟนเพื่อใช้ในการตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยพันธะโควาเลนต์และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์ไลเปส ได้แก่ ความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ ระยะเวลาในการกระตุ้นกลูตารัลดีไฮด์ อุณหภูมิ พีเอชและความเข้มข้นเริ่มต้นของเอนไซม์ที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์ นอกจากนี้ยังศึกษาเสถียรภาพต่ออุณหภูมิ พีเอชและจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ตรึงรูปเปรียบเทียบกับเอนไซม์อิสระ จากการทดลองที่สภาวะการแช่ด้วยไฮดราซีนไฮเดรตความเข้มข้น 17 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้หมู่เอมีนมากที่สุด คือ 0.48 มิลลิอิกวาเลนต์ต่อกรัม ซึ่งสภาวะการตรึงเอนไซม์ที่เหมาะสมนี้จะใช้ในการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ต่อไป โดยในการศึกษาพบว่า การตรึงเอนไซม์สามารถเพิ่มเสถียรภาพต่ออุณหภูมิและพีเอชของเอนไซม์ได้ และการศึกษาจลนพลศาสตร์พบว่า การตรึงเอนไซม์ส่งเสริมการจับกันระหว่างสับสเตรทกับเอนไซม์ได้ดีขึ้น แต่มีความเร็วสูงสุดต่ำกว่า เนื่องจากการเกิดเอนไซม์สับสเตรทคอมเพล็กซ์ของเอนไซม์ตรึงรูปน้อยกว่าเอนไซม์อิสระ และจากการศึกษาการเสื่อมสภาพด้วยความร้อน พบว่าเอนไซม์ตรึงรูปมีความเสถียรมากกว่าเอนไซม์อิสระ สามารถทนต่ออุณหภูมิได้สูงขึ้น

1.3.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียโดยใช้เอนไซม์ไลเปส

การกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียมิทั้งการบำบัดด้วยวิธีการทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ แต่ในปัจจุบันการใช้เอนไซม์ในการบำบัดกำลังได้รับความนิยม ไม่ว่าจะใช้เชื้อที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้หรือใช้เอนไซม์ไลเปสที่สกัดออกมาเป็นผง เพราะการบำบัดโดยใช้เอนไซม์ให้ประสิทธิภาพการบำบัดสูง สามารถลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ในระดับที่น่าพอใจ (Qamsari *et al.*, 2012; Darocha *et al.*, 2013) โดยจากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่าใช้เอนไซม์ไลเปสในการกำจัดน้ำมันและไขมันเบื้องต้นก่อนเข้าระบบหมักไร้อากาศสามารถเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพได้ อีกทั้งสามารถลดค่าซีโอดีได้มากกว่าน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ (Qamsari *et al.*, 2012) อีกทั้งการใช้เอนไซม์ไลเปสในการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียยังสามารถลดสีและสารประกอบฟีนอลิกในน้ำเสียได้อีกด้วย (Abrunhusa *et al.*, 2013) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

Qamsari และคณะ (2012) ศึกษาการกำจัดน้ำมันและไขมันเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ไลเปสก่อนทำการหมักย่อยในสภาวะไร้อากาศ โดยใช้ น้ำเสียสังเคราะห์อุตสาหกรรมนม ซึ่งในการศึกษาใช้เอนไซม์ไลเปสที่ทำการสกัดจากเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* โดยมีค่ากิจกรรม

เอนไซม์ไลเปส 0.3 หน่วยต่อมิลลิลิตร ทดสอบสถานะที่เหมาะสมของการใช้งานเอนไซม์ ซึ่งประกอบด้วยอุณหภูมิและพีเอช โดยอุณหภูมิและพีเอชที่ทดสอบอยู่ในช่วง 30-70 องศาเซลเซียส และ 3.0-12.0 ตามลำดับ เมื่อได้สถานะที่เหมาะสมก็นำมาทดสอบการกำจัดน้ำมันและไขมันเบื้องต้นก่อนเข้าระบบหมักไร้อากาศ โดยใช้ น้ำเสียอุตสาหกรรมนมสังเคราะห์ที่มีปริมาณไขมันรวม 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ใช้เวลาในการเบื้องต้น 48 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบประสิทธิภาพการย่อยไขมันโดยวัดปริมาณกรดไขมันอิสระ จากนั้นนำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นแล้วเข้าสู่ระบบหมักไร้อากาศเพื่อศึกษาผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งใช้ระบบแบบกะ ปริมาตรรวม 1,000 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 50 รอบต่อนาที ผลการศึกษาพบว่าพีเอชที่เหมาะสมคือ พีเอช 8 ซึ่งให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์มากกว่า 65 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 45 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิดังกล่าวให้กิจกรรมเอนไซม์คงเหลือสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าทั้งสองความเข้มข้นของเอนไซม์ให้ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เพิ่มขึ้น ซึ่งความเข้มข้นเพิ่มขึ้นให้ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เพิ่มขึ้นแต่ไม่ได้แตกต่างกันมากนัก ซึ่งหากดำเนินการในระบบที่ใหญ่ขึ้นจะต้องเสียค่าใช้จ่ายในการเติมเอนไซม์ลงไปโดยประสิทธิภาพการย่อยเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ดังนั้นความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม คือ 10 เปอร์เซ็นต์ และในส่วนของ การบำบัดในระบบไร้อากาศที่ใช้น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์พบว่าสามารถลดปริมาณซีโอดีและให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพได้มากกว่าการใช้น้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ โดยสามารถกำจัดซีโอดีได้ร้อยละ 90 ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 4,710 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยง่าย ขณะที่การใช้น้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีร้อยละ 66 ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 2,330 มิลลิลิตรต่อกรัมของแข็งระเหยง่าย

Darocha และคณะ (2013) ศึกษาการกำจัดน้ำมันและไขมันเบื้องต้นในน้ำเสียจากกระบวนการล้างใบโอติเซล โดยทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้และแยกไอโซเลตโดยการบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แต่ละไอโซเลตจากแต่ละงานเพาะเชื้อถูกทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่ผลิตออกมา เมื่อได้เชื้อที่เหมาะสมก็จะนำมาทดสอบการย่อยน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากกระบวนการล้างใบโอติเซลในสถานะที่น้ำเสียมีค่าพีเอช 5.95 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 180 รอบต่อนาที และมีแหล่งไนโตรเจนและแอมโมเนียซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตร โดยศึกษาการทำปฏิกิริยาที่เวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง และทำการระบุว่าเป็นเชื้อชนิดใด จากการศึกษาพบว่า มี 2 ไอโซเลตที่ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุดโดยวัดจากค่าดัชนีเอนไซม์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.56 สำหรับไอโซเลต A และ 0.57 สำหรับไอโซเลต B เมื่อนำทั้งสองไอโซเลตมาย่อยน้ำมันและไขมัน

ในน้ำเสีย พบว่า ไอโซเลต A กำจัดไขมันได้มากกว่าไอโซเลต B และเวลาที่เหมาะสมในการย่อยไขมันและไขมัน คือ 120 ชั่วโมง ซึ่งที่เวลา 120 ชั่วโมง ไอโซเลต A กำจัดไขมันและไขมันในน้ำเสียได้ 87 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์ 0.30 ยูนิตต่อมิลลิลิตรต่อนาที ส่วนไอโซเลต B กำจัดไขมันได้ 79 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์ 0.29 ยูนิตต่อมิลลิลิตรต่อนาที และเมื่อนำไอโซเลตทั้งสองชนิดมาทำการระบุว่าเป็นเชื้อชนิดใด พบว่า เป็นเชื้อแบคทีเรีย ที่มีรูปร่างเป็นท่อน แกรมลบ ชื่อว่า *Klebsiella oxytoca*

Abrunhusa และคณะ (2013) ศึกษาการลดค่าความสกปรกและลดสีในน้ำเสียโรงงานผลิตน้ำมันมะกอก โดยการผลิตเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus ibericus* และใช้น้ำเสียโรงงานน้ำมันมะกอกเป็นอาหารให้กับจุลินทรีย์ในการผลิตเอนไซม์ไลเปส เริ่มต้นทำการทดสอบบนจานเพาะเชื้อที่มีส่วนประกอบของ OMW-based agar medium จากนั้นทดสอบในขวดรูปชมพู่กับ Liquid OMG-based medium/media ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสาหร่ายเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ OMG ที่ไม่มีการเจือจาง โดยให้โคโลนีที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร หลังการบ่ม 5 วัน สามารถผลิตเอนไซม์สูงสุด 17.4 ± 0.3 ยูนิตต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์ $2,927 \pm 54$ ยูนิตต่อลิตร ส่วนการทดสอบในขวดรูปชมพู่กับ Liquid OMG-based medium/media ซึ่งใช้เวลาในการบ่ม 7 วัน แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มชีวมวล (Biomass) จะช่วยลดค่าซีไอดีและสีได้มากขึ้น โดยเมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ OMG ที่ไม่มีการผสมอย่างอื่นเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถลดค่าซีไอดีและสีได้ 45 และ 97 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ OMG ที่มีการเจือจางเป็น 10 เปอร์เซ็นต์ เชื้อ *Aspergillus ibericus* ลดฟีนอลิก (Phenolic) และสารประกอบอะโรมาติก 37 และ 39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อทำการหมักในถังปฏิกรณ์ขนาด 2 ลิตร เชื้อ *Aspergillus ibericus* สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุด 21.7 ± 0.1 ยูนิตต่อลิตรต่อชั่วโมง โดยให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์ $8,319 \pm 33$ ยูนิตต่อลิตรและสามารถลดซีไอดีและสีสูงสุด 57 และ 24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

1.3.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดไขมันและไขมันในน้ำเสียโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรัง

การกำจัดไขมันและไขมันในน้ำเสียโดยใช้เอนไซม์ที่ทำการตรึงบนวัสดุตัวกลางมักเป็นการบำบัดเบื้องต้นก่อนบำบัดอีกขั้นตอนหนึ่งในระบบหมักไร้อากาศ ซึ่งได้ผลพลอยได้เป็นก๊าซชีวภาพ โดยเอนไซม์ตรึงรูปสามารถกำจัดไขมันและไขมันออกจากน้ำเสียและลดซีไอดีได้ในระดับค่อนข้างสูง (Jeganathan *et al.*, 2007; Nilesh and Mukhopadhyay., 2012) และเมื่อบำบัดต่อในระบบหมักไร้อากาศประสิทธิภาพการกำจัดไขมันและซีไอดีก็จะเพิ่มขึ้น แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นประสิทธิภาพการบำบัดจะดีมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับสภาวะการทำงานที่เหมาะสมของเอนไซม์ตรึงรูป นอกจากนี้สิ่งที่น่าสังเกตคือแม้ค่าซีไอดีทั้งหมดจะลดลงแต่ซีไอดีละลายน้ำจะเพิ่มขึ้น (Jeganathan *et al.*, 2007) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

Jeganathan และคณะ (2007) ศึกษาการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากอุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์โดยใช้เอนไซม์ตรึงรูป ซึ่งทำการประเมินการย่อยสลายน้ำมันและไขมันจากน้ำเสียเบื้องต้นก่อนบำบัดต่อในระบบไร้อากาศที่ทำการศึกษาในระบบแบบกะและแบบต่อเนื่อง ซึ่งทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับเอนไซม์อิสระ โดยทำการตรึงเอนไซม์ด้วยกระบวนการโซลเจล (sol-gel) วิเคราะห์กิจกรรมการย่อยของเอนไซม์ออกมาโดยการวัดปริมาณกรดไขมันอิสระที่ถูกปล่อยออกมา ทำการทดสอบหาสภาวะของการทำงานที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายน้ำมันที่ค่าพีเอชในช่วง 4-9 อุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส ในระบบแบบกะใช้น้ำเสียความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ใช้เม็ดเอนไซม์ตรึง 0.04 กรัมเม็ดเอนไซม์ตรึงต่อกรัมไขมันเย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นหมักในระบบไร้อากาศในขวดซีรัม ปริมาตรน้ำเสียที่ผ่านการบำบัด 70 มิลลิลิตร หัวเชื้อจุลินทรีย์ 50 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็นกลาง บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ส่วนในระบบที่ดำเนินการแบบต่อเนื่องใช้ระบบร่วมระหว่างระบบ PBR กับระบบ UASB โดยใช้เม็ดเอนไซม์ตรึง 12 กรัม ผลการศึกษาพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของโซลเจลต่ออัลจีเนต คือ 1:2 ความเข้มข้นของเอนไซม์ตรึง 20 กรัมต่อลิตร และปริมาณที่เหมาะสมของเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงในการย่อยน้ำมัน คือ 0.02 และ 0.04 กรัม ตามลำดับ หลังผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ปริมาณน้ำมันและไขมันลดลง 48 และ 32 เปอร์เซ็นต์ปริมาณชีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้น 17 และ 11 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึง ตามลำดับ เมื่อนำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นมาเข้าระบบหมักไร้อากาศที่ทดสอบแบบกะพบว่าชีโอดีลดลง 49 และ 45 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันและไขมันลดลง 65 และ 64 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึง ตามลำดับ ส่วนการทดสอบในระบบแบบต่อเนื่องสามารถลดปริมาณชีโอดีทั้งหมดและน้ำมันและไขมันได้มากกว่าระบบ UASB อย่างเดียว และให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพมากกว่าด้วย โดยให้ปริมาณก๊าซชีวภาพ 0.46 ± 0.08 และ 0.34 ± 0.05 ลิตรมีเทนต่อกรัมชีโอดีที่เติมลงไป

Nilesh และ Mukhopadhyay (2012) ศึกษาการกำจัดน้ำมันและไขมันโดยใช้เอนไซม์ตรึงรูป ทำการศึกษาโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus niger* ซึ่งมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ 16 หน่วยต่อมิลลิกรัม ตรึงแบบดูดซับบนไคโตซาน ซิลิเกต และ เซลลูโลสอะซิเตด โดยใช้เอนไซม์ไลเปส 0.1 กรัม ละลายในโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7 ซึ่งทำการทดสอบเวลาและความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมในการตรึงในช่วง 0-12 ชั่วโมง และ 150-350 รอบต่อนาที เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมนำมาทดสอบการย่อยน้ำมันและไขมัน โดยใช้น้ำมัน 10 มิลลิลิตร เจือจางเป็น 100 มิลลิลิตร ที่พีเอช 7.2 เย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 วัน ผลการศึกษาพบว่ายิ่งเพิ่มเวลาในการตรึงปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ที่ยึดเกาะบนวัสดุตรึงจะยิ่งเพิ่มขึ้น คือ ที่เวลา 12 ชั่วโมง

ปริมาณของโปรตีนที่ยึดเกาะบนวัสดุรีงมีมากที่สุด คือ 93.7, 90.2 และ 87.3 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ โคลโตซาน ซีไลด์ และ เซลลูโลสอะซิเตต นอกจากนี้พบว่ายิ่งเพิ่มความเร็วยิ่งเพิ่มปริมาณโปรตีนก็จะยิ่งเพิ่มขึ้นด้วย โดยพบว่าที่ 350 รอบต่อนาที ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด 90, 85 และ 70 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ โคลโตซาน ซีไลด์ และ เซลลูโลสอะซิเตต โดยที่โคลโตซานเป็นวัสดุรีงที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการรีงเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus niger* และเมื่อนำสภาวะดังกล่าวข้างต้นมากำจัดน้ำมันและไขมันที่มีความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร พบว่าสามารถกำจัดน้ำมันและไขมันได้ 48 เปอร์เซ็นต์ และสามารถลดค่าซีไอดีได้ 47 เปอร์เซ็นต์

1.3.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมักเป็นการใช้วิธีการบำบัดแบบไร้อากาศเนื่องจากระบบหมักไร้อากาศเป็นวิธีที่เป็นที่ยอมรับว่ามีประสิทธิภาพสูงสำหรับบำบัดน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแต่การใช้ระบบหมักไร้อากาศอย่างเดียวยังไม่สามารถปล่อยน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้ เนื่องจากยังมีสารอินทรีย์อยู่ค่อนข้างสูง (Chan *et al.*, 2010) ดังนั้นจำเป็นต้องใช้การบำบัด 2 ขั้นตอน เพื่อลดปริมาณสารอินทรีย์ให้ได้มากที่สุดหรือจำเป็นต้องมีการบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นก่อนเข้าระบบหมักไร้อากาศเพราะการบำบัดเบื้องต้นสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการลดสารอินทรีย์ อีกทั้งยังสามารถเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพได้ด้วย (Leaño and Babel, 2012; Choi *et al.*, 2013) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

Leaño และ Babel (2012) ศึกษาการบำบัดน้ำเสียและผลิตก๊าซชีวภาพ (ไฮโดรเจน) จากน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยศึกษาผลของเอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวต่อประสิทธิภาพในการบำบัดและประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งดำเนินการศึกษาแบบกะ (Batch) โดยใช้ น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยสารลดแรงตึงผิวที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์จากระบบบำบัดไร้อากาศที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที ในการหมัก ซึ่งใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ 10 มิลลิลิตร น้ำเสีย 50 มิลลิลิตร ในขวดซีรัม ปรับพีเอชเป็นกลาง ผลการศึกษาพบว่า การปรับสภาพหรือบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 0.20 % และที่ค่าพีเอช 7 สามารถกำจัดซีไอดีได้ร้อยละ 58 ให้ผลผลิตไฮโดรเจน 1.88 โมลไฮโดรเจนต่อกรัมซีไอดี ส่วนน้ำเสียที่ปรับสภาพด้วยสารลดแรงตึงผิวที่มีความเข้มข้นและพีเอชเดียวกันสามารถกำจัดซีไอดีได้ร้อยละ 52 สามารถผลิตไฮโดรเจนได้ 2.76 โมลไฮโดรเจนต่อกรัมซีไอดี และพบว่าสามารถให้พลังงานเฉลี่ยสูงสุด 12,434 มิลลิวัตต์ และ 10,926 มิลลิวัตต์ เมื่อใช้น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวตามลำดับ นอกจากการใช้เอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวสามารถลดปริมาณซีไอดีและเพิ่มผลผลิตก๊าซไฮโดรเจน 12.5, 18.3 และ 40.4

เปอร์เซ็นต์ และ 33.1, 43.5, 59.1 และ 77.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Choi และคณะ (2013) ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้ระบบไร้อากาศที่เป็นถังปฏิกรณ์ร่วมระหว่างถังหมักไร้อากาศ (High-rate anaerobic reactor) และระบบกรองไร้อากาศ ซึ่งเป็นการบำบัด 2 ขั้นตอน ดำเนินการที่อุณหภูมิ 36 ± 1 องศาเซลเซียส ปรับพีเอชในถังหมักไร้อากาศเป็น 7 ± 0.5 ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 0.91-23 กิโลกรัมชีโอดีต่อลบ.ม.ต่อวัน เติมน้ำเสียทุก 6 ชั่วโมง เมื่อน้ำเสียผ่านการบำบัดในถังหมักไร้อากาศจะถูกส่งผ่านไปบำบัดต่อในระบบถังกรองไร้อากาศ ผลการศึกษาพบว่าในช่วงเริ่มต้นของการเดินระบบภาวะบรรทุกสารอินทรีย์เพิ่มขึ้นจาก 0.91 เป็น 13.73 กิโลกรัมชีโอดีต่อลบ.ม.ต่อวัน ในช่วง 2 สัปดาห์แรก ส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัดชีโอดีลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากเกิดภาวะ shock overload แต่เมื่อเปลี่ยนภาวะบรรทุกสารอินทรีย์เป็น 10-20 กิโลกรัมชีโอดีต่อลบ.ม.ต่อวัน ชีโอดีลดลง 75.8-93.3 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 9 สัปดาห์ ส่วนในช่วงที่ระบบมีความเสถียร (Steady-state) หลัง 4 สัปดาห์ระบบมีความเสถียรการกำจัดชีโอดีค่อนข้างคงที่และให้ประสิทธิภาพการกำจัดชีโอดีสูงสุด 95.6 เปอร์เซ็นต์ ที่ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 13 กิโลกรัมชีโอดีต่อลบ.ม.ต่อวัน

1.3.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

การบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียที่เกิดจากการผลิตไบโอดีเซลจำเป็นต้องบำบัดเบื้องต้นก่อนที่จะมีการบำบัดต่อในระบบไร้อากาศ เนื่องจากน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีสารอินทรีย์สูงมากแต่มีแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอาหารของจุลินทรีย์น้อย ส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เป็นสาเหตุให้น้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลบำบัดได้ยากด้วยวิธีการทางชีวภาพ เนื่องจากน้ำเสียมีองค์ประกอบของน้ำเสียไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Suchara *et al.*, 2005) จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องมักจะใช้การบำบัดเบื้องต้นด้วยกรด การสร้างและรวมตะกอนด้วยสารเคมี และใช้การสร้างและรวมตะกอนด้วยไฟฟ้า (เอนกสาเวอินทร์, 2552; Ngamlerdpokin *et al.*, 2011) ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันสารอินทรีย์ได้สูง และเมื่อนำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นไปบำบัดต่อในระบบไร้อากาศ นอกจากจะได้ผลพลอยได้เป็นก๊าซชีวภาพแล้วยังเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดชีโอดีได้ด้วย (คารินทร์ ภูกิ่งงาม, 2551) โดยรายละเอียดดังนี้

Ngamlerdpokin และคณะ (2011) ศึกษาเปรียบเทียบการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลด้วยกระบวนการแอกกูเลชัน (Cagulation) ด้วยสารเคมีกับกระบวนการอิเล็กโทรโคแอกกูเลชัน (Electro-Coagulation) ในการศึกษาดำเนินการโดยใช้สารเคมี 3 ชนิด คือ กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4), กรดไนตริก (HNO_3) และกรดไฮโดรคลอริก (HCl) โดยศึกษาที่ค่าพีเอชแตกต่างกันในการกำจัดกรดไขมันอิสระและเป็นการบำบัดเบื้องต้นก่อนนำไปดำเนิน

การศึกษาในกระบวนการสร้างและการรวมตะกอนด้วยสารเคมีและทางเคมีไฟฟ้าในการกำจัดน้ำมันและไขมันออกจากน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล การศึกษาพบว่าในส่วนของ การใช้กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) กรดไนตริก (HNO_3) และกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ในการบำบัดเบื้องต้นที่พีเอช 2.5 มีประสิทธิภาพในการกำจัดกรดไขมันอิสระ 24.5, 15.1 และ 21.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในส่วนของ การใช้สารเคมีในการสร้างตะกอน พบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี บีโอดี และน้ำมันและไขมันได้เกือบสมบูรณ์ คือ มีประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดี บีโอดี และน้ำมันและไขมันเท่ากับ 97.5, 97.2 และ 98.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในส่วนของ การสร้างตะกอนด้วยกระบวนการทางไฟฟ้าพบว่าประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันและไขมันสูงสุด 99.5% ที่พีเอชสูงกว่า 4

ดารินทร์ ภูกิจงาม (2551) ศึกษาเกี่ยวกับการบำบัดน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้ระบบแผ่นกั้นไร้ออกซิเจน ซึ่งน้ำเสียที่ใช้เป็นน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้ต่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันของน้ำมันพืชใช้แล้วที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นด้วยการตกตะกอนทางเคมี ในการศึกษาดำเนินการโดยใช้ถังปฏิกรณ์แผ่นกั้นไร้ออกซิเจนที่มีจำนวนห้อง 5 ห้อง ขนาดปริมาตรน้ำในระบบ 22 ลิตร เดินระบบแบบต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้องที่เวลากักพักน้ำคงที่ 10 วัน ผลการศึกษาพบว่าที่อัตราภาระซีโอดี 0.5-3.0 กก.ซีโอดีต่อลบ.ม.-วัน ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีทั้งหมด ซีโอดีละลายน้ำ เมทานอล กลีเซอรอลและน้ำมันและไขมันมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วงร้อยละ 98.45-99.05, 99.01-99.41, 79.05-100.00, 69.86-100.00 และ 41.79-83.82 ตามลำดับ พบว่าระบบมีศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพได้เป็นอย่างดี โดยพบว่ามีปริมาณก๊าซชีวภาพต่อปริมาณซีโอดีที่ถูกกำจัดและปริมาณก๊าซมีเทนต่อปริมาณซีโอดีที่ถูกกำจัดมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.19-0.38 และ 0.12-0.28 ลิตรต่อกรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด ตามลำดับ โดยก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าเฉลี่ยของปริมาณก๊าซมีเทนที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในช่วงร้อยละ 63.78-74.45 พบว่าการเพิ่มอัตราภาระซีโอดีให้สูงขึ้นในช่วงอัตราภาระซีโอดีเท่ากับ 0.5-1.5 กก.ซีโอดีต่อลบ.ม.ต่อวัน จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัดมลสารต่างๆ ในน้ำเสีย ปริมาณก๊าซชีวภาพต่อซีโอดีที่ถูกกำจัด และร้อยละของปริมาณก๊าซมีเทนในก๊าซชีวภาพที่ผลิตได้เพิ่มสูงขึ้น โดยที่อัตราภาระซีโอดีเท่ากับ 15 กก.ซีโอดีต่อลบ.ม.ต่อวัน มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี ปริมาณก๊าซชีวภาพต่อปริมาณซีโอดีที่ถูกกำจัดและปริมาณก๊าซมีเทนต่อปริมาณซีโอดีที่ถูกกำจัดสูงสุด เท่ากับร้อยละ 99.41, 0.38 และ 0.28 ลิตรต่อกรัมซีโอดีที่ถูกกำจัด ตามลำดับ และจากการศึกษาพบว่าประสิทธิภาพการกำจัดซีโอดีเกิดขึ้นสูงสุดในห้องที่ 1 จากนั้นประสิทธิภาพการกำจัดมีแนวโน้มลดลงตามระยะทางของระบบ

เอนก สวาทอินทร์ (2552) ศึกษาการบำบัดน้ำมันและไขมันเบื้องต้นในน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลโดยใช้วิธีการทางกายภาพ คือ ใช้กระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศและวิธีการทางเคมี คือ วิธีการปรับพีเอชด้วยกรดและกระบวนการ โคแอกกูเลชัน (Coagulation) ด้วยการ

เดิมสารช่วยรวมตะกอนและใช้กระบวนการร่วมระหว่างการทำบำบัดด้วยวิธีการทางกายภาพและเคมี ซึ่งในการปรับพีเอชด้วยกรดทดสอบโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) และ กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) 1 นอร์มัล ปรับพีเอชเป็น 1, 3, 5 และ 7 ส่วนกระบวนการโคแอกกูเลชันทำการทดสอบหาชนิดและ ปริมาณของสารช่วยรวมตะกอนและค่าพีเอชที่เหมาะสม ซึ่งสารช่วยรวมตะกอนที่ใช้ทดสอบได้แก่ สารส้ม เพอริกคลอไรด์ ไดคซาน พอลิอะลูมิเนียมคลอไรด์และน้ำทะเล ในการใช้วิธีการร่วมจะ ศึกษากระบวนการอัดอากาศร่วมกับการปรับพีเอชและกระบวนการอัดอากาศร่วมกับการปรับพีเอช และกระบวนการ โคแอกกูเลชัน ผลการศึกษาพบว่า การเติมกรดมีผลให้น้ำมันและไขมันเกิด พฤติกรรมรวมตัวกันโดยยิ่งค่าพีเอชต่ำลงน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจะรวมตัวและลอยสู่ผิวน้ำ มากขึ้นและเมื่อนำมาส่องกล้องจุลทรรศน์พบว่าค่าพีเอชต่ำจะมีหยดน้ำมันขนาดใหญ่กว่าที่ค่าพีเอชสูง และมีปริมาณน้ำมันมากกว่าด้วย สามารถกำจัดน้ำมันและไขมันได้มากกว่าร้อยละ 80 ส่วน กระบวนการโคแอกกูเลชันพบว่าสารส้มและเพอริกคลอไรด์จะต้องควบคุมพีเอชให้อยู่ในช่วง 5-7 การใช้พอลิอะลูมิเนียมคลอไรด์จะต้องควบคุมให้อยู่ในช่วง 6-7 จึงจะสามารถทำให้เกิดการรวม ตะกอนน้ำมันและลอยขึ้นสู่ผิวน้ำได้ดี ส่วนน้ำทะเลสามารถใช้เป็นสารช่วยรวมตะกอนได้แต่มีผล ให้ค่าของแข็งละลายน้ำสูงขึ้นหลังผ่านการบำบัด แต่ที่พีเอช 6 สารทั้ง 3 ชนิดให้ประสิทธิภาพการ กำจัดน้ำมันและไขมันสูงสุด โดยปริมาณที่เหมาะสมของสารช่วยรวมตะกอน คือ ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร ส่วนน้ำทะเลร้อยละ 50 โดยปริมาตร ซึ่งสารช่วยรวมตะกอนทุกชนิดที่สภาวะดังกล่าว ให้ประสิทธิภาพการบำบัดมากกว่าร้อยละ 95 ในส่วนของการใช้การปรับพีเอชร่วมกับกระบวนการ ลอยแบบอัดอากาศพบว่ามีประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันและไขมันต่ำและอาจมีผลให้เกิดการกัด กร่อนเครื่องมืออุปกรณ์ที่เป็นโลหะได้ และในส่วนการใช้การปรับพีเอชร่วมกับการอัดอากาศและ กระบวนการโคแอกกูเลชันที่ใช้ระบบ recycle-stream Pressurization สามารถกำจัดน้ำมันและ ไขมันได้สูงสุดร้อยละ 98-99.6

1.3.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตก๊าซชีวภาพและศักยภาพในการผลิตมีเทน

งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตก๊าซชีวภาพและศักยภาพในการผลิตมีเทนจากน้ำ ที่ทิ้งที่ศึกษามีทั้งระบบแบบกะและแบบกึ่งต่อเนื่อง ส่วนใหญ่ดำเนินการหมักภายใต้อุณหภูมิ 35 องศา เซลเซียส (Siles *et al.*, 2010; Domingues *et al.*, 2015; เมธิยา หมวดนิม, 2555, นฤมล เชาวะระ โทก, 2556) และค่าพีเอชเป็นกลาง คือ พีเอช 7 ซึ่งเป็นพีเอชที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตก๊าซชีวภาพ (Nabarlatz *et al.*, 2013) การผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำทิ้งที่มีการตรึงเชื้อจุลินทรีย์จะมีเขย่าด้วย เพื่อให้ จุลินทรีย์ที่ทำการตรึงสัมผัสกับน้ำเสียมากที่สุด (Singh *et al.*, 2013) นอกจากนี้พบว่า การบำบัด เบื้องต้นและการตรึงเชื้อบนตัวกลางสามารถช่วยเพิ่มการผลิตก๊าซชีวภาพได้ (Singh *et al.*, 2013; Domingues *et al.*, 2015) อย่างไรก็ตามการใช้สารตั้งต้นที่แตกต่างกัน ความเข้มข้นของสารอินทรีย์

ที่แตกต่างกันของวัสดุหมักจะให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพที่แตกต่างกัน ซึ่งรายละเอียดมีดังนี้

Siles และคณะ (2010) ศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพและศักยภาพในการผลิตมีเทนจากการหมักร่วมของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลกับกลีเซอรอลที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล ซึ่งน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้มีการบำบัดเบื้องต้นด้วยกระบวนการสร้างและรวมตะกอนด้วยไฟฟ้า (Electrocoagulation) ส่วนกลีเซอรอลปรับพีเอชเป็นกลางและศึกษาอัตราส่วนของหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อสารตั้งต้นในช่วง 1.48-5.02 กรัมวีเอสเอสต่อกรัมซีไอดี และใช้อัตราการบรรทุกสารอินทรีย์ (Organic loading rates) ในช่วง 0.27-0.36 กรัมซีไอดีต่อกรัมวีเอสเอสต่อวัน ดำเนินการทดลองแบบกะ (Batch) ในระดับห้องปฏิบัติการ ดำเนินการหมักที่ 35 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าการหมักร่วมระหว่างน้ำเสียกับกลีเซอรอลจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยสามารถให้ผลผลิตมีเทนได้สูงสุดในช่วงระยะเวลาการหมัก 20 วัน เท่ากับ 310 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมซีไอดีที่ถูกกำจัด มีประสิทธิภาพในการกำจัดซีไอดีร้อยละ 81 ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการหมักร่วมในสภาวะไร้อากาศของกลีเซอรอลกับน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลสามารถเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพได้

Nabarlatz และคณะ (2013) ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตก๊าซชีวภาพโดยใช้น้ำเสียจากโรงงานน้ำมันปาล์ม ซึ่งดำเนินการทดลองแบบกะ (Batch) โดยประเมินผลของพีเอชและอัตราส่วนของหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อน้ำเสีย โดยศึกษาหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้หมัก 2 ชนิด คือ กากตะกอนจากบ่อบำบัดของโรงงานผลิตน้ำมันปาล์มกับมูลสุกร ทั้งนี้การประเมินค่าพีเอชจะใช้พีเอช 4.8 และ 7 ใช้อัตราส่วนของหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อสารตั้งต้น 0.5 กรัมของแข็งระเหยง่ายของหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อกรัมของแข็งระเหยง่ายของน้ำเสีย โดยใช้น้ำเสียปริมาณ 300 ml ในถังปฏิกรณ์ที่มีขนาด 500 ml หมัก 30 วัน ที่ 37±2 องศาเซลเซียส ส่วนการประเมินผลของอัตราส่วนหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อน้ำเสียดำเนินการประเมินที่ 1, 1.5 และ 2 กรัมของแข็งระเหยง่ายของหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อกรัมของแข็งระเหยง่ายของน้ำเสีย โดยใช้น้ำเสียปริมาณ 300 ml ในถังปฏิกรณ์ที่มีขนาด 500 ml หมัก 20 วัน ที่ 37±2 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าพีเอชที่เหมาะสมในการหมัก คือ พีเอช 7 เนื่องจากให้ผลผลิตมีเทนสะสมสูงกว่าพีเอช 4.8 โดยให้ผลผลิตมีเทนสะสม 778 มิลลิลิตร สำหรับการหมักที่ใช้มูลสุกรเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์และ 786 มิลลิลิตร สำหรับการใช้อีกากตะกอนจากบ่อบำบัดของโรงงานผลิตน้ำมันปาล์ม ตามลำดับ ดังนั้นค่าพีเอชที่เหมาะสมของการหมัก คือ พีเอช 7 และพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดของหัวเชื้อจุลินทรีย์ต่อน้ำเสีย คือ อัตราส่วน 2:1 ที่ค่าพีเอช 7 โดยให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสะสมสูงสุด 2,740 มิลลิลิตรของปริมาตรมีเทนสะสม สำหรับการหมักที่ใช้มูลสุกรเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์และ 1,411 มิลลิลิตรของปริมาตรมีเทนสะสม สำหรับการใช้อีกากตะกอนจากบ่อบำบัดของโรงงานผลิตน้ำมันปาล์ม

Singh และคณะ (2013) ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยการตรึงเชื้อ *Clostridium butyricum* EB6 ในโพลีเอทิลีนไกลคอล (Polyethylene glycol) เปรียบเทียบกับการใช้เซลล์อิสระ โดยในการศึกษาใช้น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มดิบ 1 ลิตร ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรึงแบบห่อหุ้มในพอลิเมอร์ 300 กรัม ในถังปฏิกรณ์ขนาด 2 ลิตร ภายใต้สภาวะไร้อากาศและเก็บไว้ที่อุณหภูมิคงที่ 37 °C และ pH 5.5 ที่อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที ผลการศึกษาพบว่าสามารถผลิตก๊าซชีวภาพ (ไฮโดรเจน) ได้สูงสุด 510 มิลลิลิตร_{H₂} ต่อลิตรต่อชั่วโมง (22.7 มิลลิเมตรต่อลิตรต่อชั่วโมง) ที่ภาระบรรทุกสารอินทรีย์ 60,000 มิลลิกรัมซีโอดีต่อลิตร โดยขนาดของเม็ดพอลิเมอร์ที่ตรึงเซลล์จุลินทรีย์อยู่ภายในที่เหมาะสมสำหรับการผลิตก๊าซไฮโดรเจนคือ ขนาด 3.0 มิลลิเมตร และพบว่าการใช้เชื้อ *Clostridium butyricum* EB6 ตรึงในโพลีเอทิลีนไกลคอลให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ (ไฮโดรเจน) ได้ดีกว่าการใช้เซลล์อิสระ คือ สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้ 22.7 มิลลิเมตรต่อลิตรต่อชั่วโมงขณะที่การใช้เซลล์อิสระผลิตก๊าซไฮโดรเจนได้เพียง 12.3 มิลลิเมตรต่อลิตรต่อชั่วโมง ดังนั้นตรึงเชื้อ *Clostridium butyricum* EB6 ในโพลีเอทิลีนไกลคอลสามารถใช้เป็นทางเลือกสำหรับการเร่งการผลิตก๊าซไฮโดรเจนจากน้ำเสียได้เป็นอย่างดี

Domingues และคณะ (2015) ศึกษาผลของการใช้เอนไซม์บำบัดเบื้องต้นต่อการหมักย่อยไร้อากาศของไขมันนมในน้ำเสียอุตสาหกรรมนมเพื่อศึกษาศักยภาพในการผลิตมีเทน ซึ่งใช้เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Candida rugosa* โดยทำการศึกษาค่าพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน ซึ่งศึกษาพีเอชในช่วง 6-9 อุณหภูมิ 35-45 องศาเซลเซียส และเมื่อได้สภาวะการทำงานที่เหมาะสมนำมาย่อยไขมันเบื้องต้นและเข้าสู่กระบวนการหมักไร้อากาศที่ทำการศึกษาแบบกะหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พีเอช 7 และใช้มูลวัวเป็นหัวเชื้อในการหมัก ผลการศึกษาพบว่าเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *C. rugosa* ทำงานได้ดีที่สุดที่ค่าพีเอช 6.6 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยให้ปริมาณกรดไขมันอิสระมากที่สุดและเมื่อนำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นมาศึกษาศักยภาพในการผลิตมีเทนพบว่าให้ศักยภาพในการผลิตมีเทน 417.9 มิลลิลิตรมีเทนต่อกรัมซีโอดีที่เติมลงไป ซึ่งมากกว่าการใช้น้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดถึง 2 เท่า

เมธิยา หมวดฉิม (2555) ศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพและศักยภาพในการผลิตมีเทนจากการหมักร่วมของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้วกับกากตะกอนดีเคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ซึ่งน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้ในการศึกษาผ่านการบำบัดขั้นต้นด้วยกระบวนการร่วมระหว่างการปรับค่าพีเอช กระบวนการสร้างตะกอนและกระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศ ทั้งนี้ได้ดำเนินการศึกษาแบบกะ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พีเอช 7 เขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ใช้ค่าของแข็งกากตะกอนดีเคนเตอร์เท่ากับ 0, 1, 2.5, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตรรวมของการหมัก 0.50 ลิตร ใช้ตะกอน

จุลินทรีย์เริ่มต้น 50 มิลลิลิตร ผลการทดลองพบว่าในช่วงแรกมีอัตราการผลิตสูงทั้งปริมาณก๊าซชีวภาพสะสมและก๊าซมีเทนแต่จะลดลงตามระยะเวลาการทดลอง ซึ่งการหมักที่ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำเสียจากการบวกรวมการผลิตไบโอดีเซลกับตะกอนดีเคนเตอร์สามารถผลิตก๊าซมีเทนตลอดระยะเวลาการหมัก 45 วัน เฉลี่ยเท่ากับ 1,069.41, 2604.86, 1,743.89 และ 1,422.45 มิลลิลิตรตามลำดับ

นฤมล เชาวะระโทก (2556) ศึกษาศึกษาภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพที่ใช้กากตะกอนดีเคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่อัตราส่วนต่างๆ ร่วมกับน้ำเสียโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งโดยกระบวนการหมักย่อยในสภาวะไร้อากาศ โดยใช้การทดลองแบบกะในการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสม ดำเนินการหมักที่อุณหภูมิ 35 ± 1 องศาเซลเซียส เขย่า 180 รอบต่อนาที เมื่อได้อัตราส่วนที่เหมาะสมก็ดำเนินการหมักในระบบ CSTR ที่ศึกษาระยะเวลาพักและระยะเวลาการกวนผสมที่แตกต่างกันผลการศึกษาพบว่าการหมักร่วมมีอัตราการผลิตก๊าซชีวภาพสูงกว่าการหมักด้วยน้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งเพียงอย่างเดียว โดยอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดสำหรับหมักรวมน้ำเสียจากโรงงานอาหารทะเลแช่แข็งกับกากตะกอนดีเคนเตอร์ ในชุดทดลองแบบกะ คือ น้ำเสีย 180 มิลลิลิตร การกวนตะกอนดีเคนเตอร์ 10 กรัม ซึ่งให้ศึกษาภาพในการผลิตก๊าซมีเทน 0.351 ลิตรมีเทนต่อกรัมชีโอดีที่ถูกกำจัด และให้ประสิทธิภาพในการบำบัด ชีโอดีทั้งหมด ชีโอดีละลายน้ำ ของแข็งทั้งหมดและของแข็งระเหย 76.2, 83.6, 43.2 และ 56.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในถังปฏิกรณ์ CSTR พบว่า ที่ระยะเวลาพักน้ำเสีย 20 วัน ระยะเวลาการกวน 24 ชั่วโมง ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพสูงสุด 2.88 ลิตรต่อวัน องค์ประกอบก๊าซมีเทน 64.6 เปอร์เซ็นต์ ให้ศึกษาภาพในการผลิตก๊าซมีเทน 0.292 ลิตรมีเทนต่อกรัมชีโอดีที่ถูกกำจัด

1.3.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของการใช้เอนไซม์ไลเปสบำบัดเบื้องต้นต่อการเพิ่มศึกษาภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพ

การใช้เอนไซม์บำบัดเบื้องต้นช่วยให้ศึกษาภาพการผลิตก๊าซชีวภาพเพิ่มขึ้น (Mandes *et al.*, 2010; Cherif *et al.*, 2014; Meng *et al.*, 2015) เนื่องจากเอนไซม์จะช่วยย่อยโมเลกุลของน้ำมันและไขมันให้เป็นกรดไขมันที่จะถูกเปลี่ยนเป็นกรดและเปลี่ยนเป็นมีเทนได้ง่ายขึ้น นอกจากเพิ่มปริมาณก๊าซชีวภาพแล้วยังช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพได้ด้วย คือ สามารถลดชีโอดีและสีได้ด้วย (Mandes *et al.*, 2010)

Mandes และคณะ (2010) ศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพของน้ำเสียอุตสาหกรรมนมที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ไลเปสเปรียบเทียบกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น ซึ่งก่อนการศึกษาศักยภาพของการย่อยสลายทางชีวภาพทำการทดสอบการย่อยน้ำมันและไขมันของเอนไซม์ โดยใช้ น้ำเสีย 250 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็น 8 เติมเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.5

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร เขย่า 200 รอบต่อนาที ทำปฏิกิริยาที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทดสอบการย่อยโดยวัดปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล ส่วนการทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพ ทดสอบแบบกะในขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ 50 มิลลิลิตร น้ำเสีย 200 มิลลิลิตร ดำเนินการหมักที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน ผลการศึกษาพบว่า หลังการใช้เอนไซม์บำบัดน้ำเสียเบื้องต้นน้ำมันและไขมันจะแตกตัวเป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล โดยที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลมากกว่าการใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งให้เปอร์เซ็นต์การย่อยไขมันสูงกว่าด้วย โดยย่อยไขมันได้ 27.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการทดสอบการย่อยสลายทางชีวภาพที่ตรวจสอบจากประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี ที และผลผลิตก๊าซชีวภาพ พบว่าน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ความเข้มข้น 0.05 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดซีโอดีได้ 58.1 และ 69.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ลดซีได้ 71.1 และ 75.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 359 และ 403 มิลลิลิตร โดยที่น้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ลดซีโอดีและซีได้ 38.2 และ 13.9 เปอร์เซ็นต์ และผลผลิตก๊าซชีวภาพ 209 มิลลิลิตร

Cherif และคณะ (2014) ศึกษาการใช้เอนไซม์ไลเปสในการบำบัดเบื้องต้นเพื่อเพิ่มการย่อยสลายไขมันจากอุตสาหกรรมกลั่นน้ำมันและเพิ่มศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพ โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Staphylococcus haemolyticus* ในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไขมัน ซึ่งดำเนินการที่ความเข้มข้นของไขมันที่แตกต่างกัน คือ ความเข้มข้น 10, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ดำเนินการย่อยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลามากกว่า 48 ชั่วโมง ตรวจสอบประสิทธิภาพการบำบัดเบื้องต้นโดยตรวจสอบการย่อยสลายของไขมันเปรียบเทียบระหว่างไขมันที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นกับไขมันที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น จากนั้นนำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นมาทดสอบความสามารถในการผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งดำเนินการทดสอบแบบกะ (Batch) ปริมาณการหมัก 500 มิลลิลิตร หมักที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่า ที่ความเข้มข้นของไขมัน 10 เปอร์เซ็นต์ อัตราการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์กับไขมันเป็น 90 เปอร์เซ็นต์ หลังการทำปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง ในขณะที่ยังเพิ่มความเข้มข้นของไขมันอัตราการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสยังลดลง แต่เมื่อเพิ่มเวลาการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเป็น 36 และ 48 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้น 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อัตราการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์กับไขมันก็เพิ่มขึ้นเป็น 90 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าการใช้เอนไซม์ไลเปสบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นสามารถเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพได้ คือ น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ไลเปสให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 800-900 มิลลิลิตร ส่วนน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 400 มิลลิลิตร

Meng และคณะ (2015) ศึกษาผลของการเติมเอนไซม์ไลเปสในน้ำเสียจากร้านอาหารจีนต่อการย่อยสลายและการผลิตมีเทน โดยใช้เอนไซม์ไลเปสแบบผงที่ผลิตจากเชื้อ *Aspergillus niger* ซึ่งค่ากิจกรรมเอนไซม์ 50 ยูนิต์ต่อมิลลิกรัม ทำงานได้ดีที่พีเอช 6-13 อุณหภูมิ 20-45 องศาเซลเซียส ในการศึกษาแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ใช้เอนไซม์บำบัดน้ำเสียเบื้องต้นเพื่อเปลี่ยนไขมันเป็นกรดไขมันก่อนเข้าสู่ระบบหมักไร้อากาศ และกลุ่มที่มีการเติมเอนไซม์ลงไปโดยตรงในถังย่อยไร้อากาศ ซึ่งในการศึกษาใช้เอนไซม์ที่มีความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร ทดสอบในขวดซีรัมโดยใช้ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ภาวะบรรทุกสารอินทรีย์ 20 กรัมวีเอสต่อลิตร บ่มที่ 35 ± 1 องศาเซลเซียส วัดปริมาณก๊าซและองค์ประกอบมีเทนทุกวันตลอดระยะเวลาการหมัก ซึ่งใช้สมการกอมเพิร์ตส (Gompertz) อธิบายและทำนายประสิทธิภาพการผลิตมีเทน จากการศึกษาพบว่าหลังการเติมเอนไซม์ลงไปกรดไขมันระเหย (VFA) จะเพิ่มขึ้นในขณะที่กรดไขมันสายโซ่ยาว (LCFAs) ลดลง เนื่องจากกรดไขมันสายโซ่ยาวถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันระเหย โดยพบว่าการใช้เอนไซม์บำบัดน้ำเสียเบื้องต้นก่อนเข้าสู่ระบบหมักไร้อากาศให้ผลผลิตมีเทนในแต่ละวันและปริมาณมีเทนสูงกว่าการเติมเอนไซม์ลงไปในระบบหมักโดยตรง ซึ่งที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตรให้ผลดีที่สุด คือ ให้ผลผลิตมีเทน 500.1 มิลลิลิตรต่อกรัมวีเอสที่เติมลงไป ซึ่งมากกว่าการเติมเอนไซม์ลงไปในระบบหมักโดยตรง 4.97-26.50 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradation) แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเปลี่ยนกรดไขมันสายโซ่ยาวให้เป็นกรดไขมันสายโซ่สั้น

1.4 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อทดสอบการตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยพันธะโคเวเลนต์บนเอมีนพอลิฟีนิลซันโพนพร้อมทดสอบความทนทานและอายุการใช้งาน
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในตัวอย่างน้ำเสีย
3. เพื่อศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพจากตัวอย่างน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูป

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปสำหรับการย่อยสลายน้ำมันและไขมันของน้ำเสียตัวอย่าง
2. ทราบถึงความทนทานและอายุการใช้งานของเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปเพื่อเป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้

3. ทราบถึงประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพของน้ำเสียผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วย เอนไซม์ตรีงรูปและได้ก๊าซชีวภาพไปใช้ประโยชน์
4. ลดปัญหาน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล
5. เป็นแนวทางในการพัฒนาและประยุกต์ใช้สำหรับการจัดการน้ำเสียที่มีปริมาณน้ำมัน และไขมันสูงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

1.6 ขอบเขตของการศึกษา

1. การตรีงเอนไซม์จะทำการตรีงเอนไซม์ด้วยพันธะโคเวเลนต์บนเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน โดยใช้เอนไซม์ทางการค้าที่ผลิตจากเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ซึ่งในส่วนของ การตรีงจะประกอบด้วย การสังเคราะห์พอลิเมอร์และการตรีงเอนไซม์ด้วยพันธะโคเวเลนต์ โดยในส่วนของ การสังเคราะห์พอลิเมอร์จะประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการทำไนเตรชันซึ่งเป็นการเติมหมู่ไนเตรตเข้าไปที่สายโซ่พอลิเมอร์และขั้นตอนการทำรีดักชันซึ่งเป็นการเปลี่ยนหมู่ไนเตรตให้เป็นหมู่เอมีนส่วนการตรีงเอนไซม์ไลเปสด้วยพันธะโคเวเลนต์บนเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน ก่อนตรีงต้องทำการกระตุ้นแผ่นเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน โดยแช่ในสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.075 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (อิสลาห์ คีอราแม, 2551)

2. การทดสอบการตรีงเอนไซม์ ในส่วนนี้จะวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ตรีงรูปและปริมาณโปรตีนที่ยึดเกาะบนพอลิเมอร์เพื่อทดสอบว่าเอนไซม์ที่ทำการตรีงมีการยึดเกาะบนพอลิเมอร์หรือไม่ โดยเปรียบเทียบกับค่ากิจกรรมของเอนไซม์อิสระและปริมาณโปรตีนของเอนไซม์อิสระ ซึ่งค่ากิจกรรมของเอนไซม์วัดตามวิธีการของ Winkler และ Stuckmann (1979) ส่วนปริมาณโปรตีนของเอนไซม์วัดตามวิธีการของ Bradford (1976)

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ไลเปสตรีงรูปในการย่อยสลายน้ำมัน และไขมันของน้ำเสียตัวอย่างจะทำการศึกษากันบนแผ่นเอนไซม์ตรีงรูป ระยะเวลาการสัมผัสของเอนไซม์ตรีงรูปกับตัวอย่างน้ำเสียที่เวลาต่างๆ เพื่อทดสอบดูว่าเอนไซม์ที่ทำการตรีงสามารถย่อยสลายน้ำมันและไขมันได้สูงสุดเมื่อใช้แผ่นเอนไซม์ตรีงรูปกี่แผ่นและใช้ระยะเวลาการสัมผัสใด ซึ่งความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันจะวัดจากปริมาณกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) และกลีเซอรอล (Glycerol) ที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้จะศึกษาปริมาณซีโอดีละลายน้ำ (SCOD) และปริมาณน้ำมันและไขมัน (Oil and Grease) ด้วย เพื่อดูว่าการย่อยสลายน้ำมันและไขมันโดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ทำการตรีงรูปทำให้ปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้นและทำให้ปริมาณน้ำมันและไขมันลดลงหรือไม่

4. การทดสอบความทนทานและอายุการใช้งานจะนำเอนไซม์ที่ทำการตรึงรูปไปทำการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในตัวอย่างน้ำเสียจำนวนหลายๆ ครั้งจนกิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยจะนำสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาก่อนหน้ามาทดสอบ

5. การศึกษาผลที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในตัวอย่างน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ตรึงรูป ในส่วนนี้จะนำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ตรึงรูป เอนไซม์อิสระ และผ่านการปรับพีเอชด้วยกรด (น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล) และการทิ้งให้ตกตะกอน (น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม) มาหมักในขวดหมักเพื่อดูประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพเปรียบเทียบกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัด โดยทำการศึกษาสัดส่วนของปริมาณน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ในหน่วยปริมาตร โดยปริมาตร และศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการหมักซึ่งจะศึกษาจนปริมาณก๊าซชีวภาพหมด วัดปริมาณก๊าซชีวภาพด้วยการแทนที่น้ำและตรวจสอบองค์ประกอบก๊าซชีวภาพด้วยเครื่อง Gas Chromatography

บทที่ 2

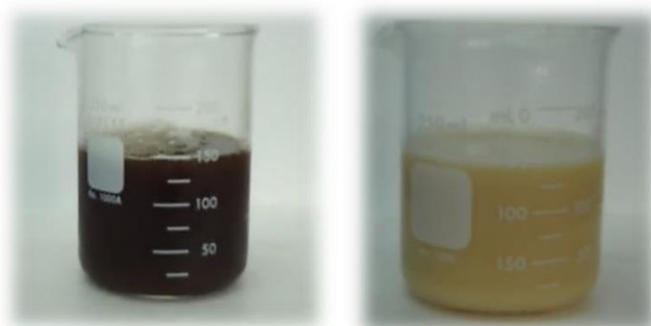
วิธีการดำเนินการศึกษา

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการ (Experimental study) ดำเนินการวิจัยในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ของคณะกรรมการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งศึกษาเกี่ยวกับการตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยพันธะโควาเลนต์บนเอมีนพอลิฟิโนลซัลโฟน โดยใช้เอนไซม์ทางการค้าที่ผลิตจากเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการนำเอนไซม์ไลเปสที่ทำการตรึงมาใช้ในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียในขั้นตอนการบำบัดเบื้องต้นเพื่อนำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นดังกล่าวมาศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียและเพิ่มความสามารถในการผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

2.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

2.1.1 ตัวอย่างน้ำเสีย

ตัวอย่างน้ำเสียที่ใช้ในการศึกษานี้ คือ น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่ได้รับการสนับสนุนจากบริษัท พัทธภัณฑ์ปาล์มออยล์ จำกัด และน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ได้รับการสนับสนุนจากสถานวิจัยและพัฒนาพลังงานทดแทนจากน้ำมันปาล์มและพืชน้ำมัน คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (ภาพที่ 2-1) ซึ่งก่อนการใช้งานต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและเมื่อจะใช้งานปรับอุณหภูมิของน้ำเสียให้เท่ากับอุณหภูมิห้อง



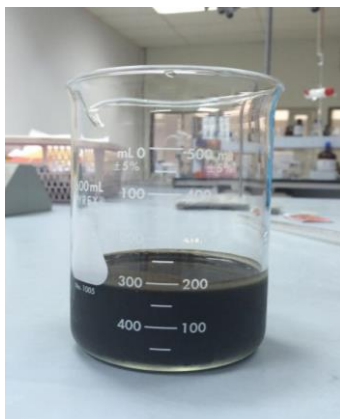
(ก)

(ข)

ภาพที่ 2-1 (ก) ลักษณะน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง

(ข) ลักษณะน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล ที่อุณหภูมิห้อง

2.1.2 ตะกอนจุลินทรีย์ (Inoculums) ได้รับการอนุเคราะห์จากบริษัท พัทธภัณฑ์ปาล์มออยล์ จำกัด ซึ่งเป็นตะกอนจุลินทรีย์ที่ทางโรงงานใช้เป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์สำหรับการผลิตก๊าซชีวภาพ (ภาพที่ 2-2) โดยเก็บจากถังหมักไร้อากาศของระบบ UASB เก็บรักษาตะกอนจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในถังโพลีเอทิลีน (Polyethylene tank) จนกว่าจะใช้งาน



ภาพที่ 2-2 ลักษณะตะกอนจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิห้อง

2.1.3 วัสดุอุปกรณ์

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วยวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์ วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมและโปรตีนของเอนไซม์ วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการนำเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปมาใช้บำบัดน้ำเสียเบื้องต้น วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบความทนทานและอายุการใช้งาน วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการหมักก๊าซชีวภาพและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

(1) วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์ ประกอบด้วย

- เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- เครื่องจ่ายไนโตรเจน
- เครื่องเขย่า (Shaker)
- ไมโครปิเปตต์ (Micropipette)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- ลูกยางดูดสาร

- เครื่องแก้วที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์ ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ หลอดหยด
ปิเปตต์ บีกเกอร์ ขวดปรับปริมาตร กระจกนาฬิกา เป็นต้น
- เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR
- เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR

(2) วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์ (Enzyme activity) และ ปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ (Protein of enzyme) ประกอบด้วย

- อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)
- กระจกกรองเบอร์ 41
- เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- ปากคีบ (Forceps)
- ลูกยางดูดสาร
- ที่วางหลอดทดลอง (Rack)
- เครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมและโปรตีนของเอนไซม์
ได้แก่ บีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ ขวดปรับปริมาตร หลอดทดลอง ปิเปตต์
แท่งแก้วคนสาร เป็นต้น

**(3) วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาสถานะที่เหมาะสมของการนำเอนไซม์ตรึงรูปมา
ใช้บำบัดน้ำเสียเบื้องต้น ประกอบด้วย**

- เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- เครื่องเขย่า (Shaker)
- ปากคีบ (Forceps)
- แผ่นเอนไซม์ตรึง
- ขาตั้งและมือจับ (Stand and Camp)
- ลูกยางดูดสาร
- เครื่องแก้วที่ใช้ในการศึกษาสถานะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ตรึง
ได้แก่ บีกเกอร์ กระจกบอกตวง ขวดรูปชมพู่ เป็นต้น

(4) วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบความทนทานและอายุการใช้งาน ประกอบด้วย

- เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- เครื่องเขย่า (Shaker)
- ปากคีบ

- ลูกยางดูดสาร
- แผ่นเอนไซม์ตรีง
- เครื่องแก้วที่ใช้ในการทดสอบความทนทานและอายุการใช้งาน ได้แก่ ปีกเกอร์ กระบอกตวง เป็นต้น

(5) วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาการหมักก๊าซชีวภาพและตรวจวัดปริมาณก๊าซ

- ขวดเซรัม (Serum bottle)
- จุกยางปิดฝาขวด
- พาราฟิล์ม (Parafilm)
- เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- สายน้ำเกลือ
- เจ็มชนิดยา
- ขาตั้งและมือจับ (Stand and Clamp)
- หลอดเก็บก๊าซ (ใช้หลอดเก็บเลือดที่มีสภาพสุญญากาศ)
- เครื่องแก้วอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษาการหมักก๊าซชีวภาพและตรวจวัดปริมาณก๊าซ ได้แก่ ปีกเกอร์ กระบอกตวง เป็นต้น

(6) วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ประกอบด้วย

1. วัสดุอุปกรณ์วิเคราะห์ซีโอดี (COD) ซึ่งมีดังนี้

- หลอดย่อยซีโอดีพร้อมฝาเกลียว
- ฮีตติงบล็อก (Heating block)
- เครื่องให้ความร้อน (Block heater)
- ตะแกรงสำหรับใส่หลอดทดลอง (Test Tube Rack)
- ปิเปตต์ (Pipette)
- บิวเรตต์ (Burette)
- ชุดขาตั้งและมือจับ (Stand & Clamp)

2. วัสดุอุปกรณ์วิเคราะห์บีโอดี (BOD) ซึ่งมีดังนี้

- ขวดบีโอดี ขนาด 300 มิลลิลิตร พร้อมจุกปิดขวด
- ปิเปตต์ (Pipette)
- บิวเรตต์ (Burette)
- ชุดขาตั้งและมือจับ (Stand & Clamp)
- กระบอกตวงพลาสติกขนาด 1,000 มิลลิลิตร

- เครื่องจ่ายลม (Air pump) พร้อมหัวฟู
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Air incubator)

3. วัสดุอุปกรณ์วิเคราะห์น้ำมันและไขมัน (Oil & grease) ซึ่งมีดังนี้

- ชุดสกัดน้ำมันและไขมัน (Soxhlet apparatus) ซึ่งประกอบด้วย ขวดก้นกลม (Round bottom flask) ซอกเลต (Soxhlet) อุปกรณ์ควบแน่น (Condenser) และเตาให้ความร้อน (Heating mantles)
- หลอดใส่ตัวอย่าง (Extraction thimble)
- กระดาษกรอง เบอร์ 42
- ถ้วยระเหย (Crucible)
- ตู้อบความร้อน (Hot air oven)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- เครื่องระเหย (Evaporator)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- ตู้ดูดความชื้น (Desiccator)

4. วัสดุอุปกรณ์วิเคราะห์กรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) ซึ่งมีดังนี้

- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)
- ขวดรูปชมพู (Erlenmeyer flask)
- กระจกตวง (Cylinder)
- หลอดหยด (Dropper)
- บิวเรตต์ (Burette)
- ชุดขาตั้งและแคลมป์จับ (Stand & Clamp)

5. วัสดุอุปกรณ์วิเคราะห์กลีเซอรอล (glycerol) ซึ่งมีดังนี้

- เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
- เครื่องกวนสาร (Stirrer)
- แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic bar)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- บีกเกอร์ (Beaker)
- กระจกนาฬิกา (Watch glass)

- ปิเปตต์ (Pipette)
- ลูกยางดูดสาร
- บิวเรตต์ (Burette)
- ชุดขาตั้งและมือจับ (Stand & Clamp)

6. วัสดุอุปกรณ์วิเคราะห์ของแข็งทั้งหมด (Total Solid) ซึ่งมีดังนี้

- ถ้วยระเหย
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- ตู้ดูดความชื้น (Desiccator)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- กระจกตวง (Cylinder)

7. วัสดุอุปกรณ์วิเคราะห์ของแข็งแขวนลอย (Suspended Solid)

- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- กระดาษกรอง GF/C เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร
- ตู้ดูดความชื้น (Desiccator)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- กระจกตวง (Cylinder)
- ปากคีบ (Forceps)
- อุปกรณ์ชุดกรองบุชเนอร์ (Buchner funnel)
- ปัมป์สุญญากาศ (Suction pump)
- ขวดดูดสุญญากาศ

8. วัสดุอุปกรณ์วิเคราะห์ของแข็งระเหย (Volatile Solid)

- ถ้วยระเหย
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- ตู้ดูดความชื้น (Desiccator)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- กระจกตวง (Cylinder)

2.1.4 สารเคมี ประกอบด้วย

(1) สารเคมีที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์ มีดังนี้

- เอนไซม์ไลเปสทางการค้าชนิดผงจาก *Pseudomonas fluorescens*
- พอลิฟีนิลซัลโฟน (Polyphenylsulfone)
- ไนโตรเบนซีน (Nitrobenzene, $C_6H_5NO_2$)
- เมทานอล (Methanol, CH_3OH)
- กรดไนตริก (Nitric acid, HNO_3) 65 %
- กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Sulfuric acid, H_2SO_4) 96 %
- ไดเมทิลอะเซตามายด์ (Dimethylacetamide, DMAc)
- ไฮดราซีนไฮเดรต (Hydrazine hydrate, $H_4N_2H_2O$)
- กลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde, $C_5H_8O_2$) 50 %
- ไดเบสิกโซเดียมฟอสเฟต (Dibasic sodium phosphate, Na_2HPO_4)
- โมโนเบสิกโซเดียมฟอสเฟต (Monobasic sodium phosphate, NaH_2PO_4)

(2) สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ มีดังนี้

- พี-ไนโตรฟีนิลปาล์มมิเตท (*p*-Nitrophenyl palmitate, $C_{22}H_{35}NO_4$)
- พี-ไนโตรฟีนอล (*p*-Nitrophenol, $C_6H_5NO_3$)
- 2-โพรพานอล (2-propanol, $(CH_3)_2CHOH$)
- ไตรตอนเอ็กซ์ 100 (Triton X-100)
- กัมอารบิก (Gum Arabic)
- โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate, Na_2CO_3)
- ไดเบสิกโซเดียมฟอสเฟต (Dibasic sodium phosphate, Na_2HPO_4)
- โมโนเบสิกโซเดียมฟอสเฟต (Monobasic sodium phosphate, NaH_2PO_4)

(3) สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์โปรตีนของเอนไซม์ มีดังนี้

- เอทานอล (Ethanol, C_2H_5OH) 99.5%
- คูมาซีบิลเลียนบลู (Coomassie brilliant blue G-250)
- กรดฟอสฟอริกเข้มข้น (Phosphoric acid, H_3PO_4) 85 %
- สารมาตรฐานโปรตีน BSA (Bovine serum albumin)
- ไดเบสิกโซเดียมฟอสเฟต (Dibasic sodium phosphate, Na_2HPO_4)
- โมโนเบสิกโซเดียมฟอสเฟต (Monobasic sodium phosphate, NaH_2PO_4)

(4) สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ซีโอดี (COD) มีดังนี้

- กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid, H_2SO_4)
- เมอร์คิวรีซัลเฟต (Mercury sulfate, $HgSO_4$)
- ซิลเวอร์ซัลเฟต (Silver sulfate, Ag_2SO_4)
- ฟีนแอนโทรีน (1,10-phenanthroline)
- โพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium dichromate, $K_2Cr_2O_7$)
- เฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (Ferrous sulfate heptahydrate, $FeSO_4$)
- เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ferrous ammonium sulfate, $Fe (NH_4)_2 (SO_4)_2 \cdot 6 H_2O$)

(5) สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์บีโอดี (BOD) มีดังนี้

- แมงกานีสซัลเฟต (Manganese Sulfate, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$)
- โซเดียมเอไซด์ (Sodium azide, NaN_3)
- กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide, $NaOH$)
- โซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium thiosulfate, $Na_2S_2O_3$)
- โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphat, KH_2PO_4)
- ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Di-potassium hydrogen phosphat, K_2HPO_4)
- แป้ง (Soluble starch)
- แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium chloride, NH_4Cl)
- ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรต (Di-sodium hydrogen phosphate heptahydrate, $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$)
- กรดซาลิไซลิก (Salicylic acid, $C_2H_6O_3$)
- แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride, $CaCl_2$)
- แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (Magnesium sulfate heptahydrate, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$)
- สารละลายกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid solution) 1 N
- เฟอร์ริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต (Ferric chloride hexahydrate, $FeCl_3$)
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide solution) 1 N

(6) สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์น้ำมันและไขมัน (Oil and Grease) มีดังนี้

- กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Conc. Sulfuric acid, H_2SO_4)
- ดินไดอะตอม (Diatomaceous earth)
- เฮกเซน (Hexane)

(7) สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์กรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid) มีดังนี้

- เอทานอล (Ethanol, C_2H_5OH) 95%
- ฟีนอล์ฟทาเลอิน (Phenolphthalein)
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide solution) 0.1 N
- สารละลายกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid solution) 0.1 N

(8) สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์กลีเซอรอล (Glycerol) มีดังนี้

- เอทิลีนไกลคอล (Ethylene glycol, $C_2H_6O_2$)
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide solution) 0.05 N
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide solution) 0.1 N
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide solution) 0.125 N
- สารละลายกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid solution) 0.1 N
- สารละลายโซเดียมฟอร์มเมต (Sodium formate solution) 1 N
- โปแตสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potassium hydrogenphthalate, KHP)
- ไดโซเดียมเตตระโบเรตเดคาไฮเดรต (Disodium tetraborate decahydrate, $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$)
- ฟีนอล์ฟทาเลอิน (Phenolphthalein, $C_{20}H_{14}O_4$)

(9) สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์กรดระเหยและสภาพด่าง (VFA and Alkalinity) มีดังนี้

- สารละลายกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid solution) 0.1 N
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide solution) 0.1

2.1.5 ถึงปฏิกรณ์ในการเดินระบบ

ถึงปฏิกรณ์ (reactor) ที่ใช้ในงานวิจัยเป็นถึงปฏิกรณ์แบบกะทำจากขวดแก้วขนาด 1 ลิตร ปริมาตรการหมัก 0.5 ลิตร ปิดปากขวดด้วยจุกยาง (Septum) แล้วพันด้วยพาราฟิล์มเพื่อป้องกันการรั่วไหลของก๊าซที่เกิดขึ้น ทำการหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และเขย่าวันละ 1 ครั้ง โดยเขย่าที่อัตราความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที ก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นภายในขวดหมักจะถูกส่งผ่านสายยางซิลิโคนไปยังขวดแก้วที่บรรจุน้ำ ก๊าซจะแทนที่น้ำในขวดและดันให้น้ำในขวดให้

ไหลลงสู่ภาชนะรองรับ ปริมาณน้ำที่ถูกแทนที่ดังกล่าวคือปริมาณของก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในแต่ละวัน (ภาพที่ 2-3) ทำการเก็บก๊าซชีวภาพใส่หลอดเก็บเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของก๊าซชีวภาพด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC) ซึ่งค่าที่ได้จากเครื่อง GC จะเป็นเปอร์เซ็นต์มีเทนที่ต้องนำไปคูณกับปริมาณก๊าซชีวภาพที่ตรวจวัดได้ในแต่ละวันจึงจะได้ค่าปริมาณก๊าซชีวภาพ



ภาพที่ 2-3 ลักษณะชุดอุปกรณ์ การควบคุมอุณหภูมิและการวัดปริมาณก๊าซที่เกิดขึ้น

2.2 วิธีดำเนินการวิจัย

2.2.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำเสีย

ทำการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล โดยวิเคราะห์ pH, TCOD, SCOD, BOD, TS, SS, VS, O&G, TKN, $\text{NH}_3\text{-N}$, FFA และกลีเซอรอล ตามวิธีการใน Standard Method for the Examination of water and wastewater 21st (APHA, AWWA and WEF, 2012)

2.2.2 การทดลองที่ 2 การตรึงเอนไซม์ไลเปสบนพอลิฟีนิลซัลโฟน

ทำการตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์บนเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน โดยใช้เอนไซม์ไลเปสที่ผลิตขายทางการค้าที่ผลิตจากเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ซึ่งการตรึงประกอบด้วยการสังเคราะห์พอลิเมอร์และการตรึงเอนไซม์บนวัสดุตรึง (เอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

(1) การสังเคราะห์พอลิเมอร์ ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือขั้นตอนการทำปฏิกิริยาไนเตรชัน (การเติมหมู่นิโตรเข้าไปที่สายโซ่พอลิเมอร์) และขั้นตอนการทำปฏิกิริยารีดักชัน (เปลี่ยนจากหมู่นิโตรเป็นหมู่อะมีน) ซึ่งรายละเอียดในแต่ละขั้นตอนเป็นดังนี้

- กระบวนการไนเตรชัน โดยละลายพอลิฟีนิลซัลโฟนด้วยไนโตรเบนซีน ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้ได้สารละลายพอลิเมอร์ที่มีความเข้มข้นเป็น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นหยดกรดผสม (กรดซัลฟิวริก 96 เปอร์เซ็นต์ และกรดไนตริก 65 เปอร์เซ็นต์) ลงไป อัตราส่วนกรดผสมกับพอลิเมอร์ คือ 0.3 มิลลิลิตรต่อ 1 กรัม ภายใต้อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และทำปฏิกิริยาภายใต้สภาวะที่มีไนโตรเจน จากนั้นตกตะกอน พอลิเมอร์ด้วยเมทานอลและล้างด้วยเมทานอลผสมน้ำ (อัตราส่วน 80:20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) จากนั้นอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก็จะได้พอลิเมอร์ที่เรียกว่า “ไนเตรตพอลิฟีนิลซัลโฟน (Nitrated polyphenylsulfone, NPPSU)”

- การทำปฏิกิริยารีดักชันบนไนเตรตพอลิฟีนิลซัลโฟน เป็นการขึ้นรูป แผ่นพอลิเมอร์โดยการละลายพอลิเมอร์ไนเตรตพอลิฟีนิลซัลโฟนในไดเมทิลอะซิทาไมด์ (Dimethyl acetamide, DMAc) จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้แผ่นพอลิเมอร์ที่หนา 200 ไมครอน จากนั้นทำการตัดแผ่นพอลิเมอร์ที่ได้นี้ให้มีขนาดประมาณ 2×2 เซนติเมตร จากนั้นทำการแช่แผ่นพอลิเมอร์ไนเตรตพอลิฟีนิลซัลโฟนที่ได้ ในสารละลาย ไฮดราซีนไฮเดรตที่ความเข้มข้น 17 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ล้างแผ่นพอลิเมอร์ที่ได้ด้วยน้ำกลั่นปราศจาก ไอออนจำนวน 3 ครั้ง ทิ้งให้แห้ง จากนั้นตัดแผ่นพอลิเมอร์ที่ได้ให้มีขนาด 1×1 เซนติเมตร จะได้ แผ่นพอลิเมอร์ที่เรียกว่า “เอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน (Amine polyphenylsulfone, APPSU)”

(2) การตรึงเอนไซม์ไลเปสด้วยพันธะโควาเลนต์ ก่อนตรึงเอนไซม์ไลเปส ด้วยพันธะโควาเลนต์บนเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน ต้องทำการกระตุ้นแผ่นเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน โดยแช่ในสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.075 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนักต่อปริมาตร เขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นล้างเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟนที่ได้ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง เริ่มทำ การตรึงเอนไซม์โดยแช่แผ่นดังกล่าวในสารละลายเอนไซม์ไลเปสที่มีความเข้มข้น 140 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ (พีเอช 7) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่า ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศา เซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ล้างเมมเบรนที่ได้ด้วยบัฟเฟอร์ดังกล่าว (ชนิกานต์ ต้นสุริยวงศ์, 2550; อีสลาห์ คีอราแม, 2551) แล้ววิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์และปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ ที่ยึดเกาะบนพอลิเมอร์ เพื่อทดสอบว่าเอนไซม์ที่ทำการตรึงมีการยึดเกาะบนพอลิเมอร์หรือไม่ ซึ่ง การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ทำโดยการนำแผ่นเอนไซม์ตรึงรูปดังกล่าวมาใส่ลงในสารละลาย (*p*-nitrophenyl palmitate) ที่ละลายใน 2-propanol มา 0.2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย Triton-x 100

และ gum Arabic ที่ละลายใน phosphate buffer 1.8 มิลลิลิตร) แล้วอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หยุดปฏิกิริยากับ โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีนของเอนไซม์ทำโดยการนำแผ่นเอนไซม์ตรงมา 1 แผ่น ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ดึงมา 6 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 585 นาโนเมตร

ตารางที่ 2-1 วิธีวิเคราะห์ ความถี่ในการวิเคราะห์และสภาวะที่ต้องระมัดระวังในการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ทดสอบการตรึงเอนไซม์

พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์	เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์	ความถี่การวิเคราะห์	สภาวะที่ต้องควบคุม
ปริมาณโปรตีนเอนไซม์ (µg/ml)	Bradford protein assay (1976)	หลังการตรึง	- การจับเวลา ก่อนวัดค่าการดูดกลืน
ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (U/g protein)	Winkler and Stuckmann assay (1979)	ทุกครั้ง	แสงของแต่ละตัวอย่างต้องเท่ากัน

2.2.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันของน้ำเสียตัวอย่าง

ในการศึกษานี้จะทำการศึกษาจำนวนแผ่นเอนไซม์ตรึงรูป ระยะเวลาการสัมผัสของเอนไซม์ตรึงรูปกับตัวอย่างน้ำเสียที่เวลาต่างๆ เพื่อทดสอบว่าเอนไซม์ที่ทำการตรึงสามารถย่อยสลายน้ำมันและไขมันได้สูงสุดเมื่อใช้แผ่นเอนไซม์ตรึงรูปกี่แผ่นและใช้ระยะเวลาการสัมผัสใด ซึ่งความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันวัดจากปริมาณของกรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid) และกลีเซอรอล (Glycerol) ที่เพิ่มขึ้นมากที่สุด ซึ่งจำนวนแผ่นเอนไซม์ที่ใช้ในการศึกษา คือ จำนวน 1, 2 และ 3 แผ่น ส่วนระยะเวลาการสัมผัส คือ 12, 24 และ 48 ชั่วโมง และใช้น้ำเสียปริมาตร 120 ml นอกจากนี้จะศึกษาปริมาณ SCOD และ O&G ด้วยเพื่อดูว่าการย่อยสลายน้ำมันและไขมันโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปนี้ทำให้ปริมาณ SCOD เพิ่มขึ้นและทำให้ปริมาณ O&G ลดลงหรือไม่ ซึ่งวิธีการวิเคราะห์ ความถี่ในการวิเคราะห์และสิ่งที่ต้องระมัดระวังในการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 2-2 ทั้งนี้ในการศึกษาจะใช้ตัวอย่างน้ำเสียที่ไม่เจือจางและน้ำเสียที่ทำการเจือจางอัตราส่วน 1:6

(ใช้อัตราการเจือจางเดียวกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2006)) ปริมาตร 120 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ (Flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้เป็น 8 และปรับอุณหภูมิเป็น 40 องศาเซลเซียส ทำการเติมแผ่นเอนไซม์ตรึงลงไปตามจำนวนที่ต้องการศึกษาและทำการย่อยตามระยะเวลาที่ต้องการศึกษา และในระหว่างทำการย่อยจะเขย่าที่อัตราการเขย่า 150 รอบต่อนาที (Jeganathan *et al.*, 2006; Nilesh and Mukhopadhyay, 2012) ทั้งนี้ในการศึกษาพารามิเตอร์ต่างๆ จะทำการทดสอบซ้ำตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

ตารางที่ 2-2 วิธีวิเคราะห์ ความถี่ในการวิเคราะห์และสิ่งที่ต้องระมัดระวังในการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ศึกษาสถานะที่เหมาะสม (จำนวนแผ่นเอนไซม์ตรึงรูปและระยะเวลาสัมผัสของแผ่นเอนไซม์ตรึงกับน้ำเสียตัวอย่าง)

พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์	เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์	ความถี่การวิเคราะห์	สถานะที่ต้องควบคุมในการศึกษา
กรดไขมันอิสระ (%)	Titrimetric method	ทุกชุดการทดลอง	พีเอช, อุณหภูมิ, อัตราส่วนการเจือจาง และอัตราการเขย่า
กลีเซอรอล (%)	Titrimetric method		
SCOD (mg/L)	วิธีรีฟลักซ์แบบปิด (Close Reflux Method)		
Oil and Grease (mg/L)	วิธีซอกซ์เลต (Soxhlet Extraction)		

2.2.4 การทดลองที่ 4 การทดสอบความทนทานและอายุการใช้งาน

การทดสอบความทนทานและอายุการใช้งานของเอนไซม์ตรึงรูปดำเนินการโดยการนำเอนไซม์ที่ทำการตรึงรูปไปทำการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในตัวอย่างน้ำเสียจำนวนหลายๆ ครั้งจนกิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยจะนำสถานะต่างๆ ที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองที่ 4 มาทดสอบ คือ นำน้ำเสียที่ไม่เจือจางและน้ำเสียที่เจือจางอัตราส่วน 1:6 (ใช้อัตราการเจือจางเดียวกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2006)) ปริมาตร 120 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็น 8 และอุณหภูมิเป็น 40 องศาเซลเซียส แล้วเติมแผ่นเอนไซม์ตรึงลงไป และเขย่า 150 รอบต่อนาที ตามระยะเวลาที่ให้ประสิทธิภาพการย่อยดีที่สุดที่ได้จากการทดสอบสถานะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูปในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันจากน้ำเสียตัวอย่าง จากนั้นทำการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ตามวิธีการของ Winkler และ

Struckmann (1979) และดำเนินการทดสอบแบบเดิมไปเรื่อยๆ จนกว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงไปเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้แผ่นเอนไซม์ครึ่งแผ่นใหม่ แต่ทำการข่อยน้ำมันและไขมันเป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้นให้ครบตามจำนวนรอบของการใช้งานซ้ำ คือ ถ้า 2 รอบของการใช้งานซ้ำจะต้องให้แผ่นเอนไซม์ครึ่งรูปสัมผัสกับน้ำเสียเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ถ้า 3 รอบของการใช้งานซ้ำจะต้องให้แผ่นเอนไซม์ครึ่งรูปสัมผัสกับน้ำเสียเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เป็นต้น ทั้งนี้ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งหมดจะทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

2.2.5 การทดลองที่ 5 การบำบัดเบื้องต้นของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มก่อนการหมักภายใต้สภาวะไร้อากาศ

การบำบัดเบื้องต้นของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ใช้ในการศึกษานี้ใช้ (1) การทิ้งให้ตกตะกอนโดยทิ้งให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้องและแยกตะกอนออก เอาเฉพาะน้ำส่วนที่อยู่ด้านบนตะกอน (2) การบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระ (3) การบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ครึ่งรูป (4) การนำน้ำเสียที่ผ่านการทิ้งให้ตกตะกอนโดยเอาน้ำเสียส่วนด้านบนมาบำบัดอีกครั้งด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ครึ่งรูป ซึ่งแต่ละวิธีใช้ระยะเวลาในการบำบัด 24 ชั่วโมง โดยในการบำบัดด้วยเอนไซม์ต้องปรับพีเอชน้ำเสียให้เป็น 8 และปรับอุณหภูมิเป็น 40 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมของการทำงานของเอนไซม์ ใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 140 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับเอนไซม์อิสระ ส่วนการบำบัดด้วยเอนไซม์ครึ่งรูปใช้แผ่นเอนไซม์ครึ่ง 3 แผ่น ที่ระยะเวลาการสัมผัสของแผ่นเอนไซม์กับน้ำเสีย 24 ชั่วโมง (สภาวะได้จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ครึ่งรูปในการข่อยสลายน้ำมันและไขมัน) ทำการวิเคราะห์ TCOD, SCOD TS, SS, O&G VFA และ Alkalinity ก่อนและหลังการบำบัด จากนั้นเก็บรักษาโดยการแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียสก่อนนำไปใช้ในการศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพ

2.2.6 การทดลองที่ 6 การบำบัดเบื้องต้นของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลก่อนการหมักภายใต้สภาวะไร้อากาศ

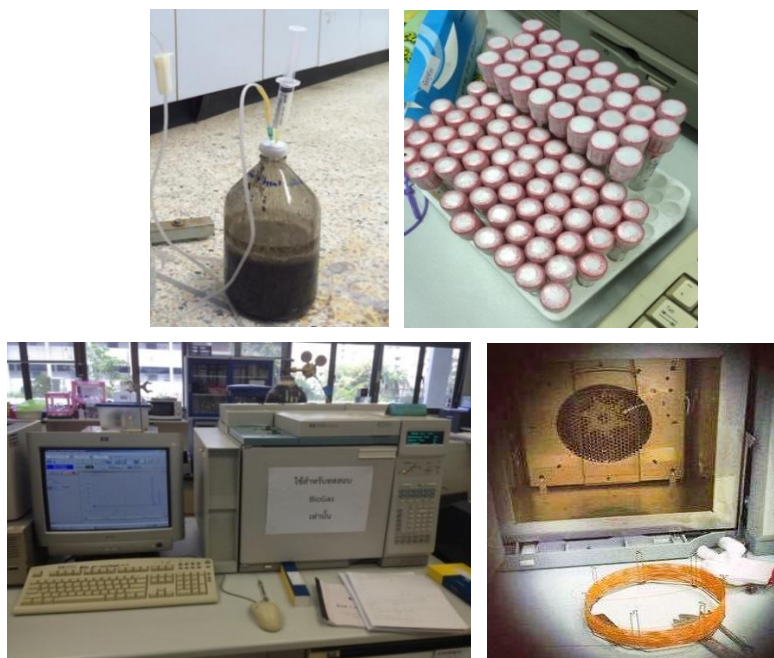
การบำบัดเบื้องต้นของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้ในการศึกษานี้ใช้ (1) การปรับพีเอชด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มัล ให้ค่าพีเอชน้ำเสียเท่ากับ 3 ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงแยกตะกอนไขมันและน้ำมันออก นำเฉพาะน้ำส่วนใสมาทำการศึกษา (อนเนก สภาวะอินทร์, 2552; เมธิยา หมาฉิม, 2555) (2) การบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระ (3) การบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ครึ่งรูป (4) การนำน้ำเสียที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรด แยกตะกอนไขมันออกแล้วเอาน้ำส่วนใสมาทำบำบัดอีกครั้งด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ครึ่งรูป ซึ่งแต่ละวิธีใช้ระยะเวลาในการบำบัด 24 ชั่วโมง โดยในการบำบัดด้วยเอนไซม์ต้องปรับพีเอชน้ำเสียให้เป็น 8 และปรับอุณหภูมิ

เป็น 40 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมของการทำงานของเอนไซม์ ใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 140 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับเอนไซม์อิสระ ส่วนการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงใช้แผ่นเอนไซม์ตรึง 2 แผ่น ที่ระยะเวลาการสัมผัสของแผ่นเอนไซม์กับน้ำเสีย 24 ชั่วโมง (สภาวะได้จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ตรึงในการย่อยสลายน้ำมันและไขมัน) ทำการวิเคราะห์ TCOD, SCOD TS, SS, O&G VFA และ Alkalinity ก่อนและหลังการบำบัด จากนั้นเก็บรักษาโดยการแช่เย็นที่ 4 °C ก่อนนำไปใช้ในการผลิตก๊าซชีวภาพ

2.2.7 การทดลองที่ 7 การศึกษาผลที่เกิดขึ้น (ก๊าซชีวภาพ) จากการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียตัวอย่างที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น

การศึกษากาการผลิตก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในการหมักภายใต้สภาวะไร้อากาศ ดำเนินการศึกษาโดยใช้น้ำเสียดังนี้ (1) น้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น (2) น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยการทิ้งให้ตกตะกอน (น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม) (3) น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยการทิ้งให้ตกตะกอนแล้วบำบัดต่อด้วยเอนไซม์อิสระ (4) น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยการทิ้งให้ตกตะกอนแล้วบำบัดต่อด้วยเอนไซม์ตรึงรูป (5) น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยกรด (น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล) (6) น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยกรดแล้วบำบัดต่อด้วยเอนไซม์อิสระ (7) น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยกรดแล้วบำบัดต่อด้วยเอนไซม์ตรึงรูป (8) น้ำเสียที่เจือจางอัตราส่วน 1:6 ที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ตรึงรูป (9) น้ำเสียที่แช่แผ่นพอลิเมอร์ที่ยังไม่ทำการตรึงเอนไซม์เพื่อศึกษาผลของสารเคมีที่ใช้สังเคราะห์แผ่นพอลิเมอร์ว่ามีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพหรือไม่ โดยทำการศึกษาสัดส่วนของปริมาณน้ำเสียต่อตะกอนจุลินทรีย์และศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก ซึ่งการศึกษาสัดส่วนน้ำเสียต่อตะกอนจุลินทรีย์ในแต่ละชุดการทดลอง (9 ชุด) จะศึกษาในอัตราส่วน 480:20, 450:50, 400:100, 350:150, 300:200, 250:250 และ 200:300 ml/ml (อัตราส่วนโดยปริมาตร) ซึ่งในแต่ละชุดการทดลองจะมีชุดควบคุม 1 ชุด ซึ่งหมักน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยวิธีการต่างๆ โดยไม่มีการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนระยะเวลาที่ใช้ในการหมักทำการศึกษาจนกว่าจะไม่สามารถวัดปริมาณก๊าซชีวภาพได้ ทั้งนี้ดำเนินการหมักในขวดแก้ว ขนาด 1 ลิตร ปริมาตรดำเนินการ 0.5 ลิตร ตามอัตราส่วนที่ศึกษา ปรับพีเอชให้เป็น 7.0 (Siles *et al.*, 2010; Nabarlantz *et al.*, 2013; เมธิยา หมวดฉิม, 2555) ดำเนินการหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (Iscia and Demirer, 2007; Siles *et al.*, 2010; Dechrugsa *et al.*, 2013; เมธิยา หมวดฉิม, 2554) และเขย่า 150 รอบต่อนาที (Singh *et al.*, 2013; เมธิยา หมวดฉิม, 2554) ทำการวัดปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นในแต่ละวันที่อุณหภูมิห้องโดยใช้หลักการแทนที่น้ำและหาองค์ประกอบของก๊าซชีวภาพ โดยเก็บตัวอย่างในหลอดเก็บก๊าซแล้วนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC (ภาพที่ 2-4) โดยเครื่อง GC ที่ใช้เป็นของ Hewlett-Packard รุ่น 6890 ใช้ TCD (Thermal Conductivity

Detector) เป็นดีเทคเตอร์ ใช้คอลัมน์ HP Plot Q (0.53 mm I.D.) ซึ่งวิธีวิเคราะห์ ความถี่ในการวิเคราะห์และสิ่งที่จะต้องระมัดระวังในการวิเคราะห์ แสดงดังตารางที่ 2-3 โดยจะทำการทดสอบตัวอย่างละ 2 ซ้ำ



ภาพที่ 2-4 การเก็บก๊าซชีวภาพและเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบก๊าซชีวภาพ (GC)

ตารางที่ 2-3 วิธีวิเคราะห์ ความถี่ในการวิเคราะห์ และสิ่งที่จะต้องระมัดระวังในการวิเคราะห์ พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ใช้ศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพ

พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์	เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์	ความถี่การวิเคราะห์	สถานะที่ต้องควบคุมในการศึกษา
ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	ใช้หลักการแทนที่ก๊าซด้วยน้ำ (Fluid displacement method)	ทุกวัน	- การปิดฝาขวดให้สนิท
องค์ประกอบก๊าซ (ml CH ₄)	ใช้เครื่อง Gas chromatography	สัปดาห์ละ 1 ครั้ง	- อุณหภูมิ

2.3 การวิเคราะห์คุณภาพน้ำหลังผ่านการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศ

คุณภาพน้ำเสียหลังผ่านการหมักในระบบไร้อากาศใช้วิธีการตามใน Standard Method for the Examination of water and wastewater 21st (APHA, AWWA and WEF, 2012) โดยวิเคราะห์ ซีโอดีทั้งหมด (TCOD) ซีโอดีละลายน้ำ (SCOD) น้ำมันและไขมัน (O&G) ของแข็งทั้งหมด (TS) ของแข็งแขวนลอย (SS) ของแข็งระเหย (VS) กรดไขมันระเหย (VFA) สภาพความเป็นด่าง (Alkalinity) และ พีเอช pH

2.4 การวิเคราะห์ผลการศึกษา

นำผลการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์และปริมาณ โปรตีนของเอนไซม์ที่ได้จากการศึกษามาวิเคราะห์ดูว่าเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปที่ทำการศึกษามีความทนทานและอายุการใช้งานได้มากน้อยเพียงใด สามารถใช้ได้กี่ครั้ง โดยใช้ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในส่วนของ การศึกษาการผลิตก๊าซชีวภาพจะพิจารณาว่าการบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นสามารถเพิ่มปริมาณการเกิด ก๊าซชีวภาพได้หรือไม่และเพิ่มขึ้นเท่าไร มีองค์ประกอบของก๊าซมีเทนเท่าไร โดยแสดงในรูปของ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน นอกจากนี้พิจารณาว่าสารเคมีที่ใช้การสังเคราะห์ พอลิเมอร์เพื่อตรึงเอนไซม์มีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพหรือไม่ โดยแสดงในรูปของค่าเฉลี่ยและส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน พิจารณาความแตกต่างของคุณภาพน้ำก่อนการบำบัดและหลังการบำบัดว่า สามารถลด TCOD, SCOD, SS, O&G ในรูปร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

บทที่ 3

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลการศึกษา

3.1 บทนำ

3.1.1 ความเกี่ยวเนื่องของอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์มกับอุตสาหกรรมผลิตไบโอดีเซล

โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเป็นอุตสาหกรรมที่สำคัญในภาคใต้ของประเทศไทย เป็นอุตสาหกรรมที่กำลังได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งการขยายตัวของอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เพราะอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันมีความเกี่ยวเนื่องกับอุตสาหกรรมอีกหลายประเภททั้งที่เกี่ยวข้องกับการบริโภคและใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น อุตสาหกรรมผลิตสบู่ เนยเทียม นมข้นหวาน บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป รวมทั้งอุตสาหกรรมผลิตไบโอดีเซล เพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน โดยการใช้ น้ำมันปาล์มดิบ (Crude Palm Oil) ที่มาจากอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันปาล์มเป็นวัตถุดิบในการผลิต น้ำเสียที่เกิดขึ้นมีความเข้มข้นของปริมาณสารอินทรีย์ น้ำมันและไขมันสูงมาก ซึ่งจากการศึกษามีปริมาณสารอินทรีย์ในรูปของซีโอดี 61,333 mg/l และ 161,333 mg/l และมีปริมาณน้ำมันและไขมัน 2,270 mg/l และ 17,140 mg/l สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ตามลำดับ ทำให้ย่อยสลายได้ยากด้วยวิธีการทางชีวภาพ ซึ่งในระบบไร้อากาศสามารถกำจัดซีโอดีได้ 39.37 % และ 37.88 % สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ตามลำดับ หากไม่ได้รับการจัดการที่ดีจะเป็นแหล่งมลพิษทางน้ำที่สำคัญ งานวิจัยนี้จึงศึกษาการบำบัดเบื้องต้นทั้งน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลเพื่อให้การจัดการน้ำเสียมีความสมบูรณ์ตั้งแต่ต้นทางจนปลายทาง

3.2 น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูงทั้งในรูปของซีโอดีและบีโอดี มีปริมาณน้ำมันและไขมันสูง ซึ่งน้ำมันในน้ำเสียอยู่ในสถานะน้ำมันในน้ำ รวมทั้งมีปริมาณของแข็งสูงด้วย แต่อย่างไรก็ตามน้ำเสียทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะเรื่องของปริมาณไนโตรเจนที่เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ ซึ่งลักษณะสมบัติต่างๆ ของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีดังนี้

3.2.1 ลักษณะน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม (Palm Oil Mill Effluent, POME)

น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีลักษณะเป็นของเหลวหนืด สีน้ำตาลเข้ม ซึ่งสีของน้ำเสียประกอบด้วยสารอินทรีย์ต่างๆ เช่น สารกำเนดสี (รงควัตถุ) พวกอเนโทไซยานินและ

แคโรทีน ที่ถูกสกัดออกมาพร้อมกับน้ำมันและไอน้ำเนื่องจากเซลล์ของผลปาล์มถูกทำลาย สารประกอบโพลีฟีนอล (Polyphenol) แพคติน (Pectin) แทนนิน (Tannin) และโพลีแอลกอฮอล์ (Polyalcohol) สารประกอบพวกเมลาโทนิน (Melatonin) ซึ่งเป็นผลผลิตจากปฏิกิริยาที่ไม่ใช้ เอนไซม์ของน้ำตาลกับกรดอะมิโนภายใต้สภาวะที่มีอุณหภูมิสูง สารประกอบพวกกัม (Gum) เมื่อถูกความร้อนในขั้นตอนการสกัดน้ำมันปาล์ม จึงทำให้เกิดสีน้ำตาลคล้ำและสามารถรวมตัวกับเกลือของโลหะทำให้เกิดความคงตัวของสี (ปาริชาติ หมั่นสีทา, 2547 อ่างโดย อมรภัค ชูทอง, 2551) มีค่าพีเอชค่อนข้างเป็นกรด มีความเข้มข้นของน้ำมันและไขมัน (Oil and Grease) สารอินทรีย์ในรูปของ ซีโอดี (COD) และของแข็งแขวนลอย (Suspended Solids) สูง ซึ่งลักษณะทางกายภาพของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแสดงดังภาพที่ 3-1



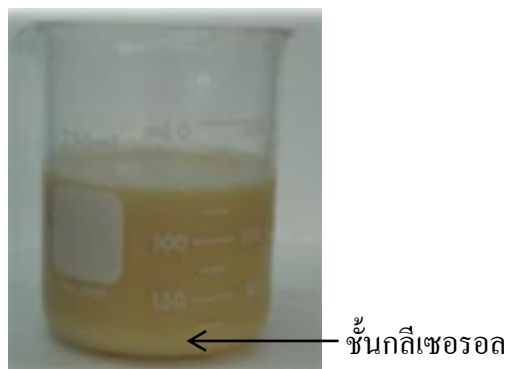
ภาพที่ 3-1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่อุณหภูมิห้อง

จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มพบว่ามีความพีเอชเป็นกรด คือ พีเอช 4.6 ซึ่งสภาวะความเป็นกรดอาจเกิดจากปริมาณกรดไขมันที่ปนอยู่ในน้ำเสียเพราะในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีปริมาณกรดไขมันสูง โดยส่วนใหญ่เป็นกรดปาล์มมิติก (Palmitic acid) และโอเลอิก (Oleic acid) คิดเป็นร้อยละ 44.71 และ 40.36 ตามลำดับ (ญาใจ วิฑะพงศ์, 2548) มีปริมาณน้ำมันและไขมัน 2,270 mg/l ซีโอดี 61,333 mg/l ของแข็งแขวนลอย 11,530 mg/l ดังแสดงในตารางที่ 3-1 โดยผลการศึกษาก๊าซเรือนกระจกกับงานวิจัยของ พูนสุข ประเสริฐสรรพ และคณะ (2533) บุญมาศ เหมณี (2552) รัชฎ์ลักษณ์ หลักแหลม (2553) Puetpaiboon และ Chotwattanasak (2004) อ่างโดย อมรภัค ชูทอง (2551) Chin และคณะ (1996) อ่างโดย Oswal และคณะ (2002) และ Mohammadi และคณะ (2011)

3.2.2 ลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล (Biodiesel Wastewater , BW)

น้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้ในการศึกษาเป็นน้ำเสียซึ่งเกิดจากการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้น้ำมันพืชใช้แล้วและน้ำมันปาล์มดิบด้วยปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน (Trans esterification) ซึ่งน้ำเสียส่วนใหญ่เกิดจากขั้นตอนการล้างเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อน โดยน้ำเสียจะมีลักษณะสีขาวขุ่น มีสภาพเป็นอิมัลชัน (Emulsion) พิเศษเป็นค่าสูงมากเนื่องจากการใช้ค่า เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการผลิต มีการปนเปื้อนน้ำมันและไขมันในปริมาณสูง ทำให้มีปริมาณสารอินทรีย์สูงด้วย เนื่องจากผลของสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบเป็นพวกไฮโดรคาร์บอน (Wade, 2003; Jones, 2005) ถึงแม้ว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลจะมีปริมาณสารอินทรีย์สูงแต่น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลบำบัดได้ยากด้วยวิธีการทางชีวภาพเพราะองค์ประกอบน้ำเสียไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทั้งนี้เพราะมีแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอาหารแก่จุลินทรีย์น้อย (Suehara *et al.*, 2005) นอกจากนี้ น้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลมีการปนเปื้อนสบู่เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน (Saponification) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาข้างเคียงของการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันอันมีสาเหตุมาจากการปนเปื้อนกรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid) ในน้ำมันที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตและการใช้ค่าเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Gerpen *et al.*, 2004) โดยน้ำที่มีการปนเปื้อนสบู่ น้ำมันและไขมัน จะเกิดการจัดเรียงโครงสร้างที่เรียกว่าไมเซลล์ (Micells) (Wade, 2003; Jones, 2005; Hartley, 1936; Turro *et al.*, 1978; Seddon and Templer, 1995; Baeurle and Kroener, 2004) สารดังกล่าวสามารถแขวนลอยอยู่ในน้ำได้โดยไม่ลอยหรือตกจม

จากการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลพบว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีสีขาวขุ่นคล้ายน้ำมัน มีของแข็งแขวนลอยสูง เนื่องจากการจัดเรียงตัวของน้ำมันและไขมันเป็นโครงสร้างไมเซลล์ และมีกลีเซอรอลตกตะกอนอยู่ด้านล่าง นอกจากนี้มีกลิ่นเหม็นอวล ซึ่งลักษณะทางกายของน้ำเสียแสดงดังภาพที่ 3-2 ส่วนสมบัติทางเคมีพบว่า มีปริมาณสารอินทรีย์ในรูปของซีโอดี (COD) และบีโอดี (BOD) 161,333 mg/l และ 46,500 mg/l ตามลำดับ มีปริมาณน้ำมันและไขมัน 17,140 mg/l มีปริมาณไนโตรเจนในรูป TKN และ NH₃-N 490 mg/l และ 14.5 mg/l ตามลำดับ ผลการศึกษาสมบัติทางเคมีมีความใกล้เคียงกับงานวิจัยของเอนก สาระอินทร์ (2552) เมธิยา หมวดนิม (2555) และ Suehara *et al* (2005) ดังแสดงในตารางที่ 3-1



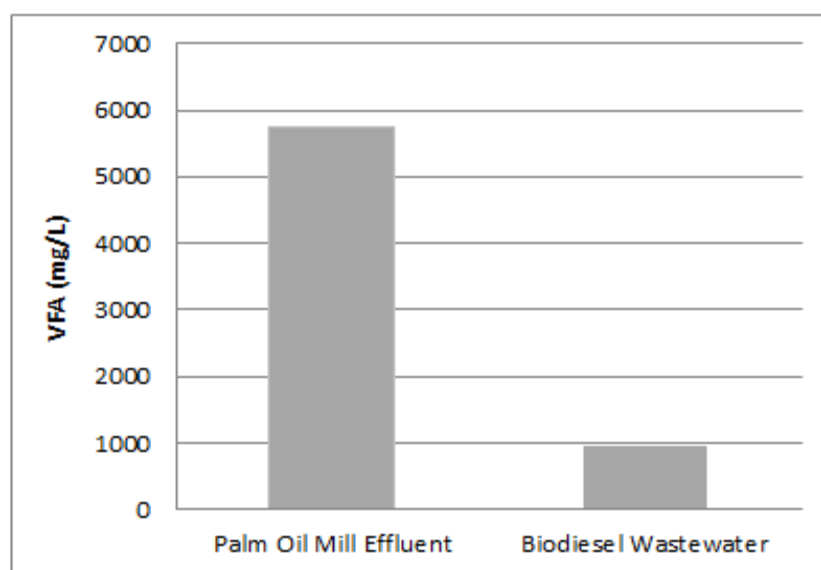
ภาพที่ 3-2 ลักษณะทางกายภาพของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 3-1 ลักษณะสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล

พารามิเตอร์	ค่าจากการวิเคราะห์	
	น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม	น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล
pH	4.60±0.12	12±0.15
TCOD (mg/l)	61,333±1,154.70	161,333±3,265.99
SCOD (mg/l)	49,000±6,387.49	118,889±10,478.93
TS (mg/l)	35,380±989.95	110,900±100.00
SS (mg/l)	11,530±127.28	39,890±42.43
VS (mg/l)	18,135±2,091.79	39,113±392.47
O&G (mg/l)	2,270±4.00	17,140±4.00
BOD (mg/l)	28,350±606.22	46,500±20
FFA (%)	6.66±0.04	3.60±0.03
TKN (mg/l)	710	490
NH ₃ -N (mg/l)	42	14.5
Alkalinity (mg/l as CaCO ₃)	1,100±7.07	6,159±12.02
VFA (mg CaCO ₃ /l)	5,735±403.05	952±8.84

หมายเหตุ: TKN และ NH₃-N เป็นค่าจากการส่งวิเคราะห์ตัวอย่าง

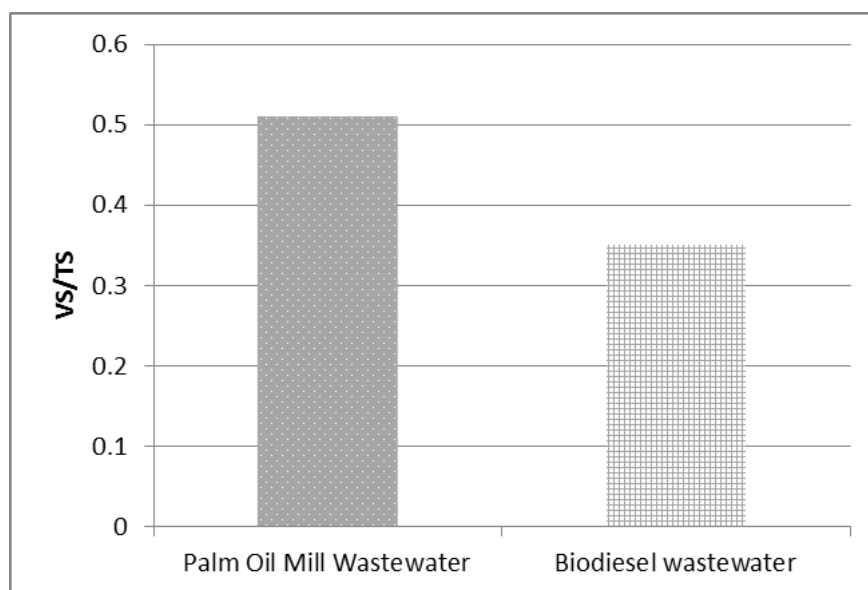
จากตารางจะเห็นว่าแม้ว่าน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลจะมีปริมาณสารอินทรีย์ น้ำมันและไขมันสูงเหมือนกันแต่ก็มีความแตกต่างกันในหลายลักษณะ คือมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่างกัน คือ น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีลักษณะค่อนข้างเป็นกรด ซึ่งเป็นผลมาจากกรดไขมันในน้ำเสียเพราะน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีปริมาณกรดไขมันสูงกว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ส่วนน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีความเป็นด่างสูงมากเนื่องจากการใช้ด่างในกระบวนการผลิต มีปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายต่างกัน โดยน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีสภาพความเป็นด่าง (Alkalinity) สูงกว่ามาก แต่จะมีกรดไขมันระเหยง่ายต่ำกว่ามากเช่นกัน ที่สำคัญน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีปริมาณไนโตรเจนทั้งในรูปไนโตรเจนทั้งหมดและแอมโมเนียในโตรเจนน้อยมากทั้งที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูงกว่า ซึ่งไนโตรเจนเป็นสารอาหารหลักของจุลินทรีย์นอกเหนือจากคาร์บอน นอกจากนี้อัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดี ปริมาณของของแข็งทั้งหมดต่อของแข็งระเหยก็มีความแตกต่างกัน ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้



ภาพที่ 3-3 ความแตกต่างของกรดไขมันระเหยของน้ำเสียโรงงานปาล์มและน้ำเสียไบโอดีเซล

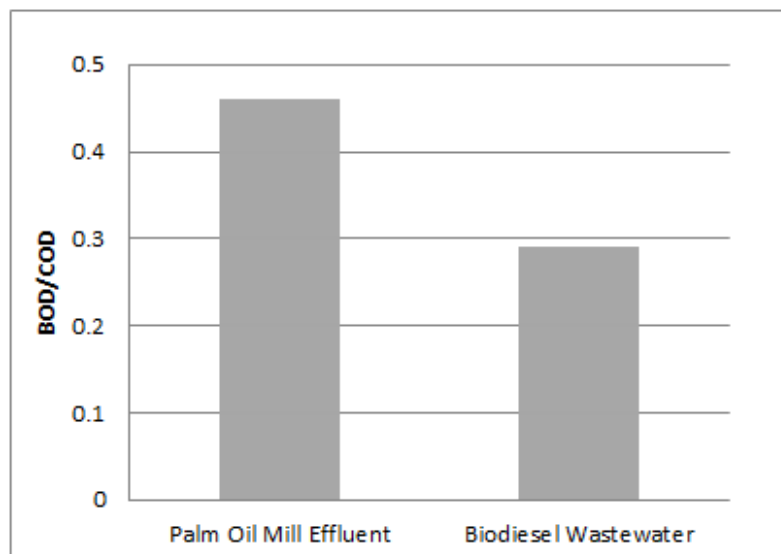
จากภาพที่ 3-3 จะเห็นว่าน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีปริมาณกรดไขมันระเหย (VFA) สูงกว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมาก เนื่องจากในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีปริมาณกรดไขมันสูงทั้งกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะถูกออกซิไดซ์ด้วยออกซิเจนในอากาศเกิดเป็นโมเลกุลขนาดเล็กที่ระเหยได้ ทำให้ปริมาณกรดไขมันระเหยในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีปริมาณสูง ส่วนน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลแม้จะมี

การนำน้ำมันปาล์มดิบ (CPO) มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตแต่ในกระบวนการผลิตจะมีการกำจัดปริมาณกรดไขมันอิสระให้ม้น้อยกว่า 1% ก่อนเข้าขั้นตอนการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน ทำให้ปริมาณของกรดไขมันระเหยในน้ำเสียไบโอดีเซลมีน้อย



ภาพที่ 3-4 ความแตกต่างของอัตราส่วนของของแข็งระเหยต่อของแข็งทั้งหมดของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

อัตราส่วนของของแข็งระเหยง่ายกับของแข็งทั้งหมด (VS/TS) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงสัดส่วนของส่วนที่เป็นสารที่สามารถย่อยสลายได้ จากภาพที่ 3-4 จะเห็นว่าอัตราส่วน VS/TS ของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีค่าสูงกว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ทำให้น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มย่อยสลายได้ง่ายกว่า ซึ่งสอดคล้องกับค่าอัตราส่วน BOD_5/COD ที่พบว่าน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีค่าอัตราส่วน BOD_5/COD ที่สูงกว่า ซึ่งย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่ายกว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล นอกจากนี้พบว่า TS ของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม มีค่าเป็น 2 เท่า ของ VS ส่วน TS ของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีค่าเป็น 3 เท่า ซึ่งมากกว่าน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเพราะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีกลีเซอรอลปนเปื้อนสูง ส่งผลให้ของแข็งแขวนลอยและของแข็งทั้งหมดมีปริมาณสูง



ภาพที่ 3-5 ความแตกต่างของอัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดีทั้งหมดของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

อัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดี (BOD_5 / COD) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการถูกย่อยสลายทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ ซึ่งถ้าค่าน้อยกว่า 0.1 น้ำเสียนั้นย่อยสลายได้ยากทางชีวภาพ ถ้าอยู่ในช่วง 0.3-0.6 น้ำเสียนั้นย่อยสลายได้ทางชีวภาพโดยต้องการปริมาณจุลินทรีย์ที่มากขึ้น และถ้ามากกว่า 0.6 แสดงว่าน้ำเสียนั้นย่อยสลายได้ง่ายด้วยจุลินทรีย์หรือย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่าย (Larson *et al.*, 2000; Badawy and Ali, 2006)

จากการศึกษาพบว่าน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีค่า 0.46 แสดงว่าน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มย่อยสลายได้ทางชีวภาพในระดับที่ค่อนข้างดี ส่วนน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีค่า 0.29 ซึ่งมีแนวโน้มค่อนข้างต่ำและมีค่าเข้าใกล้ 0.1 แสดงให้เห็นว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลย่อยสลายได้ค่อนข้างยากทางชีวภาพ แสดงในภาพที่ 3-5

จากภาพจะเห็นว่าน้ำเสียทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันมากในส่วนของความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ โดยน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีค่าสูงกว่าและอยู่ในช่วงที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพแต่ต้องการจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ส่วนน้ำเสียไบโอดีเซลมีค่าต่ำมากและอยู่ในช่วงที่ย่อยสลายได้ยากทางชีวภาพ เนื่องจากน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีปริมาณไนโตรเจนที่เป็นอาหารของจุลินทรีย์น้อย ซึ่งไนโตรเจนเป็นสารอาหารหลักที่จำเป็นต่อการ

เจริญเติบโตของจุลินทรีย์เช่นเดียวกับคาร์บอน เมื่อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ส่งผลให้ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพต่ำ

3.2.3 การจัดการน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลในปัจจุบันและปัญหาที่พบ

การจัดการน้ำเสียทั้งสองชนิดโดยส่วนใหญ่เน้นการกำจัดสารอินทรีย์ น้ำมันและไขมัน โดยลักษณะน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเหมาะสำหรับการบำบัดแบบไร้อากาศและได้ผลผลิตเป็นก๊าซชีวภาพ การบำบัดส่วนใหญ่เลยใช้กระบวนการหมักในระบบไร้อากาศ แต่ก่อนการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศจะมีการใช้บ่อแยกไขมันและตกตะกอนของแข็งแขวนลอยก่อน ซึ่งเป็นการบำบัดเบื้องต้นด้วยวิธีการทางกายภาพ ก่อนใช้วิธีการทางชีวภาพ แต่อย่างไรก็ตามการใช้วิธีการบำบัดดังกล่าวปริมาณสารอินทรีย์ น้ำมันและไขมันยังคงมีปริมาณสูงมาก โดยการศึกษาพบว่าปริมาณซีโอดีหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศมีค่า 57,500 mg/l ปริมาณน้ำมันและไขมันมีค่า 3,510 mg/l ซึ่งยังไม่สามารถปล่อยทิ้งสู่สิ่งแวดล้อม ส่วนน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมักจะเน้นการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสีย ซึ่งวิธีการกำจัดน้ำมันและไขมันที่ใช้กันในปัจจุบันมีหลายวิธี ทั้งวิธีการทางกายภาพ เช่น การตัดออก การใช้ถังตกไขมัน การทำให้ลอยด้วยอากาศ (Dissolved-air flotation) เป็นต้น วิธีการทางเคมี เช่น การใช้สารเคมีในการสร้างและรวมตะกอน การปรับพีเอชให้เป็นกรดเพื่อให้ไขมันรวมตัวกัน และวิธีการทางชีวภาพโดยการนำจุลินทรีย์มาใช้ในการบำบัด แต่ทั้งนี้การบำบัดด้วยวิธีการดังกล่าวยังมีข้อจำกัดในหลายๆ ประการ เช่น มีค่าใช้จ่ายในการบำบัดค่อนข้างสูง ประสิทธิภาพการบำบัดค่อนข้างต่ำ ตะกอนไขมันที่เหลือจากการบำบัดต้องมีการนำไปกำจัดต่อ และข้อจำกัดเกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จึงได้มีการนำเอนไซม์มาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันสูง ซึ่งให้ประสิทธิภาพค่อนข้างสูง แต่เอนไซม์อิสระละลายน้ำและไม่เสถียร เอนไซม์จึงปนอยู่ในน้ำเสียและหลุดไปกับน้ำเสียที่บำบัด ทำให้ใช้งานได้เพียงครั้งเดียว ส่งผลให้ค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูง ดังนั้นการใช้เอนไซม์ตรึงรูปจึงเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับการประยุกต์ใช้บำบัดน้ำเสียเบื้องต้น เนื่องจากช่วยลดค่าใช้จ่ายในการบำบัด เพราะสามารถแยกเอนไซม์ที่ตรึงออกมาได้และสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำหรือใช้ใหม่ได้ (อรัญ หันพงศ์กิตติคุณ, 2556) มีความทนทานต่ออุณหภูมิและพีเอชได้ดีกว่า (Chang and Juang, 2005; Bayramoglu *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2013) และประสิทธิภาพการบำบัดที่ได้จากการศึกษาก็แตกต่างเพียงเล็กน้อย คือเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปให้ประสิทธิภาพการบำบัด น้ำมันและไขมัน 46.70 % และ 42.29 % ตามลำดับ การใช้เอนไซม์ตรึงรูปจึงมีความคุ้มค่ามากกว่า

จากปัญหาดังกล่าวข้างต้นจะเห็นว่ามีความจำเป็นต้องมีการบำบัดในหลายขั้นตอน เพื่อให้ผ่านมาตรฐานน้ำทิ้งโรงงาน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกการบำบัดเบื้องต้นด้วยการทิ้งให้

ตกตะกอน การใช้เอนไซม์อิสระ และเอนไซม์ตรึงรูป สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ส่วนน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลเลือกใช้การปรับพีเอชด้วยกรด การใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป ซึ่งจะเป็นการช่วยลดความสกปรกในน้ำเสียก่อนการบำบัดในระบบไร้อากาศ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดสารอินทรีย์ โดยเฉพาะน้ำมันและไขมัน ซึ่งย่อยสลายยากทางชีวภาพ และมีปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียมากกว่า 2,000 mg/l และเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งรายละเอียดต่างๆ ของการบำบัดเบื้องต้นแต่ละวิธีจะกล่าวในหัวข้อถัดไป ซึ่งเน้นการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์

3.3 การตรึงเอนไซม์

ปัจจุบันมีการนำเอนไซม์มาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย เช่น อาหาร เครื่องดื่ม ยา และเครื่องสำอาง เป็นต้น แต่การใช้เอนไซม์ในภาคอุตสาหกรรมยังมีข้อจำกัด เนื่องจากเอนไซม์มีราคาแพง มีความคงตัวต่ำ และโดยส่วนใหญ่จะใช้เอนไซม์ในรูปที่ละลายน้ำ (Soluble enzyme) ในการทำการปฏิกิริยาต่างๆ ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยาแล้วไม่สามารถแยกเอนไซม์ออกมาใช้ใหม่ได้จึงทำให้ต้นทุนสูง ซึ่งมีการแก้ปัญหาเหล่านี้โดยใช้เอนไซม์ตรึงรูปแทน ซึ่งเป็นเอนไซม์ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ (Insoluble enzyme) เนื่องจากสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ สามารถแยกผลิตภัณฑ์ออกจากเอนไซม์ได้ง่าย สามารถดำเนินการผลิตได้อย่างต่อเนื่องและควบคุมการผลิตได้ดี ในบางกรณีการตรึงเอนไซม์ทำให้เอนไซม์มีกิจกรรมและมีความคงตัวดีขึ้น (อรัญ หันพงษ์กิตติกุล, 2556)

3.3.1 วิธีการตรึงเอนไซม์

การตรึงเอนไซม์มีหลายวิธี เช่น การตรึงแบบดูดซับ การตรึงด้วยพันธะโควาเลนต์ การตรึงแบบเชื่อมขวางและการตรึงแบบห่อหุ้ม แต่การตรึงที่มีความเสถียรมากที่สุดคือ การตรึงด้วยพันธะโควาเลนต์เพราะการตรึงวิธีนี้มีแรงกระทำระหว่างตัวรองรับกับเอนไซม์ที่แข็งแรงมาก ทำให้เอนไซม์หลุดออกจากตัวรองรับได้ยาก อีกทั้งพันธะโควาเลนต์ที่เกิดขึ้นจะทำให้โครงสร้างของเอนไซม์ตรึงรูปแข็งแรงขึ้น ทนต่ออุณหภูมิและพีเอชที่รุนแรงได้มากขึ้น ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อมีการนำกลับมาใช้ซ้ำ (Huckel *et al.*, 1996) นอกจากนี้การตรึงเอนไซม์บนวัสดุที่ไม่ละลายน้ำเป็นการเปลี่ยนคุณสมบัติของตัวเร่งปฏิกิริยาด้วย โดยเปลี่ยนจากตัวเร่งที่เป็นของเหลวให้กลายเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของแข็ง (Adriano *et al.*, 2008)

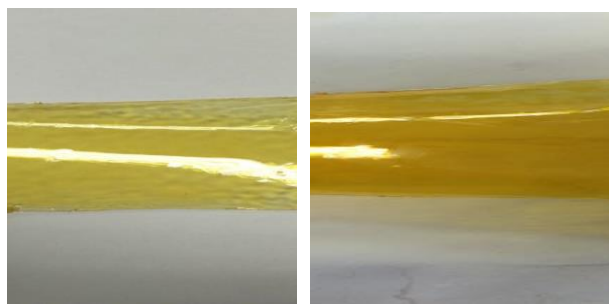
3.3.2 การตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์ (Covalent bond)

การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้ต้องมีการทำให้ตัวพวงหรือวัสดุตรึงมีหมู่เอมีน (NH_2) เพื่อให้สามารถจับกับหมู่อะมิโนของเอนไซม์ (NH_2) เนื่องจากการจับกันด้วยพันธะโควาเลนต์อาศัยโครงสร้างและสมบัติของกรดอะมิโน (Amino acid) ของเอนไซม์ที่มีต่อตัวพวง โดยเริ่มจากการทำปฏิกิริยาระหว่างตัวพวงกับสารประกอบที่มีหมู่ฟังก์ชัน 2 หมู่ แล้วจึงไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ (อรัญ หันพงษ์กิตติกุล, 2556) ซึ่งการทำให้วัสดุตรึงมีสมบัติดังกล่าวประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ (1)

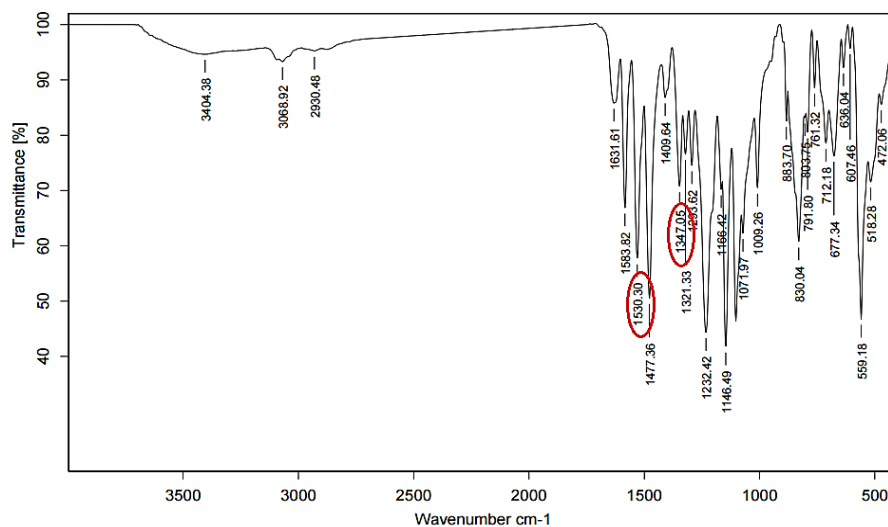
ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาไนเตรชัน (Nitration reaction) ซึ่งเป็นการเติมหมู่ไนโตรเข้าไปที่สายโซ่พอลิเมอร์ และ (2) ขั้นตอนการทำปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการเปลี่ยนหมู่ไนโตรให้เป็นหมู่เอมีน โดยผลการศึกษามีรายละเอียดดังนี้

3.3.2.1 ผลการทำปฏิกิริยาไนเตรชัน (Nitration reaction)

การทำปฏิกิริยาไนเตรชันเป็นการเติมหมู่ไนโตร (NO_2) ให้กับสายโซ่พอลิเมอร์ โดยการละลายในไนโตรเบนซีนและทำปฏิกิริยาในสภาวะที่มีไนโตรเจน พอลิเมอร์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาเรียกว่าไนเตรตพอลิฟีนิลซัลโฟน (Nitrated polyphenylsulfone) ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ สีเขียว มันวาวและมีสีเหลือง แสดงในภาพที่ 3-6 ซึ่งการวิเคราะห์หมู่ไนโตรในแผ่นพอลิเมอร์พิจารณาจากสเปกตรัมของไนเตรตพอลิฟีนิลซัลโฟนที่ได้จากเครื่อง FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) โดยพบแบนด์หมู่ไนโตรที่ตำแหน่ง $1,530.30 \text{ cm}^{-1}$ สำหรับโครงสร้างที่ไม่สมมาตร และ $1,347.05 \text{ cm}^{-1}$ สำหรับโครงสร้างที่สมมาตร แสดงในภาพที่ 3-7 การพบหมู่ไนโตรในแผ่นพอลิเมอร์แสดงว่าทำปฏิกิริยาเติมหมู่ไนโตรลงไปบนแผ่นพอลิเมอร์ได้สำเร็จ โดยการศึกษาให้ค่าสเปกตรัมของหมู่ไนโตรใกล้เคียงกับงานวิจัยของ อิศลาห์ คีอราแม (2551) ซึ่งพบแบนด์หมู่ไนโตรที่ตำแหน่ง $1,528.60 \text{ cm}^{-1}$ สำหรับโครงสร้างที่ไม่สมมาตร และ $1,293.60 \text{ cm}^{-1}$ สำหรับโครงสร้างที่สมมาตร



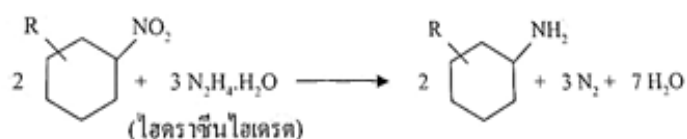
ภาพที่ 3-6 ไนเตรตพอลิฟีนิลซัลโฟน (ซ้าย) เอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน (ขวา)



ภาพที่ 3-7 แบนด์หมู่ไนโตรของไนเตรทพอลิฟีนิลซัน โฟน (แผ่นพอลิเมอร์สังเคราะห์) ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR Spectroscopy ช่วงความถี่ 4,000-400 cm^{-1}

3.2.2.2 ผลการทำปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction reaction)

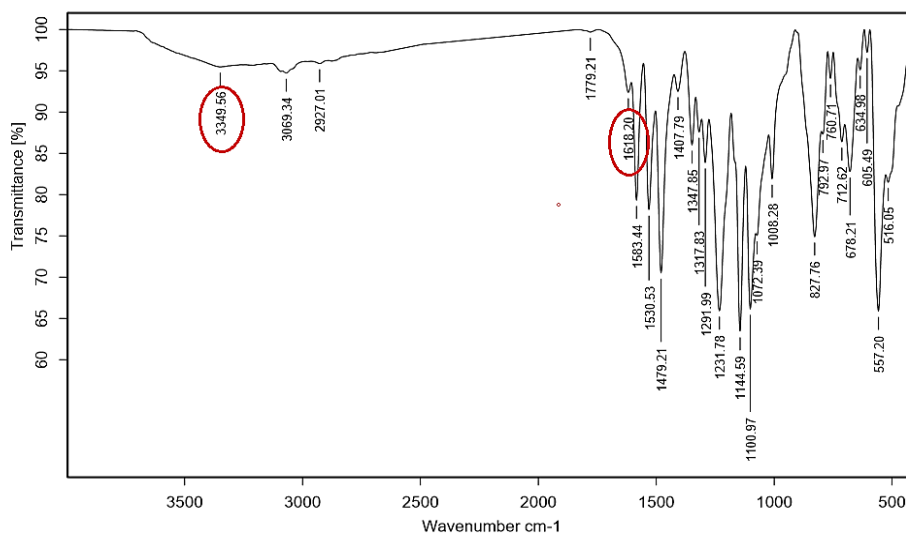
การทำปฏิกิริยารีดักชันเป็นการเปลี่ยนหมู่ไนโตรให้เป็นหมู่เอมีน โดยการใช้น้ำสารละลายไฮดราซีนไฮเดรต (Hydrazine hydrate) ในการทำปฏิกิริยา ซึ่งการทำปฏิกิริยารีดักชันโดยใช้สารละลายไฮดราซีนไฮเดรตเพื่อเปลี่ยนหมู่ไนโตรให้กลายเป็นหมู่เอมีนได้มีผู้ศึกษาเป็นจำนวนมากทั้งที่ใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา (Lauwiner *et al.*, 1998 อ้างโดย อีสลาห์ คีอราแม, 2551) และไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา (Chowdhury *et al.*, 2001; Jayaswal *et al.*, 2001; Sinha *et al.*, 2003; Pugazhenth and Kumar, 2004 อ้างโดย อีสลาห์ คีอราแม, 2551) ในงานวิจัยนี้ใช้การทำปฏิกิริยารีดักชันแบบไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา คือ ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นเมื่อแผ่นพอลิเมอร์สัมผัสกับสารละลายไฮดราซีนไฮเดรตโดยไม่ต้องใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนหมู่ไนโตรให้เป็นหมู่เอมีนโดยใช้ไฮดราซีนไฮเดรตแสดงในภาพที่ 3-8 แผ่นพอลิเมอร์ที่ได้เรียกว่า เอมีนพอลิฟีนิลซัน โฟน ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ ผิวเรียบ มันวาว และมีสีเหลือง เช่นเดียวกับไนเตรทพอลิฟีนิลซัน โฟนแต่มีสีเข้มกว่าเล็กน้อย สาเหตุเพราะในการทำปฏิกิริยารีดักชันมีการกวนผสม ทำให้เกิดก๊าซออกซิเจน ซึ่งก๊าซออกซิเจนสามารถทำปฏิกิริยากับก๊าซไนโตรเจนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของไฮดราซีนไฮเดรตเกิดเป็นก๊าซไนตริกออกไซด์ (NO) โดยก๊าซไนตริกออกไซด์เมื่อทำปฏิกิริยากับก๊าซออกซิเจนต่อจะเกิดเป็นก๊าซไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO_2) ซึ่งมีสีน้ำตาลแกมแดงหรือเหลืองแกมน้ำตาล ทำให้พอลิเมอร์ที่ได้มีสีเข้มขึ้น แสดงภาพที่ 3-6



ภาพที่ 3-8 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนหมู่ไนโตรให้เป็นหมู่เอมีนโดยใช้ไฮดรารีนไฮเดรต
ที่มา อิสลาห์ คีอราแม (2551)

เมื่อพิจารณาสเปกตรัมของแผ่นพอลิเมอร์เอมีนพอลิฟีนิลซัน โฟนจากเครื่อง FTIR พบแบนด์ของหมู่เอมีนที่ตำแหน่ง $3,349.56 \text{ cm}^{-1}$ ซึ่งเมื่อดูจากการยืดและงอของพันธะ N-H พบว่าเป็นเอมีนทุติยภูมิเนื่องจากมีแถบการยืดเพียง 1 แถบ แถบการงอแคบ และพบแบนด์ของเอมีนที่ตำแหน่ง 1618.20 cm^{-1} ซึ่งเป็นแถบการดัดกลืนของการยืดของพันธะ N-H ที่มีความเข้มต่ำ (พิมพ์จิต ตามพวรรณ และ วัชรินทร์ รุกขไชยศิริกุล, 2542) แสดงในภาพที่ 3-9 และเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NMR (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy) ที่ใช้ในการหาโครงสร้างโมเลกุลของสารพบว่ามีสูตร โครงสร้างของหมู่เอมีนหรือพันธะ N-H จึงเป็นการยืนยันว่าบนแผ่นพอลิเมอร์ที่ทำการสังเคราะห์มีหมู่เอมีนอยู่จริง

เมื่อนำผลการศึกษามาเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ อิสลาห์ คีอราแม (2551) และงานวิจัยของ Bayramoglu และคณะ (2011) ที่ทำการสังเคราะห์พอลิเมอร์ให้มีหมู่เอมีนเพื่อใช้ในการตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์พบว่ามีผลการศึกษาใกล้เคียงกัน โดยในงานวิจัยของ อิสลาห์ คีอราแม (2551) พบแบนด์ของหมู่เอมีนที่ตำแหน่ง $3,423.62 \text{ cm}^{-1}$ และตำแหน่ง $1,621.78 \text{ cm}^{-1}$ ส่วนในงานวิจัยของ Bayramoglu และคณะ (2011) พบแบนด์ของหมู่เอมีนที่ตำแหน่ง $3,300 \text{ cm}^{-1}$ สำหรับเอมีนปฐมภูมิ พบแบนด์เอมีนที่ตำแหน่ง $3,404 \text{ cm}^{-1}$ และ $1,628 \text{ cm}^{-1}$ สำหรับเอมีนทุติยภูมิที่มีความเข้มข้นสูงและต่ำ ตามลำดับ



ภาพที่ 3-9 แบนด์หมู่เอมีนของเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน (แผ่นพอลิเมอร์สังเคราะห์) ...
ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง FTIR Spectroscopy ช่วงความถี่ 4,000-400 cm⁻¹

3.2.2.3 ผลการตรึงเอนไซม์บนเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟนด้วยพันธะโควาเลนต์

การตรึงเอนไซม์ในงานวิจัยนี้ใช้เอนไซม์ไลเปสทางการค้าที่ผลิตจากเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* และใช้พอลิฟีนิลซัลโฟน (Polyphenylsulfone) เป็นวัสดุในการตรึง ซึ่งตรึงด้วยพันธะโควาเลนต์ (Covalent bond) โดยก่อนตรึงมีการสังเคราะห์พอลิฟีนิลซัลโฟนให้มีหมู่เอมีน (NH₂) เพื่อให้สามารถจับกับหมู่อะมิโนของเอนไซม์ เมื่อสังเคราะห์พอลิเมอร์ได้สำเร็จจึงนำมาตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีการดังกล่าว โดยใช้แผ่นเอนไซม์ขนาด 1x1 ซม. และใช้กลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) เป็นสารเชื่อมขวางซึ่งเป็นสารเชื่อมขวางที่นิยมใช้ (Bryjak, 2006; Magnan, 2004; Desai, 2005; Rocha 1998 อ้างโดย อีสลาห์ คีอราแม, 2554; Bayramoğlu *et al.*, 2011; Lima *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2013) เพราะกลูตารัลดีไฮด์สามารถทำปฏิกิริยาได้ดีกับหมู่อะมิโน (NH₂-R) ของโปรตีนของเอนไซม์เนื่องจากหมู่อะมิโนเป็น Nucleophiles หรือ อะตอมที่จะให้อิเล็กตรอนคู่ (Bayramoğlu *et al.*, 2011) โดยปลายทั้งสองข้างของกลูตารัลดีไฮด์มีหมู่อัลดีไฮด์ (C-H=O) ซึ่งหมู่อัลดีไฮด์ที่ปลายข้างหนึ่งจะทำพันธะโควาเลนต์กับหมู่เอมีนของเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน (พอลิเมอร์ที่ทำการสังเคราะห์) และหมู่อัลดีไฮด์ที่ปลายอีกข้างหนึ่งจะจับกับหมู่เอมีนของเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์เช่นกัน (อีสลาห์ คีอราแม, 2551) จากการสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่าหลังการตรึงเอนไซม์ที่ผ่านการตรึงด้วยพันธะโควาเลนต์บนเอมีนพอลิฟีนิลซัลโฟน ไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพแต่อย่างใด คือ สีของแผ่นเอนไซม์ตรึงก็มีสีเหลืองเข้มเช่นเดียวกับแผ่นเอมีน

พอลิฟีนิลซัลโฟน และผิวของแผ่นเอนไซม์ตรึงก็มีลักษณะเรียบและมันวาวเช่นเดิม แสดงในภาพที่ 3-10 ส่วนการทดสอบการตรึงว่าตรึงได้สำเร็จหรือไม่จะกล่าวในหัวข้อการทดสอบเอนไซม์



ภาพที่ 3-10 แผ่นเอนไซม์ตรึงรูปที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียเบื้องต้น ขนาด 1x1 cm ตรึงด้วยความเข้มข้นเอนไซม์ 140 $\mu\text{g/ml}$

3.4 การทดสอบเอนไซม์

การทดสอบเอนไซม์ประกอบด้วย การทดสอบการตรึงเอนไซม์ เพื่อดูว่าสามารถทำการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีการที่ศึกษาได้สำเร็จหรือไม่ และเพื่อทดสอบผลหลังการตรึงว่าเอนไซม์มีค่ากิจกรรมลดลงหรือไม่หลังการตรึง และการทดสอบสภาวะที่เหมาะสมของการใช้งานเอนไซม์ ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมของการใช้งานส่งผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดโดยตรง จึงจำเป็นต้องมีการศึกษา โดยผลการศึกษา มีดังต่อไปนี้

3.4.1 การทดสอบการตรึงเอนไซม์

การทดสอบว่าสามารถตรึงเอนไซม์ได้สำเร็จหรือไม่ส่วนใหญ่จะตรวจสอบโดยการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ยึดเกาะบนวัสดุตรึง กิจกรรมของเอนไซม์หลังการตรึงเปรียบเทียบกับเอนไซม์อิสระ การตรวจสอบจลนศาสตร์ของเอนไซม์ และการตรวจสอบเสถียรภาพด้านการทนต่อความร้อน เพราะบางกรณีหลังการตรึงกิจกรรมเอนไซม์ การจับหรือทำปฏิกิริยากับสับสเตรท (Substrate) เสถียรภาพและของเอนไซม์มีการเปลี่ยนแปลงแต่บางกรณีทำให้กิจกรรมเอนไซม์ดีขึ้น และมีความคงตัวมากขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาหรือชนิดของเอนไซม์ ชนิดของตัวพวยง และวิธีการตรึง (Bayramoğlu *et al.*, 2011) แต่ในงานวิจัยนี้ศึกษาเฉพาะกิจกรรมของเอนไซม์และปริมาณโปรตีนของเอนไซม์

จากการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ตรีงรูปและปริมาณโปรตีนที่ยึดเกาะบนพอลิเมอร์ของเอนไซม์ตรีงรูปพบว่าหลังการตรีงด้วยพันธะโควาเลนต์บนเอมีนพอลิฟีนิลซันโฟน เอนไซม์ตรีงรูปดังกล่าวมีกิจกรรมเอนไซม์ลดลง ดังตารางที่ 3-2 อาจเป็นเพราะในสภาวะการตรีงเอนไซม์ด้วยวิธีการตรีงด้วยพันธะโควาเลนต์มีความรุนแรงเอนไซม์จึงอาจเกิดการสูญเสียกิจกรรมระหว่างการตรีง (Tan *et al.*, 2010) นอกจากนี้หลังการตรีงปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ก็ลดลงด้วย ซึ่งลดลงค่อนข้างสูง อาจเป็นเพราะในระหว่างการตรีงมีการใช้อุณหภูมิค่อนข้างสูง ทำให้ปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ที่ทนความร้อนได้ต่ำเกิดการเสื่อมสภาพและอาจเป็นเพราะโปรตีนของเอนไซม์เกิดการละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ใช้ละลายเอนไซม์ให้เป็นของเหลว ซึ่งตัวทำละลายดังกล่าวเป็นสารประเภทเกลือโซเดียมที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย ซึ่งโปรตีนสามารถละลายได้ ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนลดลง ดังตารางที่ 3-2

ตารางที่ 3-2 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ตรีงรูป

กิจกรรมเอนไซม์ (U/mg protein)		ปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ ($\mu\text{g/ml}$)	
เอนไซม์อิสระ	เอนไซม์ตรีง	เอนไซม์อิสระ	เอนไซม์ตรีง
845.57 \pm 0.03	772.01 \pm 0.24	50.78 \pm 0.27	27.09 \pm 0.18

3.4.2 การทดสอบสถานะที่เหมาะสมของการใช้งานเอนไซม์ไลเปสตรีงรูปในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันของน้ำเสียตัวอย่าง

ในการศึกษานี้ทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ตรีงรูป (1, 2 และ 3 แผ่น) และระยะเวลาการสัมผัสของเอนไซม์ตรีงรูปกับตัวอย่างน้ำเสียที่เวลาต่างๆ (12, 24 และ 48 ชั่วโมง) เพื่อทดสอบดูว่าเอนไซม์ที่ทำการตรีงสามารถย่อยสลายน้ำมันและไขมันได้สูงสุดเมื่อใช้แผ่นเอนไซม์ตรีงรูปกี่แผ่นและใช้ระยะเวลาการสัมผัสใด โดยซึ่งความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันประเมินจากปริมาณกรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid) และกลีเซอรอล (Glycerol) ที่เพิ่มขึ้น ผลการศึกษาพบว่าน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลต้องใช้แผ่นเอนไซม์ตรีงจำนวน 3 และ 2 แผ่น ตามลำดับ ต่อปริมาตรน้ำเสีย 120 ml (แต่ละแผ่นขนาด 1x1 ซม.) และพบว่าที่ระยะเวลาสัมผัส 24 ชั่วโมงจึงจะให้ปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลสูงสุด โดยกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น 28.69 และ 29.83 % สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม กรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น 31.17 และ 32.90 % สำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 3-3

ตารางที่ 3-3 สภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ตรีงรูปย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสีย

จำนวน แผ่น เอนไซม์ (แผ่น)	ระยะเวลา สัมผัส (ชม.)	น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม		น้ำเสียโรงงานผลิตไบโอดีเซล	
		กรดไขมันอิสระ (%)	กลีเซอรอล (%)	กรดไขมันอิสระ (%)	กลีเซอรอล (%)
1	12	7.68±0.07	5.12±0.08	3.70±0.02	7.08±0.08
	24	8.40±0.07	5.60±0.49	4.07±0.03	8.06±0.33
	48	7.70±0.02	5.37±0.08	3.62±0.05	8.12±0.08
2	12	8.17±0.04	5.35±0.08	4.03±0.09	7.94±0.16
	24	9.38±0.05	5.75±0.16	5.23±0.02	9.18±0.16
	48	8.29±0.04	5.54±0.16	4.18±0.02	8.86±0.16
3	12	8.56±0.09	5.40±0.08	4.01±0.16	7.37±0.16
	24	9.34±0.07	5.90±0.16	4.63±0.11	8.40±0.16
	48	8.60±0.22	5.82±0.33	4.04±0.07	8.23±0.24
น้ำเสียดิบ		6.66±0.05	4.14±0.33	3.60±0.03	6.16±0.08

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและไขมันในน้ำเสีย พบว่าปริมาณน้ำมันและไขมันลดลง 41.59 % และ 61.27 % สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 3-4 แสดงให้เห็นว่ากรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำมันและไขมันที่ลดลง ซึ่งถ้าปริมาณน้ำมันและไขมันลดลงปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลจะเพิ่มขึ้น เพราะผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันและไขมันคือกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล และยังพบว่าปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียที่ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันอิสระสายโซ่ยาว (Long chain free fatty acid, LCFAs) และกลีเซอรอลที่ละลายอยู่ในน้ำทำให้ปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้น (Jeganathane *et al.*, 2007) โดยปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้น 9.26 % และ 18.01 % ซึ่งอาจมีผลต่อประสิทธิภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพเนื่องจากน้ำมันที่เป็นสาร โมเลกุลใหญ่ถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันที่เป็นสาร โมเลกุลเล็ก ซึ่งง่ายต่อการนำไปใช้ของจุลินทรีย์ในระบบหมักไร้อากาศ

ตารางที่ 3-4 ปริมาณน้ำมันและไขมันที่ลดลงและปริมาณซีโอดีละลายน้ำที่เพิ่มขึ้นเมื่อใช้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส 24 ชั่วโมง และใช้แผ่นเอนไซม์ตรีงรูป 2 และ 3 แผ่น (1 แผ่นขนาด 1 ตร.ซม.) ต่อน้ำเสีย 120 ml สำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลและน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ตามลำดับ

น้ำเสีย	น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม		น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	
	ค่า SCOD (mg/l)	ค่า O&G (mg/l)	ค่า SCOD (mg/l)	ค่า O&G (mg/l)
ก่อนใช้เอนไซม์	49,000±6,387.49	2,270±4.00	118,889±10,478.93	17,140±4.00
หลังใช้เอนไซม์	54,000±4,242.64	1,326±9.90	145,000±7,071.07	6,638±10.61
% (เพิ่ม/ลด)	+ 9.26	- 41.59	+ 18.01	- 61.27

การทำงานของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายปัจจัย ถ้าปัจจัยดังกล่าวไม่เหมาะสมกิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงหรือไม่สามารถทำงานได้ ซึ่งนอกจากปัจจัยด้านพีเอชและอุณหภูมิ ความเข้มข้นของสับสเตรท (Substrate) ก็เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่ง เนื่องจากสับสเตรทที่มีความเข้มข้นมากเกินไปสามารถทำให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงได้ โดยจากการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง พบว่า เนยเหลวและน้ำมันมะกอกที่มีความเข้มข้นมากกว่า 5 % และ 3 % ตามลำดับ จะลดกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (Eitenmiller *et al.*, 1970) เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Achromobacter lipolyticum* จะแสดงกิจกรรมลดลงเมื่อใช้กลีเซอรอลที่ความเข้มข้นมากกว่า 10 % เป็นสับสเตรท (Khan *et al.*, 1967) ซึ่งการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์ส่งผลให้ความสามารถในการกำจัดน้ำมันและไขมันลดลง ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีลดลงด้วย ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษากับน้ำเสียที่ทำการเจือจางด้วย โดยใช้อัตราส่วนน้ำเสียต่อน้ำกลั่น 1:6 (ใช้อัตราการเจือจางเดียวกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2006) เนื่องจากปริมาณความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันของน้ำเสียมีลักษณะใกล้เคียงกัน) ผลการศึกษา พบว่า ให้ผลการศึกษาในลักษณะเดียวกัน คือ น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลต้องใช้แผ่นเอนไซม์ตรีง 3 แผ่น และ 2 แผ่น (1 แผ่นขนาด 1 ตร. ซม.) ต่อน้ำเสีย 120 ml ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง จึงจะให้ปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลสูงสุด โดยกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น 37.13 % และ 35.92 % สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม กรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น 54.24 % และ 54.76 % สำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ซึ่งปริมาณของกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นมากกว่าน้ำเสียที่ไม่ทำการเจือจาง แสดงว่าความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันในน้ำเสียที่มากเกินไปมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยผลการศึกษานี้แสดงในตารางที่ 3-5

ตารางที่ 3-5 สภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ตรีงย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียตัวอย่าง
ที่เจือจางอัตราส่วนน้ำเสียดอน้ำกลั่น 1:6

จำนวนแผ่น เอนไซม์ (แผ่น)	ระยะเวลา สัมผัส (ชม.)	น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม		น้ำเสียโรงงานผลิตไบโอดีเซล	
		กรดไขมันอิสระ (%)	กลีเซอรอล (%)	กรดไขมันอิสระ (%)	กลีเซอรอล (%)
1	12	1.02±0.07	0.92±0.08	0.58±0.02	3.63±0.08
	24	1.23±0.07	1.05±0.08	1.08±0.07	2.53±1.96
	48	0.78±0.02	1.05±0.08	0.73±0.09	3.68±0.16
2	12	1.13±0.02	1.11±0.16	0.90±0.04	4.37±0.33
	24	1.36±0.04	1.20±0.08	1.18±0.07	7.25±0.16
	48	1.06±0.05	1.05±0.08	0.99±0.02	4.55±0.24
3	12	1.18±0.07	1.27±0.08	0.72±0.07	4.49±0.16
	24	1.67±0.02	1.42±0.16	0.97±0.04	5.81±0.08
	48	0.96±0.13	1.03±0.16	0.79±0.04	4.72±0.16
น้ำเสียดิบ		1.05±0.39	0.91±0.16	0.54±0.04	3.28±0.24

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและไขมันในน้ำเสีย พบว่าปริมาณน้ำมันและไขมันลดลง 58.48 % และ 69.67 % สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 3-6 นอกจากนี้ปริมาณซีโอดีละลายน้ำก็เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน โดยซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้น 17.5 % และ 22.30 % ซึ่งเป็นผลมาจากกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลที่เป็นผลิตภัณฑ์จากการย่อยน้ำมันและไขมันละลายอยู่ในน้ำทำให้ปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้นและจากการศึกษาจะเห็นว่าที่จำนวนแผ่นเอนไซม์ตรีง 3 แผ่น และ 2 แผ่น (1 แผ่นขนาด 1 ตร.ซม.) ดอน้ำเสีย 120 ml และระยะเวลาสัมผัสระหว่างแผ่นเอนไซม์กับน้ำเสีย 24 ชั่วโมงเท่ากับกับน้ำเสียที่ไม่ทำการเจือจาง พบว่าการเจือจางที่อัตราส่วน 1:6 ช่วยให้เอนไซม์ทำงานได้ดีขึ้น อาจเป็นเพราะน้ำเสียที่ไม่ทำการเจือจางมีความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันสูง ซึ่งอาจยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เพราะความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันที่มากเกินไปสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ (Khan *et al.*, 1967; Eitenmiller *et al.*, 1970) แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาจำนวนแผ่นเอนไซม์ตรีงและอัตราการเจือจางเพิ่มเติม

ตารางที่ 3-6 ปริมาณน้ำมันและไขมันที่ลดลงและปริมาณซีโอดีละลายน้ำที่เพิ่มขึ้นของน้ำเสียที่ทำการเจือจางอัตราส่วน 1:6 โดยใช้ระยะเวลาทำปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง และใช้แผ่นเอนไซม์ 2 และ 3 แผ่น (1 แผ่น ขนาด 1 ตร.ซม.) ต่อปริมาตรน้ำเสีย 120 ml สำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลและน้ำเสียจากโรงงานน้ำมันปาล์ม ตามลำดับ

น้ำเสีย	น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม		น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	
	ค่า SCOD (mg/l)	ค่า O&G (mg/l)	ค่า SCOD (mg/l)	ค่า O&G (mg/l)
ก่อนใช้เอนไซม์	16,500±707.11	997±82.02	54,000±2,828.43	6,215±7.07
หลังใช้เอนไซม์	20,000±1,414.21	414±35.36	69,500±4,242.64	1,885±5.66
% (เพิ่ม/ลด)	+ 17.5	- 58.48	+ 22.30	- 69.67

นอกจากนี้ยังพบว่าในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ปริมาณกรดไขมันอิสระ กลีเซอรอล และซีโอดีละลายน้ำของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลเพิ่มขึ้นมากกว่าน้ำเสียของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มทั้งน้ำเสียที่ไม่เจือจางและน้ำเสียที่เจือจาง อีกทั้งปริมาณน้ำมันและไขมันที่ลดลงมากกว่าด้วย อาจเป็นเพราะลักษณะน้ำเสียที่มีความแตกต่างกัน โดยน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีสภาพเป็นอิมัลชันแบบน้ำในน้ำ (Oil in water emulsion) เนื่องจากการปนเปื้อนสบู่ที่เกิดจากปฏิกิริยาข้างเคียงของการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชันที่ใช้ด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ส่วนน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีสถานะเป็นน้ำมันในน้ำ แสดงให้เห็นว่าน้ำเสียที่มีสภาพเป็นอิมัลชันมีความเหมาะสมที่จะใช้เอนไซม์บำบัดเบื้องต้นมากกว่าน้ำเสียที่ไม่มีสภาพเป็นอิมัลชัน แม้ว่าการใช้เอนไซม์ย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียเหมาะกับน้ำเสียที่มีสถานะเป็นน้ำมันในน้ำหรือย่อน้ำมันในน้ำได้ดี (อรัญ หันพงศ์กิตติกุล, 2556)

3.5 ผลของการใช้เอนไซม์บำบัดน้ำเสียเบื้องต้น

การใช้ตัวเร่งทางชีวภาพ (Biocatalyst) หรือเอนไซม์สำหรับกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียเป็นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพ แม้ในน้ำเสียจะมีความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันสูง เมื่อเทียบกับเทคนิคหรือวิธีการที่มีอยู่เดิม เช่น การใช้กระบวนการโคแอกกูเลชัน กระบวนการตะกอนลอยแบบอัดอากาศ และกระบวนการดูดซับ เป็นต้น (Woolard and Irvine, 1995) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เอนไซม์อิสระเพื่อกำจัดน้ำมันและไขมันออกจากน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล โดยเปรียบเทียบกับเอนไซม์ตรึงรูป โดยผลการศึกษามีดังต่อไปนี้

3.5.1 ผลการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงบำบัดเบื้องต้นน้ำเสียโรงงานน้ำมันปาล์ม

จากการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการใช้เอนไซม์บำบัดน้ำเสียเบื้องต้นพบว่า เอนไซม์มีประสิทธิภาพค่อนข้างสูงในการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสีย (Sharma *et al.*, 2001; Nakhla *et al.*, 2003; Jeganathan *et al.*, 2006; Jeganathan *et al.*, 2007; Mobarak *et al.*, 2012; Domingues *et al.*, 2015; Meng *et al.*, 2015) จึงสนใจศึกษาการใช้เอนไซม์บำบัดน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเบื้องต้นเนื่องจากเป็นอุตสาหกรรมที่สำคัญในภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งผลการศึกษาพบว่าลักษณะสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระมีสีจางลงเล็กน้อย มีค่าซีโอดีทั้งหมด 34,000 mg/l มีปริมาณน้ำมันและไขมัน 1,210 mg/l ซึ่งการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระสามารถลดปริมาณซีโอดีทั้งหมดได้ 44.56 % ลดน้ำมันและไขมันได้ 46.70 % ดังแสดงในตารางที่ 3-7 แสดงให้เห็นว่าการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระมีประสิทธิภาพค่อนข้างสูงสำหรับกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสีย แต่หลังการย่อยด้วยเอนไซม์อิสระปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายและปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้น 16.28 % และ 21.31 % ตามลำดับ เป็นผลมาจากการย่อยน้ำมันและไขมันในน้ำเสียโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ให้กลายเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล โดยความสัมพันธ์ของการลดลงของซีโอดีทั้งหมดกับซีโอดีละลายน้ำแสดงในภาพที่ 3-11 ซึ่งการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันและกลีเซอรอลน่าจะเป็นผลดีต่อการเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพและอาจจะช่วยลดระยะเวลาการในการหมักเพราะกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกและก๊าซไฮโดรเจนและเปลี่ยนเป็นมีเทนได้เร็วขึ้น นอกจากนี้ปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งแขวนลอยก็เพิ่มขึ้นด้วยเป็นเพราะสปูซึ่งเกิดจากการที่น้ำมันและไขมันในน้ำเสียทำปฏิกิริยากับด่างที่เดิมลงไปเพื่อปรับพีเอชน้ำเสียก่อนใช้เอนไซม์บำบัดรวมตัวกันเป็นโครงสร้างที่เรียกว่าไมเซลล์ โดยส่วนหางของโมเลกุลสปูรวมตัวกับหยดน้ำมันหรือรวมตัวกันเองกลายเป็นแกนน้ำมันของโครงสร้างไมเซลล์ ส่วนหัวของโมเลกุลสปูจะอยู่บริเวณโดยรอบแกนน้ำมันและสร้างพันธะกับน้ำ ส่งผลให้แขวนลอยอยู่ในน้ำได้ ทำให้ปริมาณของแข็งแขวนลอยเพิ่มขึ้นและเมื่อของแข็งแขวนลอยเพิ่มขึ้นปริมาณของแข็งทั้งหมดก็เพิ่มขึ้นด้วย

โดยทั่วไปเอนไซม์อิสระละลายน้ำและไม่เสถียร เอนไซม์จึงปนอยู่ในน้ำเสียและหลุดไปกับน้ำเสียที่บำบัด ทำให้ใช้งานได้เพียงครั้งเดียว ส่งผลให้ค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูง ดังนั้นการใช้เอนไซม์ตรึงรูปจึงเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับการประยุกต์ใช้บำบัดน้ำเสีย เนื่องจากช่วยลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดเพราะสามารถแยกเอนไซม์ที่ตรึงออกมาได้และสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ (อรัญ หันพงศ์กิตติคุณ, 2556) มีความทนทานต่ออุณหภูมิและพีเอชได้ดีกว่า (Chang and Juang, /จ 2005; Bayramoglu *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2013) นอกจากนี้เอนไซม์ตรึงรูปสามารถใช้งานได้หลากหลาย สามารถควบคุมปฏิกิริยาได้ และทนต่อความร้อน (Knezevic *et al.*, 2002; Matsumoto

and Ohashi, 2003; Chiou and Wu, 2004 อ้างโดย Jeganathan *et al.*, 2007) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงศึกษาการใช้เอนไซม์ตรีงรูปบำบัดน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วย เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้สำหรับบำบัดน้ำเสียในขั้นต้นก่อนเข้าระบบหมักไร้อากาศเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรีงรูปมีค่าซีโอดี 38,000 mg/l น้ำมันและไขมัน 1,310 mg/l ของแข็งทั้งหมด 40,450 mg/l ซึ่งการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรีงรูปสามารถกำจัดซีโอดีทั้งหมดได้ 38.04 % กำจัดน้ำมันและไขมันได้ 42.29 % ดังแสดงในตารางที่ 3-7 แสดงให้เห็นว่าการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรีงรูปมีประสิทธิภาพสูงสำหรับกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียแต่น้อยกว่าเอนไซม์อิสระเล็กน้อย โดยเอนไซม์อิสระให้ประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีทั้งหมด 44.56 % ลดน้ำมันและไขมันได้ 46.70 % นอกจากนี้พบว่าน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ทิ้งให้ตกตะกอนแล้วผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรีงรูปให้ปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้น 14.29 % และให้ปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายเพิ่มขึ้น 11.77 %

ตารางที่ 3-7 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรีงรูป

พารามิเตอร์	ค่าจากการวิเคราะห์				
	น้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัด	น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ	% การเพิ่มขึ้น ลดลง	น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรีงรูป	% การเพิ่มขึ้น ลดลง
pH	4.60±0.12	7.49±0.05	-	7.68±0.04	-
TCOD	61,333±1,154.70	34,000±2,828.43	- 44.56	38,000±1,414.21	- 38.04
SCOD	24,000±1,673.32	30,500±2,121.32	+ 21.31	28,000±1,414.21	+ 14.29
TS	35,380±989.95	40,965±77.78	+ 13.63	40,450±636.40	+ 12.53
SS	11,530±127.28	12,770±70.71	+ 9.71	12,490±155.56	+ 7.69
O&G	2,270±4.00	1,210±109.60	- 46.70	1,310±7.07	- 42.29
BOD	28,350±606.22	18,500±707.11	- 34.74	18,800±707.11	- 33.69
Alkalinity	1,100±7.07	970±28.28	- 11.82	960±84.85	- 12.73
VFA	5,735±403.05	6,850±70.71	+ 16.28	6,500±42.43	+ 11.77

หมายเหตุ: ทุกพารามิเตอร์มีหน่วยเป็น mg/l ยกเว้น pH

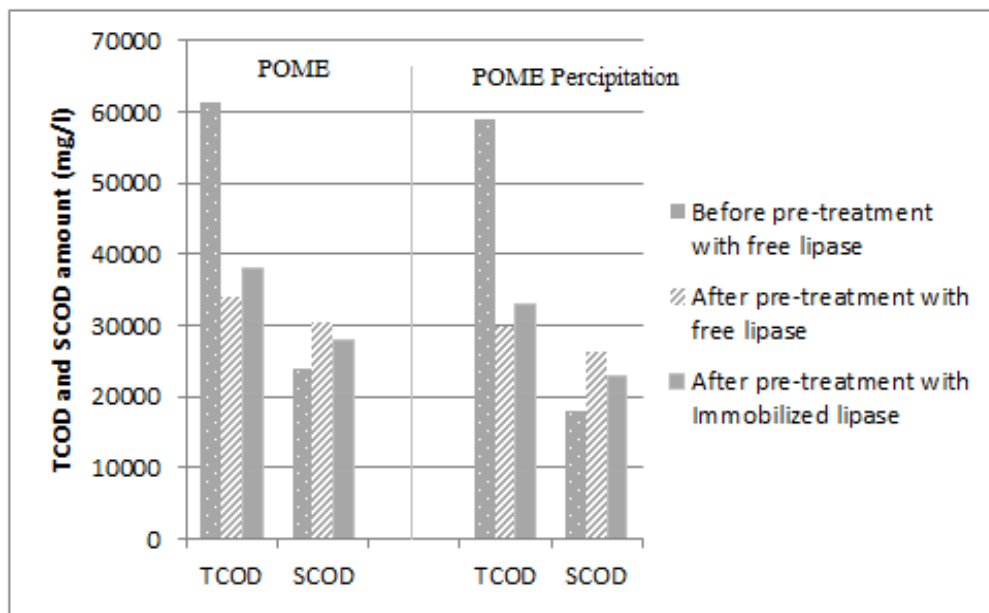
แต่อย่างไรก็ตามหลังผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปปริมาณซีโอดี น้ำมันและไขมันและปริมาณของแข็งยังคงมีค่าสูงมาก ผู้ศึกษาจึงสังเกตเห็นถึงความจำเป็นของการบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นก่อนการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปเพื่อเป็นการช่วยลดความสกปรกในน้ำเสียโดยเฉพาะน้ำมัน เนื่องจากความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันที่มากเกินไปอาจยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบ จากการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการบำบัดน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มพบว่า การบำบัดน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มจะใช้การทิ้งให้ของแข็งแขวนลอยตกตะกอนก่อนบ่อ ดังนั้นจึงใช้การทิ้งให้ตกตะกอนบำบัดน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเบื้องต้นก่อนใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปด้วย โดยทิ้งให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเอาเฉพาะน้ำเสียด้านบนมาบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปตามสภาวะการทำงานที่เหมาะสมของเอนไซม์ ซึ่งเมื่อทำการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติทางเคมีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการทิ้งให้ตกตะกอนแล้วบำบัดต่อด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปพบว่ามีค่าซีโอดีทั้งหมด 30,000 mg/l และ 33,000 mg/l มีปริมาณน้ำมันและไขมัน 780 mg/l และ 820 mg/l ซึ่งสามารถลดปริมาณซีโอดีทั้งหมดได้ 49.15 % และ 44.07 % ลดน้ำมันและไขมันได้ 55.63 % และ 53.34 % ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3-8 และหลังการย่อยด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายเพิ่มขึ้น 18.94 % และ 17.11 % ปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้น 32.08 % และ 21.74 % ตามลำดับ ซึ่งความสัมพันธ์ของปริมาณซีโอดีทั้งหมดและปริมาณซีโอดีละลายน้ำมีลักษณะเช่นเดียวกันกับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ไม่ผ่านการทิ้งให้ตกตะกอน แสดงในภาพที่ 3-11 การเพิ่มขึ้นของกรดไขมันระเหยเป็นผลมาจากการย่อยน้ำมันและไขมันในน้ำเสียโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ไลเปสให้กลายเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล ซึ่งน่าจะเป็นผลดีต่อการเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพเพราะกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกและก๊าซไฮโดรเจนและเปลี่ยนเป็นมีเทนได้เร็วขึ้น นอกจากนี้ปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งแขวนลอยก็เพิ่มขึ้นด้วยเช่นเดียวกันเป็นเพราะสาเหตุที่เกิดจากการที่น้ำมันและไขมันในน้ำเสียทำปฏิกิริยากับด่าง (NaOH) ที่เติมลงไปเพื่อปรับพีเอชน้ำเสียก่อนที่จะใช้เอนไซม์บำบัด โดยส่วนหางของโมเลกุลสบู่รวมตัวกับหยดน้ำมันหรือรวมตัวกันเองกลายเป็นแกนน้ำมันของโครงสร้างไมเซลล์ ส่วนหัวของโมเลกุลสบู่จะอยู่บริเวณโดยรอบแกนน้ำมันและสร้างพันธะกับน้ำ ส่งผลให้แขวนลอยอยู่ในน้ำได้ ทำให้ของแข็งแขวนลอยเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 3-8 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการทิ้งให้ตกตะกอนแล้วบำบัดด้วย เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป

พารามิเตอร์	ค่าจากการวิเคราะห์				
	น้ำเสียที่ผ่านการ ทิ้งให้ตกตะกอน	น้ำเสียที่ทิ้งให้ ตกตะกอน+ เอนไซม์อิสระ	% การ เพิ่มขึ้น ลดลง	น้ำเสียที่ทิ้งให้ ตกตะกอน+ เอนไซม์ตรึงรูป	% การ เพิ่มขึ้น ลดลง
pH	4.59±0.05	7.48±0.06	-	7.74±0.11	-
TCOD	59,000±4,242.61	30,000±1,414.21	- 49.15	33,000±1,414.21	- 44.07
SCOD	18,000±1,414.21	26,500±707.11	+ 32.08	23,000±1,414.21	+ 21.74
TS	23,480±579.83	27,425±982.88	+ 14.38	26,580±806.10	+ 11.66
SS	8,610±240.42	9,710±127.28	+ 11.33	9,590±14.14	+ 10.22
O&G	1,758±50.91	780±31.82	- 55.63	820±24.75	- 53.34
BOD	27,000±1,414.21	17,000±1,060.66	- 37.04	18,000±1,414.21	- 34.55
Alkalinity	1073±10.61	830±14.142	- 22.65	845±35.36	- 21.25
VFA	5,715±49.50	7,050±28.28	+ 18.94	6,895±49.50	+ 17.11

หมายเหตุ: ทุกพารามิเตอร์มีหน่วยเป็น mg/l ยกเว้น pH

เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดใดๆ ก่อนการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป พบว่า น้ำเสียที่ทิ้งให้ตกตะกอนก่อนแล้วใช้เอนไซม์อิสระบำบัดสามารถลดซีโอดีทั้งหมด บีโอดี น้ำมันและไขมัน ได้สูงกว่า เนื่องจากปริมาณน้ำมันที่เข้มข้นมากไปมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งการทิ้งให้ตกตะกอนสามารถลดความเข้มข้นของน้ำมันในน้ำเสียได้เพราะตะกอนที่ตกตะกอนก็มีปริมาณน้ำมันเจือปนอยู่ด้วย ทำให้ปริมาณน้ำมันลดลงหลังการทิ้งให้ตกตะกอน ส่งผลให้น้ำเสียที่ผ่านการตกตะกอนสามารถลดซีโอดี น้ำมันและไขมัน ได้มากกว่าเมื่อใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดอีกครั้ง



ภาพที่ 3-11 ความสัมพันธ์ของการลดลงของซีโอดีทั้งหมดกับซีโอดีละลายน้ำหลังการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้นของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการทิ้งให้ตกตะกอน

จากภาพที่ 3-11 จะเห็นว่าหลังการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นปริมาณซีโอดีทั้งหมดลดลงแต่ปริมาณซีโอดีละลายน้ำกลับเพิ่มขึ้น ซึ่งการที่ปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้นเป็นเพราะผลจากการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ไลเปสกับน้ำมันและไขมันในน้ำเสียได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันอิสระสายโซ่ยาวและกลีเซอรอลที่ละลายอยู่ในน้ำ เมื่อพิจารณาถึงปริมาณน้ำมันและไขมันที่ลดลงกับปริมาณซีโอดีละลายน้ำที่เพิ่มขึ้นจะเห็นว่าน้ำมันและไขมันลดลงสูงแต่ปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้เพราะน้ำมันและไขมันที่อยู่ในน้ำเสียถูกเปลี่ยนเป็นสบู่ด้วยในบางส่วน ซึ่งเกิดจากการใช้ด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับพีเอชก่อนการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระเพื่อให้มีสภาพที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์อิสระ นอกจากนี้กรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นสามารถถูกออกซิไดซ์ด้วยออกซิเจนเป็นกรดไขมันที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและระเหยได้ง่าย ซึ่งส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันระเหยง่าย (VFA) เพิ่มขึ้นด้วย

เมื่อนำผลการศึกษามาเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ ที่ใช้เอนไซม์อิสระบำบัดเบื้องต้นพบว่าผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2007) และ Qamsari และคณะ (2012) ที่พบว่าหลังผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้นและพบว่าสามารถลดซีโอดีทั้งหมด (TCOD) ได้ใกล้เคียงกันมากกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ

(2007) และใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Abrunhusa และคณะ (2013) ที่ลดซีโอดีทั้งหมดได้ 48 % และ 45 % ตามลำดับ โดยในงานวิจัยนี้สามารถลดซีโอดีทั้งหมดได้ 44.56 % และ 49.15 % สำหรับน้ำเสียที่ไม่ทิ้งให้ตกตะกอนและน้ำเสียที่ทิ้งให้ตกตะกอนก่อนใช้เอนไซม์อิสระบำบัดเบื้องต้นตามลำดับ ส่วนความสามารถในการลดปริมาณน้ำมันและไขมันใกล้เคียงกันเฉพาะกับงานวิจัยของ Abrunhusa และคณะ (2013) ที่ลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 48 % และงานวิจัยนี้ลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 46.70 % และ 55.63 % สำหรับน้ำเสียที่ไม่ทิ้งให้ตกตะกอนและน้ำเสียที่ทิ้งให้ตกตะกอนก่อนแล้วใช้เอนไซม์อิสระบำบัดเบื้องต้นก่อนผลิตก๊าซชีวภาพ ตามลำดับ แต่แตกต่างกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2007) ที่สามารถลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้สูงถึง 65 % ทั้งนี้เป็นเพราะลักษณะน้ำเสียที่ใช้ของงานวิจัยนี้กับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องค่อนข้างแตกต่างกัน

เมื่อนำผลการศึกษามาเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เอนไซม์ตรึงรูปบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นพบว่าหลังการใช้เอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้นน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มปริมาณซีโอดีทั้งหมดลดลงได้สูงกว่างานวิจัยของ Kanmani และคณะ (2015) เพียงเล็กน้อย คือ ในงานวิจัยนี้ลดซีโอดีทั้งหมดได้ 38.04 % โดยที่งานวิจัยของ Kanmani และคณะ (2015) ลดซีโอดีทั้งหมดได้ 32 % แต่ค่อนข้างแตกต่างกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2007) ที่ลดซีโอดีทั้งหมดได้ 45 % ส่วนปริมาณน้ำมันและไขมันลดลงน้อยกว่างานวิจัยที่เกี่ยวข้องเล็กน้อยถ้าเทียบกับงานวิจัยของ Nilesh และ Mukhopadhyay (2012) ที่ลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 47 % ซึ่งในงานวิจัยนี้ลดน้ำมันและไขมันได้ 42.29 % แต่ถ้าเทียบกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2007) และงานวิจัยของ Kanmani และคณะ (2015) ในงานวิจัยนี้ปริมาณน้ำมันและไขมันลดลงน้อยกว่ามาก ซึ่งลดได้เพียง 42.29 % โดยที่งานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2007) และงานวิจัยของ Kanmani และคณะ (2015) ลดน้ำมันและไขมันได้ 62 และ 52 % ตามลำดับ ส่วนน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำปาล์มที่ทิ้งให้ตกตะกอนก่อนแล้วบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปอีกครั้ง สามารถลดซีโอดีทั้งหมดได้ 44.07 % ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2007) ที่ลดปริมาณซีโอดีทั้งหมด 45 % ส่วนความสามารถในการลดปริมาณน้ำมันและไขมันพบว่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Kanmani และคณะ (2015) ที่ลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 53 % ซึ่งงานวิจัยนี้สามารถลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 53.34 % แต่แตกต่างกันมากกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2007) ซึ่งงานวิจัยนี้ลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 62 % ซึ่งเกิดจากการใช้วิธีการที่ต่างกัน การใช้อินไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่ต่างชนิดกันและการใช้สภาวะของการทำปฏิกิริยาที่ต่างกัน

เมื่อนำผลวิเคราะห์ซีโอดีและบีโอดีที่ได้จากการวิเคราะห์หาคำนวณหาอัตราส่วนของบีโอดีต่อซีโอดี (BOD_5/COD) พบว่าหลังผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระอัตราส่วนของบีโอดีต่อซีโอดีเพิ่มขึ้นทั้งน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดใดๆ ก่อนการใช้เอนไซม์อิสระและน้ำเสียที่ผ่านการทิ้ง

ให้ตกตะกอนก่อนแล้วใช้เอนไซม์อิสระ ซึ่งเพิ่มขึ้นเป็น 0.49 และ 0.57 ตามลำดับ ส่วนอัตราส่วน บีโอดีต่อซีโอดีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปมีค่า อัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดีเพิ่มขึ้นจากน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ไม่ผ่านการบำบัดใดๆ เล็กน้อย โดยเพิ่มขึ้นจาก 0.46 เป็น 0.49 การเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดีนี้หมายถึงการ เพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ เนื่องจากการใช้เอนไซม์ช่วยลดปริมาณน้ำมันและ ไขมัน ซึ่งย่อยสลายได้ช้าตามธรรมชาติและเป็นตัวการที่นำให้น้ำเสียย่อยสลายได้ยากทางชีวภาพ ส่วนน้ำเสียที่ผ่านการทิ้งให้ตกตะกอนแล้วใช้เอนไซม์ตรึงรูปบำบัดอีกครั้ง พบว่าอัตราส่วนบีโอดี ต่อซีโอดีเพิ่มขึ้นมากจากน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ไม่ผ่านการบำบัดใดๆ โดยเพิ่มขึ้นจาก 0.46 เป็น 0.55 จะเห็นว่าน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดหลายขั้นตอนสามารถเพิ่มความสามารถในการย่อย สลายทางชีวภาพ เนื่องจากการทิ้งให้ตกตะกอนก็เป็นการช่วยลดน้ำมันที่อยู่ในตะกอนออกไปได้ บางส่วนแล้วเมื่อนำมาบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป น้ำมันและไขมันก็จะถูกย่อยเพิ่มขึ้นส่งผลให้ ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการใช้เอนไซม์อิสระสามารถ เพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพได้มากกว่าเพราะเอนไซม์อิสระลดน้ำมันและ ไขมัน ได้มากกว่าเอนไซม์ตรึงรูป แต่เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

3.5.2 ผลการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้นน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

หลังการใช้เอนไซม์อิสระบำบัดน้ำเสียไบโอดีเซลเบื้องต้น พบว่า น้ำเสียจากการ ผลิตไบโอดีเซลมีลักษณะขุ่นขึ้นเล็กน้อย เมื่อตรวจวิเคราะห์ทางเคมีพบว่ามีความเข้มข้นซีโอดีทั้งหมด 54,667 mg/l น้ำมันและไขมัน 5,465 mg/l ของแข็งทั้งหมด 135,080 mg/l ซึ่งการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ สามารถกำจัดสารอินทรีย์ในรูปซีโอดีทั้งหมดได้ 66.12 % กำจัดน้ำมันและไขมันได้ 68.12 % ดัง แสดงในตารางที่ 3-9 และพบว่าหลังผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระปริมาณซีโอดีละลายน้ำ ปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายเพิ่มขึ้น 13.58 % และ 27.49 % ตามลำดับ ส่วนน้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่าน การบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปมีปริมาณซีโอดีทั้งหมด 61,000 mg/l น้ำมันและไขมัน 5,958 mg/l ของแข็งทั้งหมด 126,225 mg/l ซึ่งการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปสามารถลดซีโอดีทั้งหมด 62.19 % ลดน้ำมันและไขมัน 65.24 % ดังแสดงในตารางที่ 3-9 นอกจากนี้หลังการย่อยด้วยเอนไซม์ตรึงรูป ปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายและปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้น 16.12 % และ 11.22 % ตามลำดับ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระและปริมาณซีโอดีละลายน้ำเป็นผลมาจากการย่อยน้ำมันและ ไขมันในน้ำเสียโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ไลเปสให้กลายเป็นกรดไขมันและ กลีเซอรอล ทั้งนี้กรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นสามารถถูกออกซิไดซ์ด้วยออกซิเจนเป็นกรดไขมันที่มี โมเลกุลขนาดเล็กและระเหยได้ง่าย ซึ่งส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันระเหยง่าย (VFA) เพิ่มขึ้น ซึ่ง น่าจะเป็นผลดีต่อการผลิตก๊าซชีวภาพเนื่องจากจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ง่ายและเปลี่ยนเป็น

มีเทนได้เร็วขึ้น แต่หากมีมากเกินไปก็สามารถยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ได้ โดยระบบที่ทำงานปกติจะมีค่าความเข้มข้นกรดระเหยง่ายไม่เกิน 2,000 mg/l แต่ถ้าปริมาณความเข้มข้นมีมากถึง 8,000-10,000 mg/l จะทำให้เป็นอันตรายต่อระบบโดยตรง นอกจากนี้ปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งแขวนลอยก็เพิ่มขึ้นด้วยเพราะมาจากกลีเซอรอลที่เพิ่มขึ้นหลังการข่อยน้ำมันและเป็นเพราะการเติมกรดเพื่อปรับพีเอชน้ำเสียให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์มีผลทำให้เสถียรภาพของอิมัลชันถูกทำลาย ซึ่งสัมพันธ์กับค่าพีเอช คือ เมื่อปรับพีเอชให้ต่ำกว่า 4 จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นหยดน้ำมันและลอยขึ้นสู่ผิวน้ำ (Fujita *et al.*, 2007) แต่ในการปรับพีเอชเพื่อให้มีสภาวะที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ มีการปรับพีเอชเป็น 8 สถานะของอิมัลชันมีการเปลี่ยนแปลงเป็นโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ขึ้นยังไม่เกิดการรวมตัวกันเป็นหยดน้ำมัน ส่งผลให้ของแข็งแขวนลอยเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 3-9 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป

พารามิเตอร์	ค่าจากการวิเคราะห์				
	น้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัด	น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ	% การเพิ่มขึ้น ลดลง	น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป	% การเพิ่มขึ้น ลดลง
pH	12.00±0.15	6.98±0.04	-	7.18±0.11	-
TCOD	161,333±3,265.99	54,667± 2,309.40	- 66.12	61,000±1,414.21	- 62.19
SCOD	43,500±3,563.71	50,333±2,081.67	+13.58	49,000±2,228.43	+ 11.22
TS	110,980 ±84.85	135,080±6,731.66	+ 17.84	126,225±5,267.95	+ 12.08
SS	39,890±42.43	45,410± 325.27	+ 12.16	43,110± 127.28	+ 9.27
O&G	17,140±4.00	5,465±169.71	- 68.12	5,958±10.61	- 65.24
BOD	46,500±20	24,500± 707.11	- 47.31	25,850± 1,767.77	- 44.41
Alkalinity	6,159±12.02	3,450±106.07	- 43.98	3,660±339.41	- 40.57
VFA	952±8.84	1,313±53.03	+ 27.49	1,135±91.92	+ 16.12

หมายเหตุ: ทุกพารามิเตอร์มีหน่วยเป็น mg/l ยกเว้น pH

แต่อย่างไรก็ตามหลังผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปปริมาณซีโอดี บีโอดี น้ำมันและไขมัน รวมทั้งปริมาณของแข็งยังคงมีค่าสูงมาก ผู้ศึกษาจึงสังเกตเห็นถึงความจำเป็นของการปรับสภาพน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลก่อนนำไปบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ และ

เอนไซม์ตรีงรูปเนื่องจากความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันที่มากเกินไปอาจยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบ โดยจากการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้องพบว่าวิธีการปรับพีเอชด้วยกรดมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดน้ำมันและไขมันเพราะการเติมกรดลงไปใต้น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลทำให้โครงสร้างโมเลกุลเกลือของกรดคาร์บอกซิลิกหรือสบู่ที่เกิดจากปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน (Saponification) ระหว่างกรดคาร์บอกซิลิก (Carboxylic acid) กับด่างที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอร์ฟิเคชัน (Trans esterification) เกิดปฏิกิริยาปลดปล่อยกรดคาร์บอกซิลิกหรือกรดไขมันอิสระ (Patterson, 1975; EPAP, 2002; G.P.A., 2009) และรวมตัวกันกลายเป็นหยดน้ำมัน ดังนั้นจึงใช้วิธีนี้ในการปรับสภาพน้ำเสียเบื้องต้นก่อนใช้เอนไซม์ด้วย โดยปรับพีเอชน้ำเสียให้เป็น 3 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 1 นอร์มัล แล้วทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ไขมันและตะกอนไขมันลอยขึ้นเหนือผิวน้ำ จากนั้นตักออกและเอาเฉพาะน้ำส่วนใสด้านล่างไปบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรีงรูป

เมื่อนำน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยกรดไฮโดรคลอริกให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 3 แล้วแยกตะกอนไขมันออกมาบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรีงรูปพบว่า มีค่าซีโอดีทั้งหมด 15,500 mg/l และ 17,000 mg/l น้ำมันและไขมัน 356 mg/l และ 470 mg/l ของแข็งทั้งหมด 16,040 mg/l และ 14,485 mg/l ซึ่งการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรีงรูปน้ำเสียที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดสามารถกำจัดสารอินทรีย์ในรูปซีโอดีทั้งหมด 46.95 % และ 37.80 % กำจัดปริมาณน้ำมันและไขมัน 56.05 % และ 41.98 % ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3-10 นอกจากนี้หลังผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรีงรูปปริมาณซีโอดีละลายน้ำเพิ่มขึ้น 15.20 % และ 12.12 % ปริมาณกรดไขมันระเหยง่ายเพิ่มขึ้น 25.95 % และ 23.73 % ตามลำดับ ซึ่งเป็นผลมาจากผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ละลายอยู่ในน้ำ อีกทั้งของแข็งแขวนลอยก็เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดก่อนใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรีงรูป นอกจากนี้ปริมาณกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นสามารถถูกออกซิไดซ์ด้วยออกซิเจนเป็นกรดไขมันที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและระเหยได้ง่าย ซึ่งส่งผลให้ปริมาณกรดไขมันระเหยง่าย (VFA) เพิ่มขึ้นด้วย

ตารางที่ 3-10 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอช ด้วยกรดไฮโดรคลอริกแล้วบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป

พารามิเตอร์	ค่าจากการวิเคราะห์				
	น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยกรด	น้ำเสียที่ปรับพีเอชด้วยกรด+เอนไซม์อิสระ	% การเพิ่มขึ้น ลดลง	น้ำเสียที่ปรับพีเอชด้วยกรด+เอนไซม์ตรึง	% การเพิ่มขึ้น ลดลง
pH	3	6.41±0.01	-	7.68±0.07	-
TCOD	27,333±8,164.97	15,500±1,914.85	- 46.95	17,000±2,828.43	- 37.80
SCOD	12,083.33±1,675.82	14,250±1,060.66	+ 15.20	13,750±1,060.66	+12.12
TS	12,170±466.69	16,040±56.57	+ 24.13	14,485±685.89	+15.98
SS	400±20	570±84.85	+ 29.82	530±28.28	+24.53
O&G	810±5	356±31.82	- 56.05	470±14.14	- 41.98
BOD	15,500±707.11	10,800±353.55	- 33.87	11,525±530.33	- 25.65
Alkalinity	ไม่มีสภาพต่าง	265±21.21	-	125±35.36	-
VFA	1,350±70.71	1,823±31.82	+ 25.95	1,770±42.43	+23.73

หมายเหตุ: ทุกพารามิเตอร์มีหน่วยเป็น mg/l ยกเว้น pH

เมื่อนำผลการศึกษามาเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระให้ประสิทธิภาพลดซีโอดีทั้งหมดได้สูงกว่างานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ซึ่งในการศึกษานี้สามารถลดซีโอดีทั้งหมดได้ 66.12 % โดยที่งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสามารถลดซีโอดีทั้งหมดได้เพียง 48 % และ 45 % สำหรับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2007) และงานวิจัยของ Abrunhusa และคณะ (2013) ตามลำดับ ส่วนน้ำมันและไขมัน ประสิทธิภาพการลดลงใกล้เคียงกัน คือ สามารถลดน้ำมันและไขมันได้ 68.12 % ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2007) ที่ปริมาณน้ำมันและไขมันลดลง 65 % ส่วนน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดก่อนใช้เอนไซม์อิสระบำบัดเบื้องต้นสามารถลดซีโอดีทั้งหมดได้ใกล้เคียงกันกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทั้งสองงานวิจัย คือ สามารถลดซีโอดีทั้งหมด 46.95 % แต่น้ำมันและไขมันลดลงน้อยกว่า โดยลดลงเพียง 56.05 % เนื่องจากหลังการปรับพีเอช น้ำมันและไขมันถูกกำจัดออกไปค่อนข้างสูงทำให้ปริมาณน้ำมันและไขมันเหลือน้อยมากโดยที่เอนไซม์อิสระยังคงมีปริมาณเท่าเดิมและเป็นเพราะการใช้เอนไซม์ที่ผลิตมาจากแหล่งผลิตที่

แตกต่างกัน ใช้น้ำเสียต่างชนิดกัน และใช้สภาวะในการทำปฏิกิริยาที่แตกต่างกันซึ่งเป็นผลมาจากการใช้เอนไซม์ต่างกัน และเมื่อนำผลการศึกษาน้ำเสียทั้งชนิดที่ไม่ปรับพีเอชด้วยกรดก่อนใช้เอนไซม์ตรึงรูปและชนิดที่ปรับพีเอชด้วยกรดก่อนใช้เอนไซม์ตรึงรูปมาเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง พบว่า น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปเพียงอย่างเดียวสามารถลดปริมาณซีไอดีทั้งหมดได้สูงกว่างานวิจัยที่นำมาเปรียบเทียบ ซึ่งสามารถลดปริมาณซีไอดีทั้งหมดได้ 62.19 % โดยงานวิจัยที่เกี่ยวข้องลดปริมาณซีไอดีได้เพียง 45 และ 32 % สำหรับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2007) และงานวิจัยของ Kanmani และคณะ (2015) ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากน้ำเสียที่นำมาใช้ในการศึกษานี้มีปริมาณน้ำมันและไขมันสูงกว่ามาก ซึ่งเป็นสารอินทรีย์หลักในน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล เมื่อย่อยน้ำมันและไขมันได้สูงปริมาณซีไอดีทั้งหมดก็ลดลงได้สูงด้วย ส่วนการลดลงของปริมาณน้ำมันและไขมันมีความใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Jeganathan และคณะ (2007) ที่สามารถลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 62 % และในงานวิจัยนี้ลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 65.24 % ส่วนน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดก่อนแล้วใช้เอนไซม์ตรึงรูปบำบัดอีกครั้ง พบว่า สามารถลดปริมาณซีไอดีทั้งหมดได้ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Kanmani และคณะ (2015) ที่ลดปริมาณซีไอดีทั้งหมดได้ 32% โดยในงานวิจัยนี้ลดปริมาณซีไอดีทั้งหมดได้ 37.80 % ส่วนการลดลงของปริมาณน้ำมันและไขมันพบว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดก่อนแล้วใช้เอนไซม์ตรึงรูปบำบัดอีกครั้งสามารถลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 41.98 % ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Nilesh และ Mukhopadhyay (2012) ที่ลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 48 % จะเห็นว่าการใช้น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลโดยไม่ผ่านการปรับพีเอชสามารถลดปริมาณซีไอดี น้ำมันและไขมันได้มากกว่าน้ำเสียที่ผ่านการปรับพีเอช เนื่องจากในการปรับพีเอชด้วยกรดมีการแยกน้ำมันและตะกอนไขมันออกไปเกือบจะหมด ทำให้เมื่อใช้เอนไซม์ตรึงรูปบำบัดอีกครั้งความสามารถในการลดปริมาณน้ำมันและไขมัน รวมทั้งซีไอดีได้น้อยกว่าน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดด้วยวิธีการใดๆ มาก่อน

เมื่อนำผลซีไอดีและบีไอดี (BOD_5/COD) ที่ได้จากการวิเคราะห์มาคำนวณหาอัตราส่วนบีไอดีต่อซีไอดี (BOD_5/COD) พบว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระมีค่าอัตราส่วนบีไอดีต่อซีไอดีเพิ่มขึ้นมากกว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ไม่ผ่านการบำบัดใดๆ ซึ่งมีค่า 0.45 โดยที่อัตราส่วนบีไอดีต่อซีไอดีของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ไม่ผ่านการบำบัดใดๆ มีค่า 0.29 แสดงให้เห็นว่าการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระสามารถเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพได้ โดยเพิ่มจากช่วงที่ย่อยสลายได้ยากทางชีวภาพเป็นย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่ต้องการจุลินทรีย์มากขึ้น ส่วนน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดก่อนแล้วใช้เอนไซม์อิสระบำบัดอีกครั้ง พบว่า

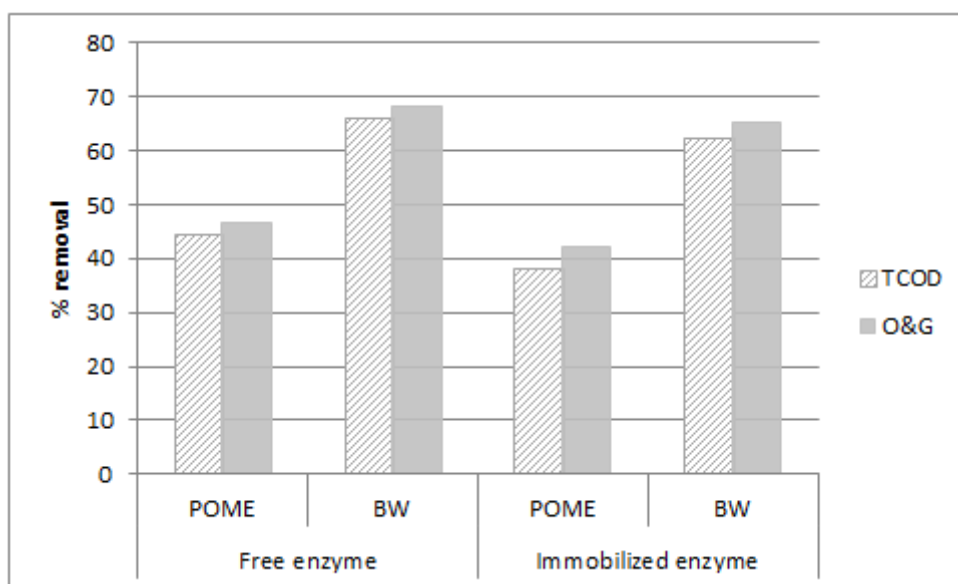
อัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดีมีค่า 0.70 ซึ่งเพิ่มขึ้นสูงมากเมื่อเทียบกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดใดๆ และเพิ่มขึ้นจากน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระเพียงอย่างเดียวสูงเช่นกัน จะเห็นว่าการปรับพีเอชด้วยกรดแล้วใช้เอนไซม์อิสระบำบัดต่ออีกครั้งทำให้ความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพเพิ่มขึ้นมากกว่าการใช้เอนไซม์อิสระเพียงอย่างเดียว เนื่องจากการปรับพีเอชด้วยกรดปริมาณน้ำมันและไขมันถูกกำจัดออกไปสูงมาก ซึ่งเป็นผลดีต่อการย่อยสลายทางชีวภาพเพราะโดยธรรมชาติไขมันและไขมันย่อยสลายได้ช้ามากส่งผลให้น้ำเสียมีความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพได้ยาก ส่วนอัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดีของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปเพียงอย่างเดียวมีค่าอัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดี 0.45 ซึ่งเพิ่มขึ้นจากน้ำเสียดิบที่ไม่ผ่านการบำบัด โดยเพิ่มจากช่วงที่ย่อยสลายได้ยากทางชีวภาพมาอยู่ในช่วงที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ แต่ต้องการต้องการปริมาณจุลินทรีย์ที่มากขึ้น แสดงให้เห็นว่าการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ตรึงรูปช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพ ส่วนน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ปรับพีเอชด้วยกรดก่อนแล้วใช้เอนไซม์ตรึงรูปบำบัดอีกครั้ง พบว่าอัตราส่วนบีโอดีต่อซีโอดี 0.68 เพิ่มขึ้นจากน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป โดยเพิ่มจากช่วงที่ย่อยสลายได้ยากทางชีวภาพมาอยู่ในช่วงที่ย่อยสลายได้ง่ายทางชีวภาพ

3.5.3 ความแตกต่างของผลการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลเบื้องต้น

การใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นให้ผลการศึกษาที่แตกต่างกัน โดยเอนไซม์อิสระให้ประสิทธิภาพในการบำบัดมากกว่าเอนไซม์ตรึงรูป เพราะเอนไซม์ตรึงรูปเกิดการสูญเสียกิจกรรมเอนไซม์ในขั้นตอนการตรึง แสดงในภาพที่ 3-12 แต่อย่างไรก็ตามเอนไซม์อิสระให้ประสิทธิภาพการบำบัดมากกว่าเอนไซม์ตรึงเพียงเล็กน้อย ซึ่งเป็นผลมาจากกิจกรรมเอนไซม์ที่ลดลงเล็กน้อยหลังการตรึง ทำให้ประสิทธิภาพการบำบัดต่างกันเพียงเล็กน้อย เพราะการทำงานของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับกิจกรรมของเอนไซม์

เมื่อพิจารณาถึงความคุ้มค่าในการประยุกต์ใช้ การใช้เอนไซม์ตรึงรูปมีความคุ้มค่ามากกว่า เนื่องจากถ้าใช้เอนไซม์อิสระค่าใช้จ่ายในการบำบัดจะสูงมากเพราะเอนไซม์จะปนอยู่ในน้ำเสีย ไม่สามารถแยกออกมาได้หลังการบำบัด เมื่อจะบำบัดน้ำเสียรอบใหม่ต้องเติมเอนไซม์ลงไปใหม่ ซึ่งเอนไซม์มีราคาแพง ทำให้ค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูง แต่หากใช้เอนไซม์ตรึงรูปสามารถแยกเอนไซม์ที่ตรึงออกมาใช้ใหม่ได้ซึ่งสามารถลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดได้ ดังนั้นการประยุกต์ใช้เอนไซม์ตรึงรูปน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีปริมาณน้ำมันและไขมันสูง

นอกจากนี้ จะเห็นว่าการใช้เอนไซม์บำบัดน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลเบื้องต้น ให้ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี น้ำมันและไขมันมากกว่าน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ซึ่ง ให้ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีแตกต่างกัน 32.61 % และ 38.83 % ให้ประสิทธิภาพการบำบัด น้ำมันและไขมันแตกต่างกัน 31.44 % และ 35.19 % สำหรับการใช้น้ำมันและไขมันตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลเหมาะกับการใช้เอนไซม์บำบัดมากกว่า น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเพราะปริมาณน้ำมันและไขมัน รวมทั้งปริมาณซีโอดีทั้งหมดถูก กำจัดได้มากกว่า



ภาพที่ 3-12 ความแตกต่างของผลการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดน้ำเสียโรงงาน สกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลเบื้องต้น

3.6 ผลของการใช้เอนไซม์บำบัดน้ำเสียเบื้องต้นต่อการย่อยสลายทางชีวภาพและผลผลิตก๊าซชีวภาพ

การย่อยในระบบไร้อากาศเป็นการบำบัดที่น่าสนใจและมีการใช้กันแพร่หลาย สำหรับ บำบัดน้ำเสียที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูง เพราะจะได้ผลพลอยได้เป็นก๊าซชีวภาพ (Biogas) แต่การ ย่อยในระบบไร้อากาศที่ใช้น้ำเสียที่มีปริมาณน้ำมันและไขมันสูงค่อนข้างทำได้ยากเนื่องจากน้ำมัน และไขมันในน้ำเสียย่อยสลายทางชีวภาพตามธรรมชาติได้ช้า (Kundo and Mishra, 2013) ตะกอน ไขมันจะลอยเป็นฟองหรือเป็นคราบติดที่ผิวของถังปฏิกรณ์ นอกจากนี้สารมัธยันตร์ (Intermediate compounds) คือ กรดไขมันอิสระสายโซ่ยาวที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันและไขมันที่มาก

เกินไปเป็นพิษหรือยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบหมักไร้อากาศ (Gembert *et al.*, 1999; Jung *et al.*, 2002 อ้างโดย Cherif *et al.*, 2014; Vidal *et al.*, 2000) ดังนั้นการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียเบื้องต้นเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอลก่อนเข้าระบบหมักไร้อากาศน่าจะกระตุ้นกิจกรรมของจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ใช้อากาศและทำให้การย่อยและกระบวนการย่อยแบบไม่ใช้อากาศเกิดเร็วขึ้น (Cherif *et al.*, 2014) และปรับปรุงการย่อยสลายน้ำมันและไขมันทางชีวภาพในน้ำเสีย (Biodegradable) ช่วยเร่งการบำบัดและลดเวลาในการบำบัด (Qamsari *et al.*, 2012) ซึ่งในการศึกษาผลของการใช้เอนไซม์บำบัดน้ำเสียเบื้องต้นที่มีต่อการย่อยสลายทางชีวภาพและการผลิตก๊าซชีวภาพ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาว่าการใช้เอนไซม์บำบัดน้ำมันและไขมันเบื้องต้นก่อนเข้าระบบหมักไร้อากาศสามารถทำให้กระบวนการย่อยแบบไม่ใช้อากาศเกิดได้เร็วขึ้นหรือไม่ สามารถเพิ่มปริมาณก๊าซมีเทนได้หรือไม่และสามารถลดระยะเวลาในการบำบัดได้หรือไม่

การศึกษาคำเนินการหมักแบบกะ (Batch) ใช้ปริมาตรการหมัก 0.5 ลิตร หมักภายใต้ อุณหภูมิ 35 °C กวนผสมโดยการเขย่า 150 รอบต่อนาที วันละ 1 ครั้ง ทำการวัดปริมาณก๊าซชีวภาพที่เกิดขึ้นทุกวันโดยใช้หลักการแทนที่น้ำ (Fluid displacement method) วัดองค์ประกอบก๊าซชีวภาพด้วย Gas Chromatography และวิเคราะห์ลักษณะน้ำเสียหลังผ่านการบำบัด ซึ่งในส่วนของการศึกษา นี้ทำการศึกษาน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยวิธีการต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งรายละเอียดผลการศึกษามีดังต่อไปนี้

3.6.1 น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ในส่วนของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม มีการศึกษาน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปโดยตรงและน้ำเสียที่ทิ้งให้ตกตะกอนก่อนแล้วใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดอีกครั้ง ทั้งนี้ก่อนการศึกษาค้นคว้าผลของการใช้เอนไซม์อิสระ จำเป็นต้องมีการหาอัตราส่วนของน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการหมักก่อน ซึ่งในการศึกษานี้ใช้อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ 480:20, 450:50, 400:100, 350:150, 300:200, 250:250 และ 200:300 โดยปริมาตรซึ่งจากการศึกษาพบว่าอัตราส่วนของการหมักที่เหมาะสมที่สุดสำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม คือ อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ 350:150 โดยปริมาตร ซึ่งให้ปริมาณมีเทนสูงสุด โดยให้ปริมาณมีเทนสะสม 1,549.29 ml ทั้งนี้สามารถกำจัดปริมาณชีโอดีทั้งหมดได้ 39.37 % กำจัดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 31.21 % โดยประสิทธิภาพการบำบัดอื่นๆ แสดงในภาคผนวก ก ดังนั้นจึงเลือกใช้อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ 350:150 โดยปริมาตร ในการศึกษาการผลิตมีเทนแบบกะที่ใช้ น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ทิ้งให้ตกตะกอน น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ใช้เอนไซม์และน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ทิ้งตกตะกอนและใช้เอนไซม์บำบัดอีกครั้งด้วย

เมื่อนำน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมาทิ้งให้ตกตะกอนแล้วแยกตะกอนออกมาหมักในระบบไร้อากาศตามอัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากการศึกษาพบว่า การบำบัดด้วยการทิ้งให้ตกตะกอนให้ปริมาณมีเทนใกล้เคียงกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดใดๆ ซึ่งให้ผลผลิตมีเทนสะสม 1,249.26 ml โดยกำจัดปริมาณซีโอดีทั้งหมดได้ 42.40 % กำจัดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 40.44 % เมื่อนำน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระมาหมักในระบบไร้อากาศพบว่าให้ผลผลิตมีเทนสะสม 2,525.42 ml สามารถกำจัดปริมาณซีโอดีทั้งหมดได้ 50.94 % กำจัดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 61.31 % ส่วนน้ำเสียที่ผ่านการทิ้งให้ตกตะกอนแล้วนำเฉพาะน้ำส่วนบนมาบำบัดต่อด้วยเอนไซม์อิสระให้ผลผลิตมีเทน 1,746.54 ml สามารถกำจัดปริมาณซีโอดีทั้งหมดได้ 52.68 % และกำจัดน้ำมันและไขมันได้ 66.51 % และเมื่อนำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปมาหมักในระบบไร้อากาศพบว่าให้ผลผลิตมีเทน 2,253.21 ml และ 1,469.80 ml สำหรับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปและน้ำเสียที่ทิ้งให้ตกตะกอนก่อนแล้วบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป ตามลำดับ โดยสามารถกำจัดปริมาณซีโอดีได้ 47.85 และ 49.14% และสามารถกำจัดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 54.74 และ 58.09 % ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 3-11 ส่วนปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนแสดงในภาคผนวก ก

ตารางที่ 3-11 ปริมาณมีเทนสะสมและความสามารถในการกำจัดซีโอดี น้ำมันและไขมันของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยวิธีการต่างๆ

น้ำเสีย	ปริมาณมีเทนสะสม (ml)	ปริมาณ COD ที่ถูกกำจัด (%)	ปริมาณ O&G ที่ถูกกำจัด (%)
น้ำเสียโรงงานน้ำมันปาล์ม	1,549.29	39.37	31.21
น้ำเสียโรงงานน้ำมันปาล์มทิ้งตกตะกอน	1,249.26	42.40	40.44
น้ำเสียโรงงานน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ	2,525.42	50.94	61.31
น้ำเสียโรงงานน้ำมันปาล์มทิ้งตกตะกอนแล้วบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ	1,746.54	52.68	66.51
น้ำเสียโรงงานน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป	2,253.21	47.85	54.74
น้ำเสียโรงงานน้ำมันปาล์มทิ้งตกตะกอนแล้วบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป	1,508.42	49.14	58.09

จากตารางที่ 3-11 จะเห็นว่าการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้นสามารถทำให้ปริมาณมีเทนเพิ่มขึ้น ซึ่งเพิ่มขึ้น 38.65 % และ 31.24 % ตามลำดับ ส่วนน้ำเสียที่ทิ้งตกตะกอนก่อนใช้เอนไซม์ผลิตมีเทนเพิ่มขึ้น 28.47 % และ 17.18 % สำหรับเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึง ตามลำดับ เนื่องจากเอนไซม์ไปช่วยย่อยน้ำมันและไขมันที่เป็นสารโมเลกุลใหญ่ให้กลายเป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ง่ายขึ้นและมีผลต่อการเพิ่มก๊าซมีเทนเพราะการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระจะทำให้ปริมาณมีเทนเพิ่มขึ้น แต่ควรระวังอย่าให้ปริมาณกรดไขมันอิสระมากเกินไปเพราะจะเป็นอันตรายต่อจุลินทรีย์ในระบบได้ ต้องเฝ้าระวังอย่าให้ค่าสภาพความเป็นด่าง (Alkalinity) ดำเกินไป ควรอยู่ในช่วง 1,000-5,000 mg/l as CaCO₃ เพราะสภาพความเป็นด่างทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ในการควบคุมความเป็นกรด-ด่างของระบบไร้อากาศ โดยทั่วไประบบไร้อากาศควรมีสภาพความเป็นด่างอยู่ในช่วง ควรอยู่ในช่วง 1,000-5,000 mg/l as CaCO₃ (Metcalf and Eddy, 1991) ซึ่งในการศึกษาพบว่าค่าสภาพด่างมีค่า 1,090 mg/l CaCO₃ และ 1,235 mg/l CaCO₃ สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมกับระบบหมักไร้อากาศ นอกจากนี้การใช้เอนไซม์อิสระสามารถเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพได้โดยเฉพาะความสามารถในการย่อยน้ำมันและไขมัน แต่อย่างไรก็ตามการทิ้งให้น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มตกตะกอนก่อนแล้วแยกตะกอนออกก่อนการใช้เอนไซม์อิสระบำบัดสามารถให้ผลิตมีเทนได้มากกว่าการใช้บำบัดด้วยเอนไซม์อิสระเพียงอย่างเดียว เนื่องจากตะกอนที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มก็มีปริมาณน้ำมันและไขมันปนเปื้อนอยู่ด้วย คงยากที่เอนไซม์จะเข้าไปทำปฏิกิริยากับภายในก้อนไขมันได้และปริมาณน้ำมันและไขมันจึงสูงกว่าเป็นไปได้น้ำมันและไขมันมีปริมาณมากเกินไปจึงยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เพราะความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันที่มากเกินไปมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปยังทำให้ระยะเวลาการหมักลดลงด้วย โดยลดลงจาก 22 วัน เหลือ 18 วัน สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระเมื่อเทียบกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัด และลดลงจาก 18 วัน เหลือ 15 วัน สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการทิ้งให้ตกตะกอนก่อนแล้วใช้เอนไซม์อิสระบำบัด เมื่อเทียบกับน้ำเสียที่ทิ้งให้ตกตะกอนเพียงอย่างเดียว ส่วนการใช้เอนไซม์ตรึงรูประยะเวลาการหมักลดลงจาก 22 วัน เป็น 20 วัน และลดลงจาก 18 วัน เป็น 16 วัน สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปและน้ำเสียที่ทิ้งให้ตกตะกอนแล้วใช้เอนไซม์บำบัด เมื่อเทียบกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดใดๆ และเทียบกับน้ำเสียที่ทิ้งให้ตกตะกอนเพียงอย่างเดียว ตามลำดับ ทั้งนี้การลดลงของระยะเวลาการหมักสอดคล้องกับงานวิจัยของ Qamsari และคณะ (2012) ที่พบว่าการใช้เอนไซม์บำบัดก่อนเข้าสู่ระบบไร้อากาศ

อากาศทำให้ระยะเวลาหมักลดลง ทั้งนี้ระยะเวลาการหมักลดลงเพราะกรดไขมันอิสระที่มีอยู่สูงถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมันระเหยง่ายและเปลี่ยนเป็นมีเทนได้เร็วขึ้น ทำให้ระยะเวลาการหมักลดลง แต่อย่างไรก็ตามการใช้เอนไซม์ตรีงรูประยะเวลาการหมักลดลงน้อยกว่าการใช้เอนไซม์อิสระ เนื่องจากเมื่อบำบัดเบื้องต้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (สภาวะที่ได้จากการศึกษา) เอนไซม์ตรีงรูปก็จะถูกแยกออกมา ซึ่งสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ แต่เอนไซม์อิสระไม่สามารถแยกออกมาได้และปนอยู่ในน้ำเสียทำให้เอนไซม์ทำงานต่อได้อีก ส่งผลให้ย่อยสลายน้ำมันและไขมันได้เพิ่มขึ้น ทำให้การย่อยสลายทางชีวภาพเร็วขึ้นอีกและเป็นสาเหตุให้ผลผลิตมีเทนเพิ่มขึ้นด้วย

เมื่อนำผลการศึกษามาเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่มีลักษณะการศึกษาใกล้เคียงกัน พบว่าการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรีงรูปบำบัดน้ำเสียก่อนเข้าระบบหมักไร้อากาศเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพให้ผลการศึกษาในเชิงบวกต่อการย่อยสลายน้ำมันและไขมันและประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี รวมทั้งสามารถเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพเหมือนกัน แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการเพิ่มศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพและประสิทธิภาพในการลดปริมาณซีโอดี น้ำมันและไขมันมีความแตกต่างกันบ้างเนื่องจากความแตกต่างของเอนไซม์ ทั้งความเข้มข้น กิจกรรมเอนไซม์ที่ต่างกัน แหล่งที่มาของเอนไซม์ ความแตกต่างของน้ำเสีย แหล่งที่มาของน้ำเสีย ลักษณะของน้ำเสีย ระยะเวลาในการใช้เอนไซม์บำบัดเบื้องต้นและสภาวะในการหมักแบบไร้อากาศ ซึ่งงานวิจัยของ Mendes และคณะ (2010) ลดซีโอดีได้ 69.1 % ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 403 ml โดยที่น้ำเสียที่ไม่บำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ลดซีโอดีได้ 38.2 % ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 209 ml งานวิจัยของ Qamsari และคณะ (2012) ลดซีโอดีได้ 90 % ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 4,710 ml โดยที่น้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดปริมาณซีโอดีลดลงเพียง 66 % และให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 2,330 ml งานวิจัยของ Cherif และคณะ (2014) ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 800-900 ml งานวิจัยของ Dominguez และคณะ (2015) ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 417.9 ml และ Meng และคณะ (2015) ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 500.1 ml / g VS_{added} ซึ่งสาเหตุของการเพิ่มขึ้นของปริมาณก๊าซชีวภาพอาจเป็นเพราะน้ำมันและไขมันในน้ำเสียถูกย่อยเป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลได้มากขึ้น โดยเฉพาะกรดไขมันอิสระสายโซ่ยาวที่เป็นสารมัธยันตร์หลัก ซึ่งกรดไขมันและกลีเซอรอลจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก (Acetic acid) และก๊าซไฮโดรเจนโดยแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรด (Acetogenic bacteria) และสุดท้ายจะเปลี่ยนเป็นมีเทนโดยแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างมีเทน (Methanogenic bacteria) แม้ว่าในส่วนของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยวิธีการต่าง ๆ จะเพิ่มความสามารถในการลดซีโอดี น้ำมันและไขมัน และเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพเหมือนกับงานวิจัยอื่นๆ ที่ศึกษา แต่อย่างไรก็ตามผลผลิตก๊าซชีวภาพที่เพิ่มขึ้นก็ยังไม่ได้เพิ่มขึ้นมากอย่างเป็นนัยเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะน้ำเสียที่ใช้ต่างกันซึ่งในงานที่ศึกษาเป็นน้ำเสียที่มีสภาพเป็นอิมัลชัน โดยส่วนใหญ่ คือ น้ำเสีย

จากอุตสาหกรรมนม หรืออาจเป็นเพราะความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นมากเกินไปมีผลยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบดังที่ได้กล่าวไปแล้ว

3.6.2 น้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล

ในส่วนของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล มีการศึกษาน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์โดยตรง (เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึง) และน้ำเสียที่ปรับพีเอชด้วยกรดก่อนแล้วใช้เอนไซม์ (เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึง) บำบัดอีกครั้ง ทั้งนี้ก่อนการศึกษามีการหาอัตราส่วนของน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการหมักก่อน ซึ่งในการศึกษานี้ใช้อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ 480:20, 450:50, 400:100, 350:150, 300:200, 250:250 และ 200:300 โดยปริมาตร ซึ่งจากการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของการหมักพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดคือ อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ 250:250 โดยปริมาตร สำหรับน้ำเสียที่ปรับพีเอชด้วยกรดโดยให้มีเทนสะสม 606.95 ml ส่วนน้ำเสียที่ปรับพีเอชด้วยกรดก่อนแล้วบำบัดต่อด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป น้ำเสียไบโอดีเซลที่ไม่ผ่านการบำบัดใดๆ และน้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดคือ อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ 200:300 โดยปริมาตร โดยให้มีเทนสะสม 1,835.98 ml, 1,479.94 ml, 35.59 ml, 289.94 ml และ 149.82 ml ตามลำดับ (แสดงในตารางที่ 3-12) ส่วนปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนแสดงในภาคผนวก ก จากการศึกษาจะเห็นว่าการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้นก่อนเข้าระบบไร้อากาศสามารถเพิ่มผลผลิตมีเทนได้หลายเท่าตัวทั้งที่น้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลมีแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอาหารของจุลินทรีย์น้อยมาก เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระที่จะถูกเปลี่ยนกรดระเหยง่าย (VFA) และเป็นกรดอะซิติก (Acetic acid) แล้วเปลี่ยนเป็นมีเทนในที่สุดด้วยกระบวนการ Decarboxylation ซึ่งเป็นกระบวนการเกิดมีเทนจากสับสเตรท (COOH^- ที่เกิดจากการแตกตัวของสนุ่ ซึ่ง จะถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไฮโดรเจนและจะถูกเปลี่ยนเป็นมีเทนในที่สุด) (ภาวิณี ชัยประเสริฐ, 2541) เป็นเพราะลักษณะของน้ำเสียไบโอดีเซลที่มีการปนเปื้อนสนุ่ ซึ่งโครงสร้างโมเลกุลของสนุ่เป็นเกลือโซเดียม (RCOO^-Na^+) เมื่อละลายในน้ำจะแตกตัวเป็นประจุบวก (Na^+) และประจุลบ (RCOO^-) ซึ่งประจุบวกของโซเดียมสามารถกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบทำให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพสูงขึ้น (McCarty, 1964 อ้างโดย เมธิยา หมวดนิม) ส่วนน้ำเสียไบโอดีเซลที่ปรับพีเอชด้วยกรดแม้จะไม่มีสนุ่ปนเปื้อนแต่จะมีกรดคาร์บอกซิลิก (COOH) ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนไปเป็นกรดอะซิติกและมีเทนได้ด้วย อีกทั้งกรดคาร์บอกซิลิกเมื่อทำปฏิกิริยากับด่างที่เติมลงไปเพื่อปรับพีเอชน้ำเสียให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ได้เป็นผลิตภัณฑ์เป็นสนุ่ ซึ่งเมื่อแตกตัวจะเกิด Na^+ ซึ่งไปกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ และเป็นเพราะจุลินทรีย์ใช้แหล่ง

ไนโตรเจนจากก๊าซแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการหมักในระบบไร้อากาศ ซึ่งแอมโมเนียไนโตรเจนมีผลต่อการสร้างก๊าซไฮโดรเจน มีเทน และการลดลงของของแข็งระเหยง่ายในระบบ (Sterling *et al.*, 2001)

จากการศึกษาการเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพพบว่าน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปสามารถเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพได้ โดยลดปริมาณซีโอดี น้ำมันและไขมัน ได้สูงกว่าน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัด ซึ่งลดปริมาณซีโอดี 69.68 % ลดน้ำมันและไขมัน 65.29 % สำหรับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ และลดปริมาณซีโอดี 64.81% ลดน้ำมันและไขมัน 59.01% สำหรับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป โดยที่น้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดลดปริมาณซีโอดีได้ 37.88 % และลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 29.97 % ส่วนน้ำเสียที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปก็ให้ผลการศึกษาในลักษณะเดียวกันคือลดซีโอดี น้ำมันและไขมัน ได้สูงกว่าน้ำเสียที่ปรับพีเอชด้วยกรดเพียงอย่างเดียว โดยลดปริมาณซีโอดี 76.61% ลดน้ำมันและไขมัน 68.74 % สำหรับเอนไซม์อิสระและลดปริมาณซีโอดี 68.99 % ลดน้ำมันและไขมัน 61.19 % โดยที่น้ำเสียที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดเพียงอย่างเดียวลดซีโอดีได้ 47.31 % ลดน้ำมันและไขมันได้ 42.27 % (แสดงในตารางที่ 3-12) ทั้งนี้ประสิทธิภาพการกำจัดพารามิเตอร์อื่นๆ แสดงในภาคผนวก ก

ตารางที่ 3-12 ปริมาณมีเทนสะสมและความสามารถในการกำจัดซีโอดี น้ำมันและไขมันของน้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยวิธีการต่างๆ

น้ำเสีย	ปริมาณมีเทนสะสม (ml)	ปริมาณ COD ที่ถูกกำจัด (%)	ปริมาณ O&G ที่ถูกกำจัด (%)
น้ำเสียไบโอดีเซล	35.59	37.88	29.97
น้ำเสียไบโอดีเซลปรับ pH กับกรด	606.95	47.31	42.27
น้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ	289.94	69.68	65.29
น้ำเสียไบโอดีเซลปรับ pH กับกรดแล้วบำบัดต่อด้วยเอนไซม์อิสระ	1,835.98	76.61	68.74
น้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป	149.82	64.81	59.01
น้ำเสียไบโอดีเซลปรับ pH กับกรดแล้วบำบัดต่อด้วยเอนไซม์ตรึงรูป	1,479.94	68.99	61.19

นอกจากนี้จากการศึกษาจะเห็นว่าน้ำเสียที่ปรับพีเอชด้วยกรดก่อนแล้วจึงใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดอีกครั้งให้ผลผลิตมีเทนสูงกว่าน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปเพียงอย่างเดียวเนื่องจากการปรับพีเอชด้วยกรดเป็นการลดสภาพอิมัลชันในน้ำเสียไบโอดีเซล ทำให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับน้ำมันและไขมันที่เหลื่อจากการแยกน้ำมันที่ลอยขึ้นสู่ผิวน้ำและตะกอนไขมันออกได้ดียิ่งขึ้นเพราะน้ำมันและไขมันที่เหลื่ออยู่ในน้ำเสียเป็นหยดน้ำมันที่มีขนาดเล็กจำนวนมากเอนไซม์จึงทำปฏิกิริยาได้ดีเพราะพื้นที่ผิวสัมผัสเพิ่มขึ้น อีกทั้งความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันน้อยลง ซึ่งความเข้มข้นของปริมาณน้ำมันและไขมันที่สูงทำให้กิจกรรมเอนไซม์ลดลง (Khan *et al.*, 1967; Eitenmiller *et al.*, 1970) ส่งผลให้ย่อยสลายน้ำมันและไขมันได้น้อยลงและอาจเป็นเพราะกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันและไขมันมีมากเกินไปส่งผลให้ยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบหมักไร้อากาศ ทำให้ปริมาณก๊าซชีวภาพเกิดน้อย (Gembert *et al.*, 1999; Jung *et al.*, 2002 อ้างโดย Cherif *et al.*, 2014; Vidal *et al.*, 2000) ดังนั้นจึงทำการศึกษากับน้ำเสียที่ทำการเจือจางในอัตราส่วน 1:6 โดยใช้ น้ำเสีย 100 ml ต่อ น้ำกลั่น 500 ml ปริมาตรรวมเป็น 600 ml หลังจากนั้นจึงใช้เอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้นตามสภาวะที่ได้จากการศึกษาก่อนหน้า ซึ่งผลการศึกษาพบว่าน้ำเสียที่ทำการเจือจางให้ผลผลิตก๊าซมีเทนสูงกว่าน้ำเสียที่ไม่เจือจาง ซึ่งให้ผลผลิตมีเทนสะสม 211.77ml ซึ่งลดปริมาณซีโอดี น้ำมันและไขมันได้ 57.35% และ 64.52 % ตามลำดับ โดยที่น้ำเสียที่ไม่เจือจางให้ผลผลิตมีเทน 149.84 ml ลดปริมาณซีโอดีได้ 64.81 % ลดน้ำมันและไขมันได้ 59.01 % แต่หากพิจารณาถึงการใช้งานการเจือจางน้ำเสียคงทำได้ค่อนข้างยากเพราะน้ำเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตเดิมก็มีปริมาณมากแล้วหากเจือจางอีกคงต้องมีแหล่งรองรับน้ำเสียเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้พบว่าการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้นทำให้ระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นจาก 12 วัน เป็น 15 วัน และเพิ่มขึ้นจาก 10 วัน เป็น 21 วัน สำหรับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและน้ำเสียที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดก่อนใช้เอนไซม์อิสระ เมื่อเทียบกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดและน้ำเสียที่ผ่านปรับพีเอชเพียงอย่างเดียวตามลำดับ และเพิ่มขึ้นจาก 12 วัน เป็น 15 วัน สำหรับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปเมื่อเทียบกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัด สาเหตุอาจมาจากน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลมีสมบัติที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เพราะมีแหล่งไนโตรเจนน้อยมาก อัตราส่วน C/N สูงในโตรเจนถูกใช้หมดอย่างรวดเร็วหรือไม่ถูกนำมาใช้ ทำให้อัตราการเกิดเซลล์แบคทีเรียลดลง ทำให้ระยะเวลาการหมักสั้นและผลผลิตก๊าซชีวภาพลดลง แต่เมื่อผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระจะเกิดกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลมากขึ้น แม้มีไนโตรเจนน้อยก็สามารถเกิดมีเทนได้ด้วยกระบวนการ Decarboxylation และ Na^+ มีผลกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ แต่ถ้ามากเกินไปก็มี

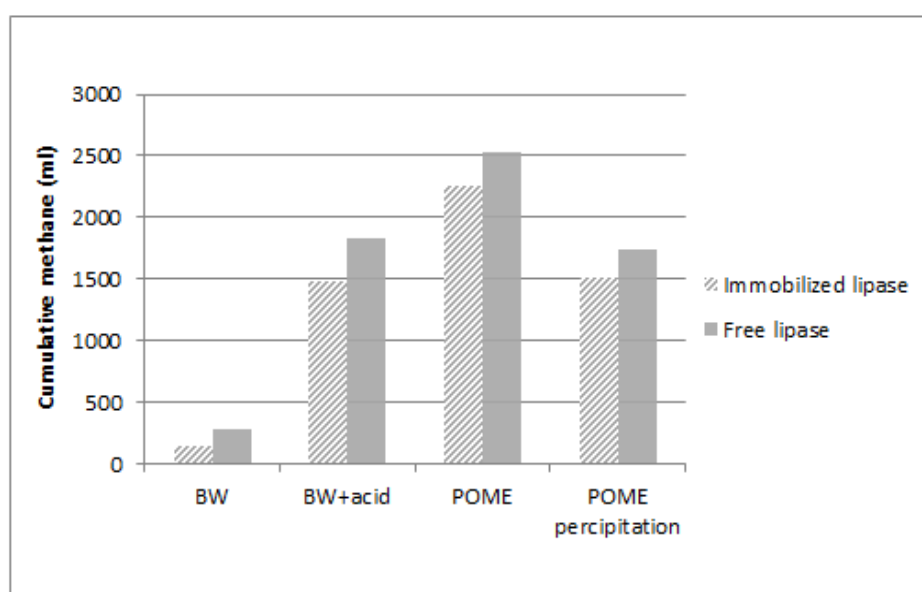
ผลยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์เช่นกัน

เมื่อนำผลการศึกษามาเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่มีลักษณะการศึกษาใกล้เคียงกัน พบว่าการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดน้ำเสียก่อนเข้าระบบหมักไร้อากาศเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพให้ผลการศึกษาในเชิงบวกต่อการย่อยสลายน้ำมันและไขมันและประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี รวมทั้งสามารถเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพเหมือนกัน แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการเพิ่มศักยภาพในการผลิตก๊าซชีวภาพและประสิทธิภาพในการลดปริมาณซีโอดี น้ำมันและไขมันมีความแตกต่างกันบ้างเนื่องจากความแตกต่างของเอนไซม์ ทั้งความเข้มข้น กิจกรรมเอนไซม์ที่ต่างกัน แหล่งที่มาของเอนไซม์ ความแตกต่างของน้ำเสีย แหล่งที่มาของน้ำเสีย ลักษณะของน้ำเสีย ระยะเวลาในการใช้เอนไซม์บำบัดเบื้องต้นและสภาวะในการหมักแบบไร้อากาศ ซึ่งงานวิจัยของ Mendes และคณะ (2010) ลดซีโอดีได้ 69.1 % ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 403 ml โดยที่น้ำเสียที่ไม่บำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์ลดซีโอดีได้ 38.2 % ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 209 ml งานวิจัยของ Qamsari และคณะ (2012) ลดซีโอดีได้ 90 % ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 4,710 ml โดยที่น้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดปริมาณซีโอดีลดลงเพียง 66 % และให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 2,330 ml งานวิจัยของ Cherif และคณะ (2014) ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 800-900 งานวิจัยของ Domingues และคณะ (2015) ให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพ 417.9 ml และ Meng และคณะ (2015) ให้ก๊าซชีวภาพ 500.1 ml / g VS_{added} จะเห็นว่าเมื่อใช้เอนไซม์บำบัดเบื้องต้นก่อนเข้าระบบหมักไร้อากาศสามารถเพิ่มผลผลิตก๊าซชีวภาพได้เป็นเท่าตัวหรือมากกว่า ซึ่งสาเหตุของการเพิ่มขึ้นของปริมาณก๊าซชีวภาพเป็นเพราะน้ำมันและไขมันในน้ำเสียถูกย่อยเป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลมากขึ้น ซึ่งกรดไขมันและกลีเซอรอลจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกและก๊าซไฮโดรเจน โดยแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรด (Acetogenic bacteria) และสุดท้ายจะเปลี่ยนเป็นมีเทน โดยแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างมีเทน (Methanogenic bacteria)

3.6.3 ความแตกต่างของผลการใช้เอนไซม์อิสระกับเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดน้ำเสียต่อการย่อยสลายทางชีวภาพและผลผลิตก๊าซชีวภาพ

ในการศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ทั้งเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปต่อการย่อยสลายทางชีวภาพพบว่าเอนไซม์อิสระมีผลต่อการย่อยสลายทางชีวภาพได้มากกว่าเอนไซม์ตรึงรูป คือ สามารถกำจัดปริมาณสารอินทรีย์ในรูปของซีโอดี น้ำมันและไขมัน ได้สูงกว่าเอนไซม์ตรึงรูปทั้งน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล แต่อย่างไรก็ตามความแตกต่างดังกล่าวไม่ได้แตกต่างกันมากนัก ส่วนผลของการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปต่อการเพิ่มปริมาณก๊าซชีวภาพก็ให้ผลการศึกษเหมือนกันหรือลักษณะเดียวกัน คือ เอนไซม์อิสระให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพสูงกว่าเล็กน้อย แสดงในรูปที่ 3-13 แต่สำหรับน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยกรดแล้วตามด้วยเอนไซม์อิสระพบว่าในช่วงอัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ 480:20,

480:50 และ 480:100 โดยปริมาตร จะให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพน้อยกว่าเอนไซม์ตรึงรูปและน้ำเสียที่ไม่ผ่านการบำบัดด้วยซ้ำ เนื่องจากความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระที่มากเกินไปทำให้เกิดการยับยั้งของจุลินทรีย์ในระบบ และกรดไขมันที่มากเมื่อเปลี่ยนเป็นกรดไขมันระเหยก็ทำให้ปริมาณกรดไขมันระเหยมากด้วยเช่นกัน ซึ่งถ้ากรดไขมันระเหยสูงเกินไปจะทำให้ระบบเสถียรและอาจเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ในระบบ อย่างไรก็ตามหากพิจารณาความคุ้มค่าในการบำบัดการใช้เอนไซม์ตรึงรูปจะคุ้มค่ากว่ามาก เพราะสามารถแยกออกมาใช้ใหม่ได้ ทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายในการบำบัด (รายละเอียดเรื่องความทนทานและการใช้งานซ้ำจะกล่าวในหัวข้อ 3.8)



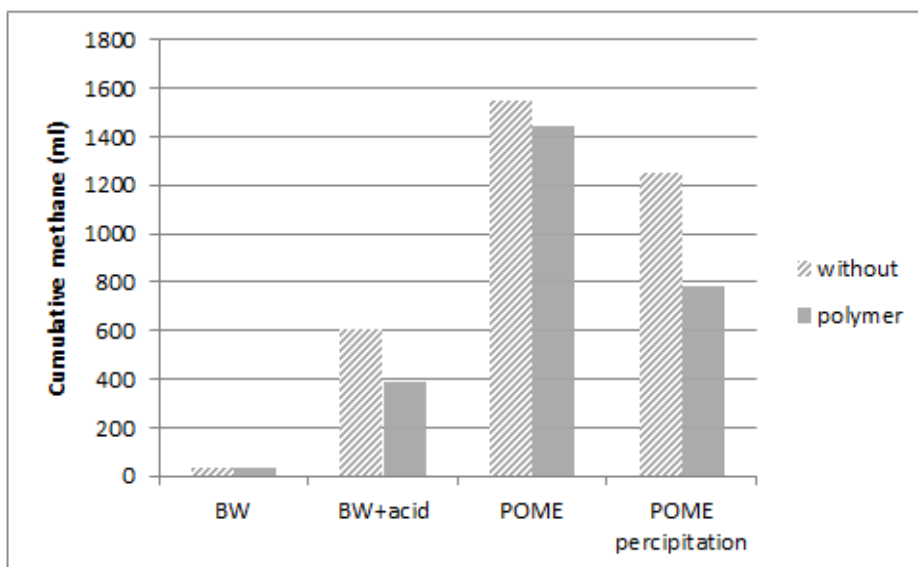
ภาพที่ 3-13 ปริมาณมีเทนสะสม เปรียบเทียบเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป

.....

3.7 ผลการทดสอบสารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์วัสดุตรึงต่อการผลิตก๊าซชีวภาพ

วัสดุในการตรึงเอนไซม์มีหลายชนิด แต่ละชนิดจะเหมาะสมกับวิธีการตรึงที่แตกต่างกัน ซึ่งในการศึกษานี้จะใช้พอลิฟีนิลซัน โฟนเป็นวัสดุในการตรึง โดยตรึงด้วยพันธะโควาเลนต์ ซึ่งการตรึงด้วยวิธีนี้จำเป็นต้องมีการสังเคราะห์วัสดุตรึงให้มีหมู่เอมีนเพื่อไปจับหมู่อะมิโนของเอนไซม์ ทั้งนี้ในการสังเคราะห์วัสดุตรึงมีการใช้สารเคมีหลายชนิดและใช้สารเคมีที่ค่อนข้างทำปฏิกิริยาที่รุนแรง ดังนั้นจึงทำการศึกษาว่าวัสดุตรึงที่ผ่านการสังเคราะห์มีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพหรือไม่ ซึ่งจากการศึกษาที่ดำเนินการโดยให้น้ำเสียสัมผัสกับวัสดุตรึงที่ใช้สภาวะต่างๆ เหมือนกับการใช้เอนไซม์ตรึงรูปบำบัดน้ำเสียเบื้องต้น แล้วนำน้ำเสียดังกล่าวไปทำการหมักในระบบไร้อากาศพบว่าสารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์วัสดุตรึงไม่มีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพสำหรับน้ำเสียจาก

กระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ไม่ผ่านการบำบัด เนื่องจากให้เปอร์เซ็นต์มีเทนและปริมาณก๊าซชีวภาพใกล้เคียงกัน ซึ่งให้ปริมาณมีเทนสะสม 32.30 ml โดยที่น้ำเสียที่ไม่ทดสอบกับวัสดุจริงให้ปริมาณมีเทนสะสม 35.59 ml แต่สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์วัสดุจริงมีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพสำหรับน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยกรดและน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มทั้งที่ผ่านการบำบัดด้วยการทิ้งตกตะกอนและไม่ผ่านการบำบัด เนื่องจากทำให้เปอร์เซ็นต์มีเทนและปริมาณก๊าซมีเทนสะสมลดลง ซึ่งน้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยกรด น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยการทิ้งตกตะกอนและน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ไม่ผ่านการบำบัดให้ปริมาณมีเทนสะสม 392.99, 785.75 และ 1,446.89 ml ตามลำดับ ซึ่งน้ำเสียที่ไม่ได้ทำการทดสอบกับวัสดุจริงให้ปริมาณมีเทน 606.95, 1,249.26 และ 1,549.29 ml ตามลำดับ (แสดงในภาพที่ 3-14) จะเห็นว่าสารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์วัสดุจริงมีผลต่อการผลิตก๊าซชีวภาพกับน้ำเสียที่มีกรดปนเปื้อนอยู่ในน้ำ ซึ่งเมื่อกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่ปนอยู่ในน้ำเสียไบโอดีเซลเนื่องจากการบำบัดเบื้องต้นด้วยกรดทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่เติมลงไปปรับพีเอชน้ำเสียให้สูงถึง 8 ให้ได้พีเอชที่คล้ายคลึงกับการทดสอบกับแผ่นเอนไซม์จริงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ซึ่งเกลือโซเดียมคลอไรด์เมื่อทำปฏิกิริยากับเอมีน (NH_2) ที่อยู่บนวัสดุจริงจะเกิดสารประกอบพวกคลอรามิน (NH_2Cl) ซึ่งเป็นสารที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้อาจส่งผลให้ปริมาณมีเทนลดลงเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ในระบบถูกทำลาย ส่วนน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มก็มีเกลือของกรดที่เกิดจากกรดปาล์มติก เติลธิกรทำปฏิกิริยากับด่างที่เติมลงไปเมื่อสารประกอบเกลือเหล่านั้นทำปฏิกิริยากับเอมีนที่อยู่บนวัสดุจริงจะเกิดสารพวกเมทิลแอมโมเนียมไนเตรท (Methyl ammonium nitrate) ซึ่งน่าจะมีผลในการทำลายเชื้อในระบบเช่นกัน



ภาพที่ 3-14 ปริมาณมีเทนสะสมเปรียบเทียบระหว่างน้ำเสียที่แช่แผ่นพอลิเมอร์สังเคราะห์และน้ำเสียที่ไม่แช่แผ่นพอลิเมอร์สังเคราะห์

3.8 ผลการทดสอบความทนทานและอายุการใช้งาน

ข้อได้เปรียบของเอนไซม์ตรึงรูปก็คือการใช้งานได้หลายครั้ง เพราะช่วยลดค่าใช้จ่ายในการบำบัด สามารถใช้ในระบบแบบต่อเนื่องได้ เช่น ระบบ Packed bed reactors (PBR) ระบบ Fluidized bed reactors (FBR) และระบบ Continuous stirred tank reactor (CSTR) เป็นต้น โดยจำนวนครั้งของการใช้งานหรือความคงตัวของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับสมบัติของเอนไซม์ วัสดุที่ใช้การตรึง วิธีการตรึง สภาวะต่างๆ ในการตรึงและการจัดการหลังการตรึง (อรัญ หันพงษ์กิตติคุณ, 2554) ซึ่งการทดสอบความทนทานและอายุการใช้งานของเอนไซม์ตรึงรูปดำเนินการโดยการนำเอนไซม์ที่ทำการตรึงรูปไปทำการย่อยสลายน้ำมันและไขมันหรือทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ในตัวอย่างน้ำเสียจำนวนหลายๆ ครั้งจนกิจกรรมของเอนไซม์มีค่าลดลงเหลือ 50 % โดยใช้สภาวะต่างๆ ที่ได้จากการศึกษาก่อนหน้านี้ คือ ใช้ระยะเวลาการย่อยสลายน้ำมันและไขมัน 24 ชั่วโมง ปริมาตรน้ำเสีย 120 มิลลิลิตร เขย่า 150 รอบต่อนาที จำนวนแผ่นเอนไซม์ตรึง 3 แผ่น สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และ 2 แผ่น สำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ผลการศึกษาพบว่าเอนไซม์ตรึงรูปสามารถใช้งานซ้ำได้ 6 ครั้ง สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและใช้งานซ้ำได้งาน 5 ครั้ง สำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล กิจกรรมเอนไซม์จึงจะลดลงเหลือ 50 % แสดงว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ดีกว่าน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันและไขมัน รวมทั้งปริมาณซีโอดีละลายน้ำที่เพิ่มขึ้นจากการทำ

ปฏิกิริยาที่มากกว่าน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม นอกจากนี้ในแต่ละครั้งของการใช้งานซ้ำค่ากิจกรรมจะลดลงเพียงเล็กน้อยและค่อนข้างสม่ำเสมอ (แสดงในตารางที่ 3-13) เพราะการตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์มีแรงกระทำระหว่างเอนไซม์กับตัวรองรับที่แข็งแรง ทำให้เอนไซม์หลุดออกจากตัวรองรับได้ยาก (Huckel *et al.*, 1996; Tan *et al.*, 2010) ส่งผลให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์ลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อมีการนำกลับมาใช้ซ้ำ ดังนั้นการประยุกต์ใช้เอนไซม์ตรึงรูปสำหรับบำบัดน้ำเสียในอุตสาหกรรมน่าจะประสบความสำเร็จเนื่องจากช่วยลดค่าใช้จ่าย สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางมากกว่าการใช้เอนไซม์อิสระ

ตารางที่ 3-13 จำนวนครั้งของการใช้งานเอนไซม์ตรึงรูปซ้ำ

จำนวนครั้ง การใช้งาน	ค่ากิจกรรมเอนไซม์ (U/mg protein)			
	น้ำเสียโรงงาน สกัดน้ำมันปาล์ม	% การลดลงของ กิจกรรมเอนไซม์	น้ำเสียจากการ ผลิตไบโอดีเซล	% การลดลงของ กิจกรรมเอนไซม์
เริ่มต้น	758.88±10.82		763.00±11.81	
1	661.91±8.75	12.78	670.13±2.77	12.31
2	595.98±9.38	9.96	597.95±76.42	10.77
3	513.33±8.61	13.87	518.25±21.54	13.33
4	452.46±16.26	11.86	446.05±18.82	13.93
5	420.24±4.81	7.12	387.22±12.59	13.19
6	380.30±8.08	9.50		

3.9 จุดเด่น-จุดด้อยและการประยุกต์ใช้ของการใช้เอนไซม์ไลเปสบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

3.9.1 ในส่วนของการใช้เอนไซม์บำบัดเบื้องต้นพบว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลสามารถกำจัดซีโอดี น้ำมันและไขมันได้มากกว่าน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแต่เมื่อนำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มให้ผลผลิตมีเทนมากกว่า

3.9.2 การใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปในการบำบัดน้ำเสียในขั้นต้นให้ประสิทธิภาพการบำบัดแตกต่างกันเล็กน้อย ดังนั้นการใช้เอนไซม์ตรึงรูปช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายได้มากกว่าเพราะเอนไซม์ตรึงรูปสามารถใช้งานซ้ำได้หลายครั้ง

3.9.3 ในส่วนของการนำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์มาผลิตก๊าซชีวภาพ พบว่าการใช้เอนไซม์ตรึงรูปบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นก่อนเข้าระบบหมักไร้อากาศให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพแตกต่างกันเล็กน้อยกับการใช้เอนไซม์อิสระ ดังนั้นการใช้เอนไซม์ตรึงรูปจึงช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายในการบำบัดและพบว่าน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพได้มากกว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีสารอาหารที่จำเป็นต่อจุลินทรีย์มากกว่าน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่มีปริมาณคาร์บอนสูงมาก แต่ขาดสารอาหารที่จำเป็นต่อจุลินทรีย์

3.9.4 น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดแล้วใช้เอนไซม์บำบัดอีกครั้งให้ผลผลิตก๊าซชีวภาพดีขึ้นและได้น้ำมันกลับไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลใหม่ แม้จะมีค่าใช้จ่ายในการใช้กรดและเอนไซม์ตรึงรูป (ประมาณ 32,400 บาท/ลูกบาศก์เมตรน้ำเสีย) แต่สามารถแก้ปัญหาปริมาณน้ำมันและไขมันที่สูง เพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดกำจัดน้ำมันและไขมันน้ำเสียให้สูงขึ้นได้ (92.11 %) และเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการศึกษาระบบบำบัดและการจัดการน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลต่อไป

บทที่ 4

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

4.1 สรุปผลการศึกษา

อุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันมีความเกี่ยวเนื่องกับอุตสาหกรรมการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้ น้ำมันปาล์มดิบเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิต น้ำเสียที่เกิดขึ้นจากอุตสาหกรรมทั้งสองแม้จะมีลักษณะของน้ำเสียที่แตกต่างกัน แต่น้ำเสียทั้งสองชนิดมีปริมาณสารคาร์บอนสูง ซึ่งนิยมบำบัดน้ำเสียที่มีสารคาร์บอนสูงในระบบไร้อากาศ แต่อย่างไรก็ตามน้ำมันและไขมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียทั้งสองชนิดมักเป็นปัญหาในการบำบัดในระบบไร้อากาศ ทำให้ประสิทธิภาพในการบำบัดต่ำ เนื่องจากน้ำมันและไขมันรบกวนการทำงานของจุลินทรีย์ในระบบไร้อากาศ อีกทั้งน้ำมันและไขมันย่อยสลายตามธรรมชาติได้ช้า ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการกำจัดน้ำมันและไขมันเบื้องต้นก่อน ซึ่งในการศึกษานี้ใช้เอนไซม์ในการบำบัด โดยเปรียบเทียบผลของเอนไซม์ตรึงกับเอนไซม์อิสระ ซึ่งสามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังต่อไปนี้

1) การตรึงเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนต์อาศัยสมบัติและโครงสร้างของกรดอะมิโนของเอนไซม์ที่มีต่อตัวพุง จึงต้องทำให้ตัวพุงหรือวัสดุตรึงมีหมู่เอมีนเพื่อจับกับหมู่อะมิโนของเอนไซม์ โดยประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการเติมหมู่ไนโตร ซึ่งพบแบนด์หมู่ไนโตรที่ตำแหน่ง $1,530.30 \text{ cm}^{-1}$ และ $1,347.05 \text{ cm}^{-1}$ สำหรับโครงสร้างที่ไม่สมมาตรและโครงสร้างที่สมมาตร ตามลำดับ และขั้นตอนการเปลี่ยนหมู่ไนโตรให้เป็นหมู่เอมีน ซึ่งพบแบนด์หมู่เอมีนที่ตำแหน่ง $3,349.56 \text{ cm}^{-1}$ และ $1,618.20 \text{ cm}^{-1}$ เมื่อวัสดุตรึงมีหมู่เอมีนก็ทำการตรึงเอนไซม์ โดยใช้กลูตารัลดีไฮด์เป็นสารเชื่อมขวาง ซึ่งพบว่าเอนไซม์จับอยู่กับวัสดุตรึง แต่ค่ากิจกรรมและปริมาณโปรตีนของเอนไซม์ลดลง เนื่องจากการตรึงด้วยพันธะโควาเลนต์สภาวะการทำปฏิกิริยารุนแรงจึงเกิดการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์บางส่วนในระหว่างการตรึง

2) การทดสอบสภาวะในการทำงานที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ตรึงรูปในการย่อยสลายน้ำมันไขมันในน้ำเสีย พบว่า จำนวนแผ่นเอนไซม์ตรึงที่เหมาะสม คือ 3 แผ่น (3 ตร.ซม.) และ 2 แผ่น (2 ตร.ซม.) ที่ปริมาตรน้ำเสีย 120 ml สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล ส่วนระยะเวลาการสัมผัสของแผ่นเอนไซม์ตรึงกับน้ำเสียที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส คือ 24 ชั่วโมง ทั้งน้ำเสียโรงงานปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล จึงจะให้ปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นสูงสุด โดยให้ปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล 28.69 % และ 29.83 % ตามลำดับ สำหรับน้ำเสียโรงงานน้ำมันปาล์ม

และให้ปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล 31.17 % และ 32.90 % ตามลำดับสำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ซึ่งปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำมันและไขมันที่ลดลง ซึ่งน้ำมันและไขมันลดลง 41.59 % และ 61.27 % สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการทำงานของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันด้วยเช่นกันกล่าวคือถ้าความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันมากเกินไปก็จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ จึงได้ทำการทดสอบการใช้เอนไซม์กับน้ำเสียที่เจือจางด้วย โดยเงื่อนไขการทดลองเดียวกันคือพื้นที่ของเอนไวเมนต์ริงและระยะเวลาการทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเท่ากัน พบว่าน้ำเสียที่ทำการเจือจางอัตราส่วน 1:6 จะให้ปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นมากกว่า รวมทั้งลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้มากกว่าหลังการทำปฏิกิริยาดูด้วย เอนไซม์ โดยให้ปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล 37.13 % และ 35.92 % สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและให้ปริมาณกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล 54.24 % และ 54.76 % สำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ลดปริมาณน้ำมันและไขมัน 58.48 % และ 69.67 % สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล ตามลำดับ

3) น้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลไม่เหมาะสมที่จะนำมาบำบัดด้วยเอนไซม์โดยตรงเนื่องจากมีปริมาณน้ำมันและไขมันสูงมากจึงควรนำมาปรับปรุงคุณภาพในขั้นต้นก่อนไม่ว่าจะเป็นวิธีการทางกายภาพหรือทางเคมีก็ตาม ซึ่งในการศึกษานี้ใช้การทิ้งตกตะกอนสำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ซึ่งเป็นวิธีที่ทางโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มใช้เพื่อการปรับปรุงคุณภาพขั้นต้นก่อนเข้าสู่ระบบผลิตก๊าซชีวภาพและใช้การปรับพีเอชด้วยกรดเพื่อลดสภาพอิมัลชันสำหรับน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลและแยกน้ำมันออกบางส่วนเพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ได้ โดยหลังการบำบัดด้วยวิธีการดังกล่าวพบว่าน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ใช้เอนไซม์อิสระบำบัดสามารถลดปริมาณน้ำมันและไขมันลงได้ 55.63 % ลดปริมาณซีโอดีทั้งหมดได้ 49.15 % ส่วนน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ใช้กรดปรับปรุงคุณภาพเบื้องต้นก่อนที่ผ่านการใช้เอนไซม์อิสระสามารถลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 56.05 % ลดปริมาณซีโอดีทั้งหมดได้ 46.95 %

4) ผลของการใช้เอนไซม์ตรึงรูปร่างบำบัดน้ำเสียในขั้นต้นซึ่งผ่านการปรับปรุงคุณภาพขั้นต้นด้วยการทิ้งให้ตกตะกอนสำหรับน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและการปรับค่าพีเอชด้วยกรดสำหรับน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลพบว่าสามารถลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 53.34 % ลดปริมาณซีโอดีทั้งหมด 44.06 % ส่วนน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปร่างสามารถลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 41.98 % ลดปริมาณซีโอดีทั้งหมดได้ 37.80 %

5) ผลของการใช้เอนไซม์อิสระบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นต่อการย่อยสลายทางชีวภาพและการผลิตก๊าซชีวภาพพบว่าน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ทิ้งให้ตกตะกอนและผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระสามารถลดปริมาณซีโอดีได้ 52.68 % และลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 66.51 % ให้ผลผลิตมีเทนสะสม 1,746.54 ml ซึ่งให้ผลผลิตมีเทนเพิ่มขึ้น 28.47 % เมื่อเทียบกับน้ำเสียที่ทิ้งตกตะกอนเพียงอย่างเดียวโดยไม่ผ่านเอนไซม์ (เป็นกรณีที่ทางโรงงานส่วนใหญ่ใช้บำบัดขั้นต้น) ส่วนน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดเพื่อลดสภาพอิมัลชันและแยกน้ำมันบางส่วนกลับมาใช้ใหม่ได้และบำบัดต่อด้วยเอนไซม์อิสระพบว่าสามารถลดปริมาณซีโอดีได้ 76.61 % ลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 68.74 % ให้ผลผลิตมีเทนสะสม 1,835.98 ml สามารถเพิ่มผลผลิตมีเทนขึ้นถึง 66.94 % เมื่อเทียบกับน้ำเสียที่ไม่ผ่านการปรับพีเอช จะเห็นได้ว่าสำหรับน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลวิธีการดังกล่าวเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในด้านประสิทธิภาพการบำบัด

6) ผลของการใช้เอนไซม์ตรึงรูปบำบัดเบื้องต้นต่อการย่อยสลายทางชีวภาพและผลผลิตก๊าซชีวภาพพบว่าน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ทิ้งตกตะกอนและผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูปสามารถลดปริมาณซีโอดี 49.14 % และลดปริมาณน้ำมันและไขมันเพิ่มขึ้น 58.09 % ให้ปริมาณมีเทนสะสม 1,508.42 ml หรือสามารถเพิ่มผลผลิตมีเทนได้ 17.18 % เมื่อเทียบกับน้ำเสียที่ทิ้งตกตะกอนเพียงอย่างเดียว (กรณีที่ทางโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มส่วนใหญ่ใช้ในการบำบัดขั้นต้น) ส่วนน้ำเสียไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดและบำบัดต่อด้วยเอนไซม์ตรึงรูปพบว่าสามารถลดปริมาณซีโอดีได้ 68.99 % ลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ 61.19 % ให้ผลผลิตมีเทนสะสม 1,479.94 ml ซึ่งเพิ่มผลผลิตมีเทนได้ถึง 58.99 % เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำเสียที่ผ่านการปรับค่าพีเอชโดยใช้กรดเพียงอย่างเดียวโดยไม่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์

7) ความแตกต่างของการใช้เอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปต่อผลผลิตก๊าซชีวภาพพบว่า เอนไซม์อิสระเพิ่มผลผลิตมีเทนได้มากกว่าเอนไซม์ตรึงรูปเพียงเล็กน้อย คือ 38.65 % กับ 31.24 % สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และ 87.73 % กับ 76.23 % สำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล ตามลำดับ ดังนั้นเอนไซม์ตรึงรูปเหมาะกับการนำไปประยุกต์ใช้มากกว่าเนื่องจากเอนไซม์ตรึงรูปสามารถแยกออกมาใช้บำบัดน้ำเสียใหม่ได้หลายครั้ง

8) ผลของการใช้สารเคมีที่ใช้ในการสังเคราะห์วัสดุตรึงต่อการผลิตมีเทนพบว่าส่งผลต่อการผลิตมีเทนเพิ่มขึ้นแต่จะมีผลในทางตรงกันข้ามเมื่อปรับพีเอชของน้ำเสียให้มีค่าลดลงเพื่อทำลายสภาพอิมัลชันในกรณีของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลเนื่องจากกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่ปนอยู่ในน้ำเสียทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่เติมลงไปปรับพีเอชน้ำเสียอีกครั้งเพื่อให้ได้พีเอชที่คล้ายคลึงกับการทดสอบกับแผ่นเอนไซม์ตรึงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นแก๊ส

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ซึ่งเกลือโซเดียมคลอไรด์เมื่อทำปฏิกิริยากับแอมีน (NH_2) ที่อยู่บนวัสดุตั้ง จะเกิดสารประกอบพวกคลอรามิน (NH_2Cl) ซึ่งเป็นสารที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้อาจส่งผลให้ ปริมาณมีเทนลดลงเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ในระบบถูกทำลาย

9) เอนไซม์ที่ทำกรดริงด้วยพันธะโควาเลนต์บนเอมีนพอลิฟิโนลซันโพนจะมี กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 50 % และแต่ละครั้งของการนำมาใช้ซ้ำค่ากิจกรรมเอนไซม์ลดลง เพียงเล็กน้อย เมื่อใช้งานซ้ำได้ 6 ครั้ง สำหรับน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และใช้งานซ้ำได้ 5 ครั้ง สำหรับน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล

4.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมกรณีพื้นที่ของแผ่นเอนไซม์ตรึงรูปต่อความเข้มข้นของน้ำเสีย เช่น ปริมาณน้ำมันและไขมันในน้ำเสียหรือค่าซีโอดี เป็นต้น เพื่อให้สามารถออกแบบจำนวนแผ่น เอนไซม์ที่จะใช้ให้เหมาะสมกับความเข้มข้นของน้ำเสียมากที่สุดและควรมีการศึกษาระยะเวลาการ สัมผัสของแผ่นเอนไซม์ตรึงกับน้ำเสียเพิ่มเติม

2. จากประเด็นเสนอแนะในข้อที่ 1 ในทางกลับกันควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเรื่องอัตราการ เจือจางน้ำเสียเพื่อหาอัตราการเจือจางน้ำเสียที่เหมาะสมที่สุดทั้งนี้เพื่อประสิทธิภาพการบำบัดที่ดี ที่สุดในระยะเวลาที่เหมาะสมและคุ้มค่าทางด้านเศรษฐศาสตร์ให้มากที่สุด

3. ควรมีการศึกษาปริมาณไอออนของโซเดียม (Na^+) ในน้ำเสียไบโอดีเซลที่เกิดจากการ แยกตัวของสบู่ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียและที่เกิดจากการคาร์บอกซิลิกที่ทำปฏิกิริยากับ NaOH ที่เติม เพื่อปรับพีเอชเพื่อศึกษาปริมาณของโซเดียมต่อความสามารถกระตุ้นหรือยับยั้งการทำงานของ จุลินทรีย์ในระบบหมักไร้อากาศ

4. ควรมีการศึกษาต่อไปในประเด็นรูปแบบและการเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดด้วย เอนไซม์และคำนึงถึงจุดคุ้มทุนทั้งในแง่ของตัวเงิน ซึ่งต้องแยกเป็นค่าลงทุนและค่าใช้จ่ายรวมถึงผล พลอยได้จากการได้น้ำมันกลับคืนมาและในแง่ของผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่ลดลงจาก กระบวนการบำบัดดังกล่าวด้วยเช่นกัน

เอกสารอ้างอิง

- กรมควบคุมมลพิษ. 2551. **คู่มือแนวทางการจัดการน้ำมันและไขมันจากปอดักไขมันและการนำไปใช้ประโยชน์สำหรับชุมชน**. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท ทีคิวพี จำกัด. กรุงเทพฯ.
- กรมควบคุมมลพิษ. 2546. **คู่มือควบคุมมลพิษทางน้ำจากสถานีบริการน้ำมันเชื้อเพลิง**. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัท ทีคิวพี จำกัด. กรุงเทพฯ.
- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน. 2549. **การออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อผลิตก๊าซชีวภาพ** หนังสือในโครงการพัฒนาหลักสูตรฝึกอบรมและประชาสัมพันธ์ความรู้ด้านก๊าซชีวภาพ. กระทรวงพลังงาน.
- การตรึงเอนไซม์แบบห่อหุ้ม (Entrapment). (ม.ป.ป). เข้าถึงข้อมูลเมื่อวันที่ 9 พฤศจิกายน 2555 จาก <http://agri.npu.ac.th/publication/>.
- เกรียงศักดิ์ อุดมสิน โรจน์. 2539. **วิศวกรรมerkการจัดน้ำเสีย**. มิตรนราการพิมพ์, กรุงเทพฯ.
- จารุวรรณี เรืองคง. 2551. **การศึกษาความเป็นไปได้เชิงเทคนิคและเศรษฐศาสตร์ในการผลิตก๊าซชีวภาพจากน้ำเสียกระบวนการผลิตไบโอดีเซล**. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- จุฑารัตน์ หนูสุข. 2546. **การใช้บึงประดิษฐ์แบบน้ำไหลใต้ผิวดินเพื่อการบำบัดขั้นที่สามสำหรับน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เฉลิมเดช ณ ลำพูน. 2553. **การศึกษาผลของอัตราส่วนสารอาหารต่อการผลิตก๊าซชีวภาพจากกลีเซอรอลที่ได้จากกระบวนการผลิตไบโอดีเซล**. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- ชนิกานต์ ตันสุริยวงศ์. 2550. **การดัดแปลงพอลิอะริลีนอีเทอร์ซัลโฟเนเพื่อตรึงไลเปสด้วยพันธะโควาเลนต์สำหรับผลิตไบโอดีเซล**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ญาใจ วิทยะพงศ์. 2548. **การใช้ประโยชน์ของไขมันจากการบำบัดน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มในการผลิตเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันโดยเอนไซม์ไลเปส**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- คารินทร์ ภูกิ่งงาม. 2551. **การบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลโดยระบบแผ่นกั้นไร้ออกซิเจน**. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- ชัยลักษณ์ หลีกแหลม. 2553. การปรับปรุงการย่อยสลายแบบไร้อากาศของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยกระบวนการโอโซนเนชั่น. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- นฤมล เชาวระโทก. 2556. การผลิตก๊าซชีวภาพจากกากตะกอนดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มดิบร่วมกับน้ำเสียโรงงานแปรรูปอาหารทะเลแช่แข็ง. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- บุษยมาศ เหมณี. 2552. กระบวนการปรับสภาพน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ปราณี อานเปลื้อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล. 2552. “การผลิตไลเปสโดยแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงและการประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนไขมัน”. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 14(2): 71-77.
- ปาริชาติ หมั่นสีทา. 2547. การกำจัดสีและซีโอดีจากน้ำเสียของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดบางส่วนโดยกระบวนการรวมตะกอนด้วยไฟฟ้า. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พิมพ์จิต ดามพวรรณ และ วัชรินทร์ รุกขไชยศิริกุล. (2542). สเปกโตรสโคปีของสารอินทรีย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- พูนสุข ประเสริฐสรรพ. เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุลและอรัญหันพงษ์ กิตติกุล. 2533. “กระบวนการผลิต การใช้ประโยชน์วัสดุเศษเหลือและคุณลักษณะน้ำทิ้งจากรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม”. วารสารสงขลานครินทร์ 12(2):169-176.
- พูนสุข ประเสริฐสรรพ; อรัญ หันพงษ์กิตติกุล; และ โสภา จันทภาโส. (2544). ปัจจัยที่มีผลต่อการบำบัด น้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่เลี้ยงบนกากปาล์ม. วารสารสงขลานครินทร์. 23: 797-806.
- เพ็ญศิริ ประชาภิตติกุล. 2551. ผลของอุณหภูมิและสารอาหารเสริมต่อการผลิตก๊าซชีวภาพของกากตะกอนปาล์มจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- มันสินและมันรักษ์ ตันฑุลเวศน์. (2551). เคมินวิทยาของน้ำและน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 3. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

- เมธิยา หมวดนิม. 2555. การผลิตก๊าซชีวภาพจากการหมักร่วมของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดขั้นต้นแล้วกับกากตะกอนดีแแคนเตอร์จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- ศาสตรา เชื้อวงศ์สกุล. 2551. ผลของชนิดถังปฏิกรณ์ต่อประสิทธิภาพการผลิตก๊าซชีวภาพจากกากตะกอนโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- เสถียรพงศ์ อุดมศิลป์ และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ. 2552 (กรกฎาคม-ธันวาคม). “ การแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยวิธีการทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์และเอนไซม์” วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 1(2): 125-134.
- อมรภัก ชูทอง. 2551. การบำบัดน้ำเสียเบื้องต้นจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้กระบวนการไฟฟ้าเคมี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- อรัญ หันพงษ์กิตติกุล; พูนสุข ประเสริฐสรรพ; กัลยา ศรีสุวรรณ; เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล; และ วีระศักดิ์ ทองลิ้มปี. (2537). รายงาน โครงการวิจัยการศึกษาวิธีแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โครงการย่อย:การศึกษาในห้องปฏิบัติการมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- อรัญ หันพงษ์กิตติกุล. (2556). เทคโนโลยีเอนไซม์. พิมพ์ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- เอนก สวาธอินทร์. 2552. การกำจัดไขมันและน้ำมันออกจากน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลด้วยวิธีทางกายภาพและเคมี. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- อิสลาห์ ดือราแม. 2551. การตรึงเอนไซม์ไลเปสบนพอลิฟีนิลซัลโฟนด้วยพันธะโควาเลนต์. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- APHA, AWWA and WEF. 2012. **Standard methods for the examination of water&wastewater**. 21st edition. Maryland: American Public Health Association.
- Abrunhusa, L., Oliveira, F., Dantas, D., Belo, I. 2012. Lipase production by *Aspergillus ibericus* using olive mill wastewater. **Bioprocess Biosystems Engineering**. 36:285-291.
- Adriano, W. S., Mendonca, D. B., Rodrigues, D. S. Mammarella, E. J. and Giordano, R. L. C. 2008. Improving the properties of chitosan as support for the covalent multipoint immobilization of chymotrypsin. **Biomacromolecules**. 9:2170-2179.
- Badawy, M. I. and Ali, M. E. M. 2006. Fenton's peroxidation and coagulation process for the treatment of combined industrial and domestic wastewater. **Journal of Hazardous Materials**. 136(3): 961-966.
- Baeurle, S. A. and Kroener, J. 2004. Modeling effective interactions of micellar aggregates of ionic surfactants with the Gauss-Core potential, **Journal of Mathematical Chemistry**. 36:409-421.
- Bayramođlu, G., Y. Kacar, A. Denizli and M. Y. Arica. 2002. Covalent immobilization of lipase onto hydrophobic group incorporated poly (2-hydroxyethyl methacrylate) based hydrophilic membrane matrix. **Journal of Food Engineering**. 52:367-374.
- Bayramođlu, G., Hazer, B., Altintađ, B., Arica, M.Y. 2011. Covalent immobilization of lipase onto amine functionalized polypropylene membrane and its application in green apple flavor (ethyl valerate) synthesis. **Journal of Process Biochemistry**. 46:372-378.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protien utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. 72: 248-254.
- Bryjak, J. and Kolarz, B. N. 2006 . Immobilization of trypsin on acrylic copolymer. **Process Biochemistry**. 33:409-417.
- Bornscheuer, U.T. and Yamane, T. 1995. Fatty acid vinyl ester as acylating agents: A new method for the enzymatic synthesis of monoacylglycerols. **Journal of the American Oil Chemists Society**. 72:193-197.
- Calderon, F. L. and Schmitt V., 2008. Solid-stabilized emulsion. **Current Operation in Colloid&Interface Science** 13:217-227.

- Cammarota, M. C., Teixeira, G. A. and Freire, D. M. G. 2001. Enzymatic pre-hydrolysis and anaerobic degradation of wastewater with high fat contents. **International Biodeterioration&Biodegradation**. 68:65-70.
- Cammarota, M. C. and Freire, D. M. G. 2006. A review on hydrolytic enzyme in the treatment of wastewater with high oil and grease content. **Bioresource Technological**. 97:2195-2210.
- Cao, L. 2005. **Carrier-bound Immobilized Enzymes: Principle, Applications and Design**. Wiley-VCH GmbH& Co. Weiheim.563 P.
- Chan, Y.J., Chong, M.F., Law, C.L. 2010. Biological treatment of anaerobically digested palm oil mill effluent (POME) using a Lab-Scale Sequencing Batch Reactor (SBR). **Journal of Environmental Management**. 91:1738-1746.
- Chang, M. Y. and R. S. Juang. 2005. Activities, stabilities, and reaction kinetics of free and chitosan/clay composite immobilized enzyme. **Enzyme and Microbial Technology**. 36: 75-82.
- Chang, M. Y. and R. S. Juang. 2007. Stability and reactivity of acid phosphatase immobilized on composite beads of chitosan and ZrO₂ particles. **Biological Macromolecules**. 40: 224-231
- Chaplin, M. F. and C. Bucke. 1990. **Enzyme technology**. Cambridge University.
- Chin, K. K., Lee, S. W. and Muhammad, H. H. 1996. A study of palm oil mill effluent treatment using a pond system. **Water Science and Technology**. 34:119-123.
- Cherif, S., Aloui, F., Carriere, F., and Sayadi, S. 2014. Lipase pre-hydrolysis enhance Anaerobic Biodigestion of soap stock from an oil refining industry. **Journal of Oleo Science**. 63(2):109-114.
- Chiou, C. and Wu, W. 2004. Immobilization of *Candida rugosa* lipase on chitosan with activation of the hydroxyl groups. **Biomaterials**. 25:197-204.
- Choi, W., Shin, C., Son, S., Ghorpade, P.A., Kim, J. and Park, J. 2013. Anaerobic treatment of palm oil mill effluent using combined high-rate anaerobic reactor. **Bioresource Technology**. 141:138-144.
- Chowdhury, S. R., Kumar, P., Bhattacharya, P. K. and Kumar, A. 2001. Separation characteristic of modified polysulfone ultrafiltration membrane using NO_x. **Separation and Purification Technology**. 24: 271-282.

- Darocho, D.C., Gomes, B.M., Gomes, S.D., Sene, L. and Zenatti, D.C. 2013. Selection of Microorganisms producer of lipase for fat removal from biodiesel purification water. **Journal of Engineering Agriculture**. 33:332-340.
- Dechruga, S., Kantachote, D. and Chaiprapat, S. 2013. Effects of inoculum to substrate ratio, substrate mix ratio and inoculum source on batch co-digestion of grass and pig manure. **Bioresource Technology**. 146: 101–108.
- Desai, P. D., Dave, A. M. and Devi, S. 2005. Alcoholysis of saliconia oil using free and covalently bond lipase onto chitosan beads. **Food Chemistry**. (Article in press).
- Destain, J., D. Roblain and P. Thonart. 1997. Improvement of lipase production form *Yarrowia lipolytica*. **Biotechnology Letters**. 19(2): 105-107.
- Domingues, R.F., Sanches, T., Silva, G.S., Bueno, B.E., Ribeiro, R., Kamimura, E.S., Neto, R.F. and Tommaso, G. 2015. Effect of enzymatic pretreatment on the anaerobic digestion of milk fat for biogas production. **Food Research international**. 73:26-30.
- Eitenmiller, R.R., J.R. Vakil and K.M. Shahani. 1970. Production and properties of *Penicillium roqueforti* lipase. **Journal of food Science**. 35: 130-133.
- Fantozzi, F. and Buratti, C. 2009. Biogas production from different substrates in an experimental Continuously Stirred Tank Reactor anaerobic digester. **Bioresource Technology**. 100: 5783–5789.
- Fukumoto, J., M. Iwai and Y. Tsujisaka. 1963. Studies on lipase. IV. Purification and properties of a lipase secreted by *Rhizopus delemere*. **Journal of General Applied Microbiology**. 10: 257.
- Grady, C. P. L., Daigger, G. T. and Lim, H. C. 1999. **Biological wastewater Treatment**. Marcel Dekker Inc., New York.
- Gerardi, M. H. 2003. **The microbiology of anaerobic digesters**. John Wiley and Sons, Inc. All Rights Reserved.
- Gerpen, J. V. 2004. Biodiesel processing and production. **Journal of Fuel Processing Technology**. 86: 1097-1107.
- Gombert, A. K., Lopes, A. ; Castilho, L. R. ; Freire, D. M. G. 1999. Lipase, amylase and protease production by *Penicillium restrictum* in a solid state fermentation using babassu oil cake. **Process Chemistry**. 35:85-90.

- Gonchar, A. M. and V. L. Auslender. 1996. Immobilization of bacterial proteases on water-solved polymer by means of electron beam. **Radiation Physics and Chemistry**. 48: 795-797.
- Gupta, S., Singh, K. and Bhattacharya, A. 2010. Lipase immobilization on Polysulfone globules and their performances in olive oil hydrolysis. **International Journal of Biological Macromolecules**. 46: 445–450.
- Handelsman T. and Y. Shoham. 1994. Production and characterization of an extracellular thermostable lipase form a thermophilic *Bacillus sp.* **Journal of General and Applied Microbiology**. 40: 435-443.
- Hartley, G. S., 1936. **Aqueous Solution of Paraffin Chain Salts, A Study in Micell Formation**. Hermann et Cie, Paris.
- Hill, J., Nelson, E., Tilman, D., Polasky, S. and Tiffany, D. 2006. Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. **National Academy of Sciences**. 103(30): 11206-11210.
- Hiol A., M.D. Jonza, N. Rugani, D. Druet, L. Sarda and L.C. Comeau. 2000. Purification and characterization of an extracellular thermostable lipase form a thermophilic *Rhizopus oryzae* strain isolated from plam fruit. **Enzyme and Microbial Technology**. 26:421-430.
- Huckel, M., Writh, H. J. and Hearn, M. T. W. 1996. Porous zirconia: a new support material for enzyme immobilization. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**. 31: 165-179.
- Hwang, S., K. T. Lee, J. W. Park, B. R. Min, S. Haam, I. S. Ahn and J. K. Jung. 2004. Stability analysis of *Bacillus stearothermophilus* L1 lipase immobilized on surface-modified silica gel. **Biochemical Engineering Journal**. 17:85-90.
- Iscia A. and Demirer G.N. 2007. Biogas production potential from cotton wastes. **Journal of Renewable Energy**. 32 (2007): 750–757.
- Ichikawa, T. Dohda, T. and Nakajima, Y. 2006. Stability of oil-in-water emulsion with mobile surface change. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. 279:128-141.

- Jeganathan, J., Bassi, A. and Nakhla, G. 2006. Pre-treatment of high oil and grease pet food industrial wastewaters using immobilized lipase hydrolyzation. **Journal of Hazardous Materials**. 137: 121–128.
- Jeganathan, J., Nakhla, G. and Bassi, A. 2007. Hydrolytic pretreatment of oily wastewater by immobilized lipase, **Journal of Hazardous Materials**. 145: 127–135.
- Jenta, T. R. J., G. Batts, G. D. Rees and B. H. Robinson. 1997. Kinetic studies of *Chromobacterium viscozum* lipase in AOT water in oil microemulsion and gelatin microemulsion-based organogel. **Biotechnology and Bioengineering**. 54: 416-427.
- Jones, M.Jr.. 2005. **Organic Chemistry**. 3^{ed} w.w. Norton & Company, Inc. USA.
- Jung, F.; Cammarota, M. C.; Freire, D. M. G. 2002. Impact of enzymatic pre-hydrolysis on batch activated sludge systems dealing with oily wastewater. **Bioresource Technology**. 24:1797-1892.
- Jayaswal, N., Sinha, S. and kumar, A. 2001. Effect of chemical modification upon exchange capacity of aminated macroporous styrene-divinyl benzene (PS-DVB) copolymer anion exchange resin. **Journal of Applied Polymer Science**. 79:1735-1748.
- Kafle, G. K., Kim S. H., and Sung, K. I. 2013. Ensiling of fish industry waste for biogas production: A lab scale evaluation of biochemical methane potential (BMP) and kinetics. **Bioresource Technology**. 127: 326–336.
- Kazlauskas, R. J. and Bornsheuer, U. T. 1997. Biotransformation with lipase. **International Biological technology Vol. VIII: Biotransformation**, pp.226. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft mbH.
- Khan, I. M., Dill, C. W., Chandan, R. C. and Shahani, K. M. 1967. Production and properties of the extracellular lipase of *Achromobacter lipolyticum*. **Biochimica et Biophysica Acta**. 132: 68.
- Knezevic, Z., Bobic, S., Miutinovic, A., Obradovic, B., Mojovic, L. and Bugarski, B. 2002. Alginate-immobilized lipase by electrostatic extrusion for the purpose of palm oil hydrolysis in lecithin/isooctane system, **Process Biochemistry**. 38:313-318.
- Kramer, G.R. 1971. Hydrolysis of lipids in wastewater. **Journal of Sanitary Engineering Division**, American Society of Civil Engineers. 97(SA5): 731-744.

- Larson, A. C., Gentry, L. E., David, M. B., Cooke, R. A. and Kovacic, D. A. 2000. The role of seepage in constructed wetlands receiving agricultural tile drainage. **Ecological Engineering**. 15: 91-104.
- Lauwiner, M., Rys, P., and Wissmann., J. 1998. Reduction of aromatic nitro compounds with hydrazine hydrate in the presence of an iron oxide hydroxide catalyst.I. The reduction of monosubstituted nitrobenzenes with hydrazine hydrate in presence of ferrihydrite. **Applied Catalysis A: General**. 172:141-148.
- Leaño, E. P. and Babel, S. 2012. The influence of enzyme and surfactant on biohydrogen production and electricity generation using Palm Oil Mill Effluent. **Journal of Cleaner Production**. 31:91-99.
- Lima, L. N., Aragon, C. C., Mateo, C., Paloma, J. M., Giordano, R. L. C., Tardioli, P. W., Guisan, J. M. and Lorente, G. F. 2013. Immobilization and srabilization of a bimolecular aggregate of the lipase from *Pseudomonas fluorescens* by multipoint covalent attachment. **Process Biochemistry**. 48:118-123.
- Liu, Q., Hua, Y., Kong, X., Zhang, C. and Chen, Y. 2013. Covalent immobilization of hydroperoxide lyase on chitosan hybrid hydrogels and production of C6 aldehydes by immobilized enzyme. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**. 95:89-98.
- Lu, J. Y and Liska, B. J. 1969. Lipase from *Pseudomonas fragi* II. Properties of the enzyme. **Journal of Applied Microbiology**. 18(1): 108-113.
- Magnan, E., Catarino, I., Jeanjean, D. P., Belloy, L. P. and Belleville. 2004. Immobilization of lipase on ceramic membrane: activity and stability. *Journal of membrane Science*. 241:161-166.
- Malcata, F. X., Reyes, H. R., Garcia, H. S., Hill, C. G. and Amundson, C. H. 1992. Kinetics and mechanisms of reaction catalyzed by immobilize lipase. **Enzyme Microbial Technology**. 14: 426-446.
- Marchaim, U. and Krause, C. 1993. Propionic to acetic acid ratios in overloaded anaerobic digestion. **Bioresource Technology**. 43: 195-203.
- Marwan M. Shamel, K., Ramachandran, B., Hasan, M. and Al-Zuhair, S. 2007. Hydrolysis of palm and olive oils by immobilized lipase using hollow fiber reactor. **Biochemical Engineering Journal**. 34: 228-235.

- Matsumoto, M. and Ohashi, K. 2003. Effect of immobilization on thermostability of lipase from *Candida rugosa*. **Biochemical Engineering Journal**. 14:75-77.
- McCarty, P.L. 1964. Anaerobic waste treatment fundamental part 1, 2, 3, 4. **Journal of Public works**. 95(9): 107-115.
- Mendes, A. A., Pereira, E. B. and De-Castro, H. F. 2010. Anaerobic biodegradability of dairy pretreated with porcine pancrease lipase. **Brazilian Archives of biology and Technology**. 53:1516-8913.
- Meng, Y., Li, S., Yuan, H., Zou, D., Liu, Y., Zhu, B. and Li, X. 2015. Effect of lipase addition on hydrolysis and biomethane production of Chinese food waste. **Bioresource Technology**. 179:452-459.
- Metcalf & Eddy, Inc. 1991. **Wastewater engineering: Treatment, Disposal and Reuse**, 3^d ed., McGraw-Hill, New York.
- Metcalf and Eddy. Inc. 2003. **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4thed. McGraw-hill, New york.
- Missen, R. W., Mims, C. A., and Saville, B. A. 1999. **Introduction to Chemical Reaction Engineering and Kinetics**, John Wiley & Sons, New York.
- Mohammadi, P., Ibrahim, S, Annuar, M. S. M. and Law, S. 2011. Effect of different pretreatment methods on anaerobic mixed microflora for hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent. **Journal of Cleaner Production**. 19:1654-1658.
- Mondal, K., Payal M., Bodh R. M., Deepak V., Munishwar G. 2006. A bioconjugate of *Pseudomonas cepacia* lipase withalginate with enhanced catalytic efficiency. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1764: 1080-1086.
- Morris, H.A. and Jezeski J.J.. 1953. Action of microorganism on fats. II. Some characteristics of the lipase system of *Penicillium roqueforti*. **Journal of Dairy Science**. 36: 1285.
- Murray,M., Rooney, D., Neikerk, M.V., Montenegro, A. and Weatherley, L. R. 1997. Immobilization of lipase onto lipophilic polymer particles and application to oil hydrolysis. **Process Biochemistry**. 32:479-486.
- Nabarlatz, D. A., Arenas-Beltrán, L.P., Herrera-Soracá, D.M. and Niño-Bonilla, D.A. 2013. Biogas production by anaerobic digestion of wastewater from palm oil mill industry. **Science Technology**. 5(2): 73-84.

- Nakhla, G., Al-Sabawi, M., Bassi, A. and Liu, V. 2003. Anaerobic treatability of high oil and grease rendering wastewater. **Journal of Hazardous Material B**. 102:243-255.
- Nilesh, S. D. and Mukhopadhyay, M. 2012. Removal of oil and grease using immobilized triacylglycerin lipase. **International Biodeterioration & Biodegradation**. 68:65-70.
- Ngamlerdpokin K., Kumjadpai, S., Chatanon, P., Tungmanee, U., Jaruwat, P., Lertsathitphongs, P., Chuenchuanom, S., Hunsom, M., 2011. Remediation of biodiesel wastewater by chemical and electro-coagulation: A comparative study. **Journal of Environmental Management**. 92 (2011) 2454-2460.
- Oswal, N., Sarma, P. M., Zinjarde, S. S. and Pant, A. 2002. Palm oil mill effluent treatment by a tropical marine yeast. **Bioresource Technology**. 85:35-37.
- Puetpaiboon, U. and Chotwattanasak, J. 2004. Anaerobic treatment of palm oil mill wastewater under mesophilic condition. 10th World Congress Anaerobic Digestion 2004. Montreal, Canada.
- Pugazhenthii, G. and Kumar, A. 2004. Enzyme membrane reactor for hydrolysis of olive oil using lipase immobilized on modified PMMA composition membrane. **Journal of Membrane Science**. 228:187-197.
- Qamsari, M. E., Kermanshahi, K. K., Nosrati, M. and Amani, T. 2012. Enzymatic pre-hydrolysis of high fat content dairy wastewater as a pretreatment for anaerobic digestion. **International Journal of Environment Resource**. 6(2):475-480.
- Schwimmer, S. 1981. **Source Book of Food Enzymology**. Westport Connecticut: The AVI Publishing Company, INC.
- Speece, R. E. and McCarty, P. L. 1964. Nutrient requirement and biological solids accumulation anaerobic digestion. **Advance in water pollution Research**. 2:305-322.
- Sterling, J. M. C., Lacey, R. E., Engler, C. R. and Ricke, S. C. 2001. Effect of ammonia nitrogen on H₂ and CH₄ production during anaerobic digestion of dairy cattle manure. **Bioresource Technology**. 77:9-18.
- Sharma, R., Chisti, Y. and Banerjee, C. 2001 Production, purification, characterization and applications of lipase. **Biotechnology Advances**. 19: 627-662.

- Siles, J. A., Martín, M. A., Chica, A. F. and Martín, A. 2010. Anaerobic co-digestion of glycerol and wastewater derived from biodiesel manufacturing. **Bioresource Technology**. 101: 6315-6321.
- Singh, L., Siddiqui, M. F., Ahmad, A., Hasbi Ab. Rahim, M., Sakinah, M. and Wahid, Z. A. 2013. Application of polyethylene glycol immobilized Clostridium sp. LS2 for continuous hydrogen production from palm oil mill effluent in upflow anaerobic sludge blanket reactor. **Biochemical Engineering Journal**. 70: 158-165.
- Sinha, S., Jayaswal, N. and Kumar, A. 2003. Preparation of High C apacity Weak Base Poly (methyl methacrylate)-Ethylene Glycol Dimethylacrylate Copolymer Anion Exchange Resin by Modification Using NO_x. **Journal of Applied Polymer Science**. 89:1991-1999.
- Seddon, J. M. and Templer, R. H. 1995. **Polymorphism of lipid-Water System**, Handbook of Biological Physics Vol. 1. Ed. R. Lipowsky and E. Sackmann.(c), Elsevier Science B.V. ISBN 0-444-81975-4.
- Suehara, K., Kawamoto, Y., Fujii, E., Coda, J., Nakano, Y. and Yano, T., 2005. Biological treatment of wastewater discharged from biodiesel fuel production plant with alkali-catalyzed transesterification. **Journal of Bioscience Bioengineering**. 100: 437-442.
- Tan, T., Lu, J., Nie, K., Deng, L. and Wang, F. 2010. Biodiesel production with immobilized lipase: A review. **Biotechnology Advances**. 28(5): 628-634.
- Turro, N. J. and Yekta, A. 1978. Luminescent probes for detergent solutions. A simple procedure for determination of the mean aggregation number of micells. **Journal of the American Chemical Society**. 100(18): 5951-5952.
- Yamane, T. 1987. Enzyme technology for the lipid industry: An Engineering Overview. **Journal of American Oil Chemists' Society**. 64: 1657-1661.
- Yilmazer, G. and Yenigun, O., 1999. Two-phase anaerobic treatment of cheese whey. **Water Science and Technology**. 40(1): 289-295.
- Vidal, G., Carvalho, A., Mendez, R. and Lema, J. M. 2000. Influence of the content in fats proteins on the anaerobic biodegradability of dairy wastewaters. **Bioresource Technology**.74: 231-239.

- Villeneuve, P., J. M. Muderhwa, J. Graille and M. J. Haas. 2000. Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches. **Journal of molecular catalysis B: Enzymatic**. 9: 113-148.
- Wade, L. G. Jr. 2003. "**Organic Chemistry**" 5th. Pearson Education, Inc. USA.
- Wen, C., Huang, X., and Qian, Y. 1999. Domestic wastewater treatment using an aerobic bioreactor coupled with membrane filtration. **Process Biochemistry**. 35: 335-340.
- Winkler, U. K. and M. Stuckmann. 1979. Glycogen, Hyaluronate, and some other polysaccharides greatly enhance the formation of exolipase by *Serratia marcescens*. **Journal of Bacteriology**. 138: 663-670.
- Winterbottom, J. M., and King, M. B. 1999. **Reactor Design for Chemical Engineers**, Stanley Thornes Ltd., Cornwall.
- Wong, D. W. S. 1995. **Food Enzyme: Structure and Mechanism**. Chapman & Hall.
- Woolard, C. R. and Irvine, R. L. 1995. Treatment of hypersaline wastewater in the sequencing batch reactor. **Water Research**. 29:1159-1168.
- Zaki, N. N., 1997. Surfactant stabilized crude oil-in-water emulsions for pipeline transportation of viscous crude oils. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering**. 125:19-25.
- Zhao, B., Liu, X., Jiang, Y., Zhou, L., He, Y. and Gao, Y. 2014. Immobilized lipase from *Candida* sp. 99-125 on hydrophobic silicate: characterization and applications. **Applied Biochemistry Biotechnology**. 173:1802-1814.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีของน้ำเสียก่อนและหลังผ่านการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศ

ตารางภาคผนวกที่ ก-1 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มก่อนและหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่อัตราส่วนการหมักต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสียก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสียหลังหมัก	ประสิทธิภาพการบำบัด (%)
480:20	pH	4.75±0.01	5.18±0.01	-
	TCOD (mg/l)	68,000±2,828.43	54,500±4,949.75	19.85
	SCOD (mg/l)	52,500±707.11	31,250±353.55	40.48
	O&G (mg/l)	3,032±21.21	2,600±91.92	14.25
	TS (mg/l)	41,110±113.14	40,445±700.04	1.62
	SS (mg/l)	17,980±565.69	15,390±155.56	14.40
	VS (mg/l)	20,910±395.98	19,895±219.20	4.85
	Alkalinity (mg/l)	1,265±7.07	1,010±7.07	20.16
	VFA (mg/l)	6,535±21.21	1,967.5±17.68	69.82
450:50	pH	4.82±0.01	5.31±0.00	-
	TCOD (mg/l)	74,250±353.55	57,250±1,767.76	22.90
	SCOD (mg/l)	57,000±1,414.21	31,000±1,414.21	45.61
	O&G (mg/l)	3,492±7.07	2,865±7.07	17.96
	TS (mg/l)	42,950±70.71	41,460±240.42	3.47
	SS (mg/l)	19,450±183.85	16,010±240.42	17.69
	VS (mg/l)	22,030±42.43	20,295±289.91	7.88
	Alkalinity (mg/l)	1,317.5±17.68	1,012.5±17.68	23.15
	VFA (mg/l)	6,797.5±272.24	1,972.5±10.61	70.98

ตารางภาคผนวกที่ ก-1 (ต่อ) ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มก่อน
และหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่อัตราส่วนการหมักต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อ หัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ประสิทธิภาพ การบำบัด (%)
400:100	pH	5.25±0.02	5.45±0.01	-
	TCOD (mg/l)	84,000±2,828.43	62,750±1,060.66	25.30
	SCOD (mg/l)	60,250±353.55	29,000±1,414.21	51.87
	O&G (mg/l)	4,049.5±10.61	3,157.5±187.38	22.03
	TS (mg/l)	46,215±148.49	42,295±586.90	4.15
	SS (mg/l)	21,010±1,400.07	16,910±381.84	19.51
	VS (mg/l)	23,065±106.07	21,035±162.63	8.80
	Alkalinity (mg/l)	1,492.5±3.54	1,020±21.21	31.66
	VFA (mg/l)	6,912±207.89	1,895±7.07	72.58
350:150	pH	5.53±0.00	5.57±0.05	-
	TCOD (mg/l)	87,000±1,414.21	52,750±1,060.66	39.37
	SCOD (mg/l)	66,000±2,828.43	29,500±2,828.43	55.30
	O&G (mg/l)	4,484.5±10.61	3,085±91.92	31.21
	TS (mg/l)	49,050±84.85	45,592.5±123.74	7.05
	SS (mg/l)	24,340±84.85	19,400±113.14	20.30
	VS (mg/l)	25,520±84.85	22,480±608.11	11.91
	Alkalinity (mg/l)	1,557.5±10.61	1,027.5±10.61	34.03
	VFA (mg/l)	7,210±127.28	1,800±14.14	75.03
300:200	pH	5.79±0.01	5.76±0.05	-
	TCOD (mg/l)	92,000±5,656.85	57,500±353.55	37.5
	SCOD (mg/l)	72,000±0.00	34,000±2,828.43	52.78
	O&G (mg/l)	4,809.5±10.61	3,510±197.99	27.02
	TS (mg/l)	53,620±113.14	50,085±21.21	6.59
	SS (mg/l)	22,010±42.43	25,770±70.71	14.59
	VS (mg/l)	26,345±134.35	24,095±35.36	8.54
	Alkalinity (mg/l)	1,697.5±10.61	1,167.5±10.61	31.22
	VFA (mg/l)	7,597.5±152.03	2,255±21.21	70.32

ตารางภาคผนวกที่ ก-1 (ต่อ) ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มก่อน
และหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่อัตราส่วนการหมักต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อ หัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลัง หมัก	ประสิทธิภาพ การบำบัด (%)
250:250	pH	5.90±0.00	5.91±0.02	-
	TCOD (mg/l)	95,000±7,071.07	60,750±1,060.66	36.05
	SCOD (mg/l)	84,000±0.00	48,000±5,656.85	42.86
	O&G (mg/l)	5,284.5±38.89	3,972.5±95.50	24.83
	TS (mg/l)	56,765±134.35	53,720±141.42	5.36
	SS (mg/l)	26,630±466.69	24,110±268.70	9.46
	VS (mg/l)	27,380±169.71	25,895±63.64	5.42
	Alkalinity (mg/l)	1,905±21.21	1,365±7.07	28.35
	VFA (mg/l)	7,672.5±3.54	2,755±21.21	64.09
200:300	pH	6.02±0.02	5.95±0.04	-
	TCOD (mg/l)	102,000±7,071.07	68,000±2,828.43	33.33
	SCOD (mg/l)	99,000±4,242.64	62,000±2,828.43	37.37
	O&G (mg/l)	5,414.5±38.89	4,232.5±31.82	21.83
	TS (mg/l)	59,995±205.06	56,895±417.19	5.12
	SS (mg/l)	31,010±6,972.07	28,550±296.98	7.93
	VS (mg/l)	28,085±91.92	26,585±106.07	5.34
	Alkalinity (mg/l)	2,052.5±3.54	1,517.5±10.61	26.01
	VFA (mg/l)	7,890±84.85	3,087.5±17.68	60.87

ตารางภาคผนวกที่ ก-2 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปก่อนและหลังบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ 350:150 V/V

รูปแบบเอนไซม์ที่ใช้บำบัดเบื้องต้น	พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสียก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสียหลังหมัก	ประสิทธิภาพการบำบัด (%)
เอนไซม์อิสระ	pH	6.75±0.08	6.52±0.20	-
	TCOD (mg/l)	79,500±4,242.64	39,000±707.11	50.94
	SCOD (mg/l)	66,000±2,828.43	25,500±3,535.53	61.36
	O&G (mg/l)	1,680±88.39	650±24.75	61.31
	TS (mg/l)	57,925±1,039.45	43,970±14.14	24.09
	SS (mg/l)	35,280±311.13	27,370±608.11	22.42
	VS (mg/l)	34,700±678.82	29,010±1,173.80	16.40
	Alkalinity (mg/l)	1,090±14.14	520±42.43	52.29
	VFA (mg/l)	7,990±14.14	1,635±21.21	79.54
เอนไซม์ตรึงรูป	pH	6.85±0.08	6.65±0.08	-
	TCOD (mg/l)	81,500±2,828.43	42,500±1,414.21	47.85
	SCOD (mg/l)	78,000±2,828.43	34,500±2,121.32	55.77
	O&G (mg/l)	1,772±42.43	802±7.07	54.74
	TS (mg/l)	59,960±84.85	46,985±49.50	21.63
	SS (mg/l)	32,840±197.99	27,690±240.42	15.68
	VS (mg/l)	24,700±424.26	21,070±1,286.93	14.69
	Alkalinity (mg/l)	1,235±35.35	725±35.35	41.30
	VFA (mg/l)	7,515±21	1,780±42.43	76.31

ตารางภาคผนวกที่ ก-3 ลักษณะของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มทิ้งตกตะกอนแล้วใช้เอนไซม์
อิสระและเอนไซม์ตรึงรูปบำบัดอีกครั้งก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ 350:150 V/V

น้ำเสีย	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนการหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ประสิทธิภาพ การบำบัด (%)
น้ำปาล์มทิ้ง ตกตะกอน	pH	5.84±0.07	6.68±0.04	-
	TCOD (mg/l)	62,500±1,414.21	36,000±2,121.32	42.40
	SCOD (mg/l)	60,000±5,656.85	35,500±707.11	43.22
	O&G (mg/l)	1,595±130.81	950±3.54	40.44
	TS (mg/l)	30,975±2,736.50	25,805±2,467.80	16.69
	SS (mg/l)	26,180±2,347.59	22,640±876.81	13.52
	VS (mg/l)	27,880±254.56	25,040±311.13	10.19
	Alkalinity (mg/l)	1,705±21.21	825±35.36	51.61
	VFA (mg/l)	2,845±63.64	1,030±56.57	63.80
น้ำปาล์มทิ้ง ตกตะกอน + เอนไซม์อิสระ	pH	7.28±0.04	6.44±0.01	-
	TCOD (mg/l)	56,000±2,828.43	26,500±1,414.21	52.68
	SCOD (mg/l)	55,000±2,828.43	22,000±2,828.43	60.00
	O&G (mg/l)	1,254±53.03	420±17.68	66.51
	TS (mg/l)	43,680±3,026.42	34,125±1,124.30	21.88
	SS (mg/l)	20,170±240.42	17,350±466.69	13.98
	VS (mg/l)	26,650±353.55	24,710±834.39	14.78
	Alkalinity (mg/l)	1,295±42.43	465±21.21	64.09
	VFA (mg/l)	4,155±21.21	1,190±56.57	71.36
น้ำปาล์มทิ้ง ตกตะกอน + เอนไซม์ตรึงรูป	pH	7.50±0.04	6.44±0.01	-
	TCOD (mg/l)	58,000±2,828.43	29,500±2,121.32	49.14
	SCOD (mg/l)	50,000±2828.43	23,500±707.11	53.00
	O&G (mg/l)	1,279±81.32	536±14.14	58.09
	TS (mg/l)	38,485±799.03	30,970±480.83	19.53
	SS (mg/l)	19,980±141.42	17,150±353.55	14.16
	VS (mg/l)	25,970±42.43	22,890±692.96	11.86
	Alkalinity (mg/l)	1,480±70.71	695±21.21	53.04
	VFA (mg/l)	4,090±14.14	1,380±42.43	66.26

ตารางภาคผนวกที่ ก-4 ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลก่อนและหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่อัตราส่วนการหมักต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสียก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสียหลังหมัก	ร้อยละการบำบัด
480:20	pH	8.49±0.02	4.77±0.01	-
	TCOD (mg/l)	173,333±5,773.50	164,333±2,081.67	5.19
	SCOD (mg/l)	159,000±4,242.64	132,000±6,000.00	16.98
	O&G (mg/l)	17,425±106.07	16,200±282.84	7.03
	TS (mg/l)	126,500±707.11	124,100±1,979.90	1.90
	SS (mg/l)	43,300±485.39	43,033±75.72	0.62
	VS (mg/l)	43,450±777.82	42,700±282.84	1.73
	Alkalinity (mg/l)	6,400±70.71	5,963±53.03	6.83
	VFA (mg/l)	1,093.75±44.19	956.25±26.52	12.57
450:50	pH	8.05±0.03	5.45±0.11	-
	TCOD (mg/l)	183,000±5,773.50	171,000±2,000.00	6.73
	SCOD (mg/l)	162,000±9,165.15	134,000±5,656.85	17.28
	O&G (mg/l)	17,630±56.57	15,965±21.21	9.44
	TS (mg/l)	135,800±282.84	131,750±1,060.66	2.98
	SS (mg/l)	45,200±1,436.80	44,567±547.84	1.41
	VS (mg/l)	45,390±707.11	43,550±2,050.61	4.05
	Alkalinity (mg/l)	6,813±88.39	6,013±53.03	11.74
	VFA (mg/l)	1,112.5±17.68	912.5±53.03	17.98
400:100	pH	7.81±0.02	6.16±0.01	-
	TCOD (mg/l)	200,000±7,320.51	181,667±2,081.67	9.17
	SCOD (mg/l)	172,000±4,618.80	138,000±5,656.85	19.77
	O&G (mg/l)	17,710±14.14	15,390±70.71	13.10
	TS (mg/l)	141,750±1,060.66	138,000±1,555.63	3.35
	SS (mg/l)	51,133±957.98	50,040±60.00	2.14
	VS (mg/l)	47,700±565.69	45,105±459.62	5.44
	Alkalinity (mg/l)	7,075±35.36	5,800±282.84	18.02
	VFA (mg/l)	1,237.5±17.68	937.5±53.03	24.24

ตารางภาคผนวกที่ ก-4 (ต่อ) ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลก่อนและหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่อัตราส่วนการหมักต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสีย ต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การ บำบัด
350:150	pH	7.70±0.02	6.13±0.06	-
	TCOD (mg/l)	204,000±9,000.00	180,000±7,081.67	11.76
	SCOD (mg/l)	184,000±8,000.00	144,000±2,000.00	21.74
	O&G (mg/l)	17,875±106.07	15,075±106.07	15.66
	TS (mg/l)	148,800±282.84	141,100±848.53	5.17
	SS (mg/l)	52,000±310.48	49,987±90.18	3.87
	VS (mg/l)	49,100±141.42	45,595±1,704.13	7.14
	Alkalinity (mg/l)	7,482±26.16	5,431±203.29	27.41
	VFA (mg/l)	1,450±35.36	950±1,031.25	34.48
300:200	pH	7.65±0.04	6.06±0.04	-
	TCOD (mg/l)	208,000±6,928.20	175,000±5,686.24	15.87
	SCOD (mg/l)	192,000±9,618.80	147,000±14,142.14	23.44
	O&G (mg/l)	17,950±141.42	14,750±70.71	17.83
	TS (mg/l)	158,350±494.97	148,600±565.69	6.16
	SS (mg/l)	54,213±331.26	51,793±384.36	4.46
	VS (mg/l)	53,840±1,923.33	49,050±212.13	8.90
	Alkalinity (mg/l)	7,663±123.74	5,075±35.35	33.77
	VFA (mg/l)	1,400±70.71	1,055±70.71	37.94

ตารางภาคผนวกที่ ก-4 (ต่อ) ลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลก่อนและหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่อัตราส่วนการหมักต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสียก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสียหลังหมัก	ร้อยละการบำบัด
250:250	pH	7.44±0.05	5.78±0.14	-
	TCOD (mg/l)	212,000±6,928.20	165,667±7,094.60	21.86
	SCOD (mg/l)	196,000±12,220.20	140,000±14,142.14	28.57
	O&G (mg/l)	18,025±35.36	13,885±35.36	22.97
	TS (mg/l)	164,500±707.11	151,250±1,060.66	8.05
	SS (mg/l)	60,500±220.00	56,333±366.79	6.89
	VS (mg/l)	59,300±424.26	53,500±141.42	9.78
	Alkalinity (mg/l)	7,782±115.26	4,781±44.19	38.56
	VFA (mg/l)	1,468.8± 8.84	862.5± 88.39	41.28
200:300	pH	7.44±0.05	5.78±0.14	-
	TCOD (mg/l)	225,000±7,071.07	141,000±5,773.50	37.33
	SCOD (mg/l)	220,000±6,928.20	125,000±8,000.00	43.18
	O&G (mg/l)	18,135±63.64	12,700±282.84	29.97
	TS (mg/l)	168,550±777.82	150,100±1,272.79	10.94
	SS (mg/l)	61,807±277.37	56,847±352.33	8.02
	VS (mg/l)	60,700±989.95	51,150±6,858.94	15.73
	Alkalinity (mg/l)	8,225±70.71	4,763±88.39	42.09
	VFA (mg/l)	1,629±26.52	937.5±17.68	42.45

ตารางภาคผนวกที่ ก-5 ลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วย เอนไซม์
อิสระก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนการหมักต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อ หัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละการ บำบัด
480:20	pH	6.94±0.04	6.02±0.00	-
	TCOD (mg/l)	60,333±1,527.53	49,667±3,214.55	17.68
	SCOD (mg/l)	27,333±2,516.61	20,000±1,414.21	26.82
	O&G (mg/l)	6,008±116.67	5,100±110.31	15.11
	TS (mg/l)	136,055±77.78	131,055±289.91	3.40
	SS (mg/l)	49,180±395.98	47,740±1,583.92	2.93
	VS (mg/l)	67,280±28.28	65,640±254.56	2.43
	Alkalinity (mg/l)	4,338±300.52	3,131±8.84	27.82
	VFA (mg/l)	1,419±26.87	956.25±26.52	32.61
450:50	pH	6.84±0.04	5.82±0.03	-
	TCOD (mg/l)	63,167±2,254.62	48,833±763.76	22.69
	SCOD (mg/l)	29,500±500.00	18,000±7,071.07	38.98
	O&G (mg/l)	6,353±470.23	4,956±31.11	21.99
	TS (mg/l)	138,275±1,513.21	131,640±954.59	4.80
	SS (mg/l)	52,960±141.42	51,240±1,103.09	3.25
	VS (mg/l)	70,370±438.41	67,520±226.27	4.05
	Alkalinity (mg/l)	4,525±35.34	3,138±53.03	30.65
	VFA (mg/l)	1,595±70.71	962.5±17.68	39.66
400:100	pH	6.73±0.01	5.72±0.01	-
	TCOD (mg/l)	66,500±1,802.78	43,000±1,732.05	35.34
	SCOD (mg/l)	31,000±2,000.00	17,000±1,414.21	45.16
	O&G (mg/l)	6,718±208.60	4,278±39.60	36.32
	TS (mg/l)	138,490±664.68	139,085±247.49	8.34
	SS (mg/l)	54,640±1,866.76	55,000±141.42	7.93
	VS (mg/l)	73,070±664.68	71,960±197.99	6.99
	Alkalinity (mg/l)	4,938±88.39	3,538±53.03	38.48
	VFA (mg/l)	1,688±53.03	993.75±61.87	44.31

ตารางภาคผนวกที่ ก-5 (ต่อ) ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น
ด้วยเอนไซม์อิสระก่อนและหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่
อัตราส่วนการหมักต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสีย ต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
350:150	pH	6.63±0.03	5.48±0.02	-
	TCOD (mg/l)	69,833±1,040.83	42,000±1,000.00	39.86
	SCOD (mg/l)	34,000±2,000.00	17,000±2,828.43	50.00
	O&G (mg/l)	6,378±173.24	3,697±46.67	42.04
	TS (mg/l)	141,100±1,555.63	128,175±35.36	9.16
	SS (mg/l)	61,230±834.37	56,740±1,329.36	7.33
	VS (mg/l)	76,790±1,088.94	72,940±1,244.51	5.01
	Alkalinity (mg/l)	5,438±88.39	3,200±35.36	41.15
	VFA (mg/l)	1,890±17.68	1,000±990.00	47.09
300:200	pH	6.85±0.06	5.43±0.02	-
	TCOD (mg/l)	73,833±3,329.16	39,333±1,527.53	46.73
	SCOD (mg/l)	37,333±2,516.61	14,000±8,485.28	62.50
	O&G (mg/l)	6,313±236.88	3,251±4.24	48.50
	TS (mg/l)	143,380±3,210.26	142,355±360.62	11.18
	SS (mg/l)	64,380±339.41	63,810±551.54	7.10
	VS (mg/l)	82,550±806.10	79,120±1,103.09	4.16
	Alkalinity (mg/l)	5,513±194.45	2,975±35.36	46.04
	VFA (mg/l)	1,900±35.36	900±35.36	52.63

ตารางภาคผนวกที่ ก-5 (ต่อ) ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น
ด้วยเอนไซม์อิสระก่อนและหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่
อัตราส่วนการหมักต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสีย ต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
250:250	pH	6.58±0.03	5.41±0.01	-
	TCOD (mg/l)	79,833±1,443.38	32,500±2,291.29	59.29
	SCOD (mg/l)	41,333±2,929.73	12,500±8,485.28	69.76
	O&G (mg/l)	6,038±180.31	2,895±60.81	52.05
	TS (mg/l)	146,590±2,177.89	127,800±1,060.66	12.82
	SS (mg/l)	67,350±2,531.44	60,470±466.69	10.22
	VS (mg/l)	84,380±1,753.62	80,530±692.96	9.30
	Alkalinity (mg/l)	5,725±35.36	3,031±26.52	47.06
	VFA (mg/l)	2,088±53.03	993.5±9.19	52.42
200:300	pH	6.43±0.06	5.315±0.01	-
	TCOD (mg/l)	84,000±763.76	25,000±2,081.67	69.68
	SCOD (mg/l)	45,333±3,329.16	9,500±2,121.32	79.04
	O&G (mg/l)	5,805±127.28	2,015±24.04	65.29
	TS (mg/l)	149,110±1,583.92	125,425±445.48	15.88
	SS (mg/l)	72,710±466.69	62,760±1,753.62	13.68
	VS (mg/l)	91,080±1,753.62	80,440±509.12	11.68
	Alkalinity (mg/l)	5,988±88.39	2,806±44.19	53.14
	VFA (mg/l)	2,144±8.84	987.5±3.54	65.87

ตารางภาคผนวกที่ ก-6 ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้นด้วย เอนไซม์ตรึงรูปก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อ หัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
480:20	pH	7.19±0.04	6.62±0.05	-
	TCOD (mg/l)	62,000±2,828.43	55,500±707.11	10.48
	SCOD (mg/l)	40,750±3,181.98	29,000±12,727.92	28.83
	O&G (mg/l)	6,893±3.54	6,232±120.21	9.59
	TS (mg/l)	133,080±169.71	129,400±1,979.90	2.77
	SS (mg/l)	48,640±593.97	47,520±848.53	2.30
	VS (mg/l)	61,610±834.39	60,390±127.28	1.98
	Alkalinity (mg/l)	6,400±70.71	5,463±53.03	14.64
	VFA (mg/l)	1,335±21.21	1,120±14.14	16.10
450:50	pH	7.15±0.05	6.47±0.04	-
	TCOD (mg/l)	65,500±707.11	54,250±1,767.77	16.54
	SCOD (mg/l)	43,000±707.11	27,000±1,414.21	37.21
	O&G (mg/l)	7,005±28.28	5,885±137.89	15.99
	TS (mg/l)	137,900±197.99	132,935±1,209.15	3.60
	SS (mg/l)	51,550±636.40	49,820±622.25	3.36
	VS (mg/l)	63,750±1,060.66	60,370±3,068.84	2.16
	Alkalinity (mg/l)	3,960±56.57	3,180±84.85	19.70
	VFA (mg/l)	1,460±56.57	1,165±7.07	20.21
400:100	pH	7.04±0.06	6.12±0.16	-
	TCOD (mg/l)	69,250±1,060.66	50,500±707.11	27.08
	SCOD (mg/l)	46,000±2,828.43	24,500±10,606.60	46.74
	O&G (mg/l)	7,240±353.55	5,292±148.49	26.91
	TS (mg/l)	140,335±968.74	130,285±615.18	7.16
	SS (mg/l)	54,020±989.95	50,990±70.71	5.61
	VS (mg/l)	67,630±3,379.97	64,310±1,937.47	4.91
	Alkalinity (mg/l)	4,145±63.63961031	3,095±7.07	25.33
	VFA (mg/l)	1,590±28.28	1,005±14.14	36.79

ตารางภาคผนวกที่ ก-6 (ต่อ) ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น
ด้วยเอนไซม์ตรึงรูปก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่
อัตราส่วนต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสีย ต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
350:150	pH	6.95±0.01	5.96±0.05	-
	TCOD (mg/l)	72,750±1,060.66	46,000±1,414.21	36.78
	SCOD (mg/l)	49,750±353.55	24,500±707.11	50.75
	O&G (mg/l)	7,460±91.92	4,757±28.28	36.23
	TS (mg/l)	144,590±3,507.25	131,600±1,979.90	8.98
	SS (mg/l)	58,320±141.42	54,330±919.24	6.84
	VS (mg/l)	71,650±919.24	67,920±2,291.03	5.21
	Alkalinity (mg/l)	4,625±106.07	3,030±197.99	34.49
	VFA (mg/l)	1,700±14.14	995±106.07	41.47
300:200	pH	6.79±0.15	5.76±0.01	-
	TCOD (mg/l)	76,000±2,828.43	38,000±2,828.43	50.00
	SCOD (mg/l)	50,000±1,414.21	23,500±3,535.53	53.00
	O&G (mg/l)	7,570±14.14	3,797±56.57	49.84
	TS (mg/l)	149,510±3,521.39	132,905±1,421.28	11.11
	SS (mg/l)	62,470±1,767.77	56,660±791.96	9.30
	VS (mg/l)	76,000±3,111.27	71,740±650.54	5.61
	Alkalinity (mg/l)	4,950±84.85	3,130±183.85	36.77
	VFA (mg/l)	1,715±49.50	870±28.28	49.27

ตารางภาคผนวกที่ ก-6 (ต่อ) ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดเบื้องต้น
ด้วยเอนไซม์ตรึงรูปก่อนและหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่
อัตราส่วนการหมักต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสีย ต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
250:250	pH	6.52±0.04	5.53±0.03	-
	TCOD (mg/l)	80,750±1,060.66	35,000±1,414.21	56.66
	SCOD (mg/l)	57,500±3,535.53	23,000±2,828.43	60.00
	O&G (mg/l)	7,523±639.93	3,537±28.28	52.98
	TS (mg/l)	154,520±721.25	134,555±2,199.10	12.92
	SS (mg/l)	66,970±42.43	60,210±1,258.65	10.12
	VS (mg/l)	80,650±2,333.45	74,350±1,173.80	7.81
	Alkalinity (mg/l)	5,200±113.14	3,165±21.21	39.13
	VFA (mg/l)	1,885±49.50	960±28.28	49.07
200:300	pH	6.46±0.02	5.42±0.02	-
	TCOD (mg/l)	85,250±1,767.77	28,500±707.11	64.81
	SCOD (mg/l)	59,750±1,060.66	19,000±4,242.64	68.20
	O&G (mg/l)	7,648±60.10	3,135±31.82	59.01
	TS (mg/l)	160,600±820.24	146,965±799.03	14.09
	SS (mg/l)	71,260±480.83	62,400±961.67	12.43
	VS (mg/l)	85,710±410.12	79,240±1,301.08	8.72
	Alkalinity (mg/l)	5,730±197.99	3,625±120.21	47.21
	VFA (mg/l)	2,100±28.28	1,100±42.43	55.87

ตารางภาคผนวกที่ ก-7 ลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดก่อนใช้
เอนไซม์บำบัดขั้นต้นก่อนและหลังบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อ หัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
480:20	pH	4.07±0.07	6.19±0.11	-
	TCOD (mg/l)	34,000±3,098.39	29,667±2,081.67	12.74
	SCOD (mg/l)	18,333±1,527.53	14,667±2,081.67	20.00
	O&G (mg/l)	788.3±2.89	711±29.70	9.81
	TS (mg/l)	13,025±106.07	12,050±70.71	7.49
	SS (mg/l)	2,230±172.43	2,090±80	6.28
	VS (mg/l)	7,985±190.92	7,295±233.35	8.64
	Alkalinity (mg/l)	631±132.58	505±7.07	19.97
	VFA (mg/l)	1,045±35.36	795±21.21	23.92
450:50	pH	5.19±0.02	6.40±0.03	-
	TCOD (mg/l)	38,000±4,898.98	31,667±2,516.61	16.67
	SCOD (mg/l)	20,333±2,081.67	14,667±3,055.05	27.87
	O&G (mg/l)	760±8.66	646±33.94	11.05
	TS (mg/l)	13,435±21.21	12,100±14.14	9.94
	SS (mg/l)	3,090±111.36	2,820±20.00	8.74
	VS (mg/l)	8,895±77.78	8,090±127.28	9.05
	Alkalinity (mg/l)	1,418.8±150.26	1,075±35.36	24.23
	VFA (mg/l)	1,225±35.36	905±49.50	26.12
400:100	pH	5.92±0.03	6.60±0.06	-
	TCOD (mg/l)	43,333±1,154.70	33,333±1,527.53	23.08
	SCOD (mg/l)	24,667±2,516.61	15,667±2,081.67	36.49
	O&G (mg/l)	741.7±2.89	596±33.94	19.64
	TS (mg/l)	13,905±7.07	12,385±21.21	10.93
	SS (mg/l)	4,130±131.15	3,740±468.61	9.44
	VS (mg/l)	9,880±28.28	8,980±169.71	9.11
	Alkalinity (mg/l)	2,356.3±26.52	1,750±141.42	25.73
	VFA (mg/l)	1,350±35.36	970±21.21	28.15

ตารางภาคผนวกที่ ก-7 (ต่อ) ลักษณะทางเคมีของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอช ด้วยกรดก่อนใช้เอนไซม์บำบัดเบื้องต้นก่อนและหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่อัตราส่วนการหมักต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสียก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสียหลังหมัก	ร้อยละการบำบัด
350:150	pH	6.14±0.16	6.73±0.03	-
	TCOD (mg/l)	55,000±5,000.00	37,000±1,000.00	32.73
	SCOD (mg/l)	28,000±3,605.55	15,667±2,081.67	44.05
	O&G (mg/l)	723.3±5.77	546±22.63	24.48
	TS (mg/l)	14,435±49.50	12,035±49.50	16.63
	SS (mg/l)	5,210±253.25	4,413±30.55	15.30
	VS (mg/l)	11,150±212.13	9,510±28.28	14.71
	Alkalinity (mg/l)	2,796±277.19	2,045±35.36	26.86
	VFA (mg/l)	1,476±17.68	1,010±35.36	31.57
300:200	pH	6.81±0.01	6.90±0.10	-
	TCOD (mg/l)	58,500±3,331.67	35,167±763.76	39.89
	SCOD (mg/l)	32,500±1,802.78	15,333±3,055.05	52.82
	O&G (mg/l)	691.7±2.89	475±35.36	31.33
	TS (mg/l)	14,990±14.14	11,810±14.14	21.21
	SS (mg/l)	6,290±291.43	5,0320±363.87	20.19
	VS (mg/l)	13,085±21.21	10,525±728.32	19.56
	Alkalinity (mg/l)	3,302±35.36	2,175±21.21	34.13
	VFA (mg/l)	1,650±35.36	1,080±0.00	34.55

ตารางภาคผนวกที่ ก-7 (ต่อ) ลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรด ก่อนใช้เอนไซม์บำบัดขั้นต้นก่อนและหลังบำบัดในระบบไร้อากาศที่ อัตราส่วนต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อ หัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
250:250	pH	7.24±0.01	7.05±0.07	-
	TCOD (mg/l)	62,000±6,000.00	32,667±2,081.67	47.31
	SCOD (mg/l)	32,500±1,802.78	14,333±2,516.61	55.90
	O&G (mg/l)	693±2.52	400±7.07	42.27
	TS (mg/l)	15,545±63.64	10,345±63.64	33.45
	SS (mg/l)	7,430±253.25	5,193±197.32	30.11
	VS (mg/l)	14,450±636.40	10,425±671.75	27.85
	Alkalinity (mg/l)	4,125±59.40	2,263±53.03	45.14
	VFA (mg/l)	1,575±35.36	832±67.18	47.17
200:300	pH	7.75±0.06	7.2±0.11	-
	TCOD (mg/l)	63,667±3,881.58	35,000±1,000.00	45.03
	SCOD (mg/l)	36,333±3,214.55	17,000±2,309.40	53.21
	O&G (mg/l)	658.3±7.64	430±14.14	34.68
	TS (mg/l)	16,070±42.43	10,770±56.57	32.98
	SS (mg/l)	8,620±192.18	6,740±260.00	21.81
	VS (mg/l)	17,000±141.42	12,650±735.39	25.59
	Alkalinity (mg/l)	4,625±59.40	2,753±10.61	40.48
	VFA (mg/l)	1,763±53.03	970±14.14	44.98

ตารางภาคผนวกที่ ก-8 ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดและ
เอนไซม์อิสระก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อ หัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
480:20	pH	7.35±0.02	4.66±0.00	-
	TCOD (mg/l)	20,500±707.11	14,750±353.55	28.05
	SCOD (mg/l)	14,000±26,000.00	9,500±2,121.32	32.14
	O&G (mg/l)	728±21.21	574±10.61	21.15
	TS (mg/l)	23,825±190.92	21,760±197.99	8.67
	SS (mg/l)	6,230±98.99	5,820±226.27	6.58
	VS (mg/l)	13,058 ±10.61	11,985±14.14	8.22
	Alkalinity (mg/l)	1,513±53.03	1,018±17.68	32.72
	VFA (mg/l)	1,098±3.54	700±7.071	36.23
450:50	pH	7.33±0.01	4.62±0.00	-
	TCOD (mg/l)	23,000±1,414.21	15,500±707.11	32.61
	SCOD (mg/l)	17,000± 0.00	11,000±0.00	35.29
	O&G (mg/l)	816±10.61	579±24.75	29.04
	TS (mg/l)	24,160±141.42	21,870±169.71	9.48
	SS (mg/l)	8,570±212.13	7,930±466.69	7.47
	VS (mg/l)	13,983±3.54	12,800±21.21	8.46
	Alkalinity (mg/l)	1,603±3.54	1,008±10.61	37.12
	VFA (mg/l)	1,298±10.61	775±3.54	40.29
400:100	pH	7.33±0.03	4.53±0.00	-
	TCOD (mg/l)	24,000±1,414.21	14,250±353.55	40.63
	SCOD (mg/l)	19,500±1,414.21	11,000±1,414.21	43.59
	O&G (mg/l)	973±14.14	629±3.54	35.35
	TS (mg/l)	27,290±254.56	24,265±374.77	11.08
	SS (mg/l)	10,820±169.71	9,940±84.85	8.13
	VS (mg/l)	14,635±28.28	13,315±49.50	9.02
	Alkalinity (mg/l)	1,693±10.61	990±10.61	41.52
	VFA (mg/l)	1,935±14.14	1,053±3.54	45.58

ตารางภาคผนวกที่ ก-8 (ต่อ) ลักษณะน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรด และเอนไซม์อิสระก่อนและหลังการบำบัดในระบบหมักไร้อากาศที่ อัตราส่วนต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสีย ต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
350:150	pH	7.23±0.01	4.48±0.04	-
	TCOD (mg/l)	26,500±2,121.32	13,550±353.55	48.87
	SCOD (mg/l)	21,000±2,828.43	10,000±1,414.21	52.38
	O&G (mg/l)	1,103±28.28	591±21.21	46.42
	TS (mg/l)	29,975±21.21	25,900±42.43	13.59
	SS (mg/l)	14,400±254.56	12,550±155.56	12.85
	VS (mg/l)	15,270±42.43	13,508±74.25	11.54
	Alkalinity (mg/l)	1,778±31.82	965±7.07	45.73
	VFA (mg/l)	1,473±10.61	730±14.14	50.44
300:200	pH	7.19±0.02	5.89±0.08	-
	TCOD (mg/l)	27,500±707.11	11,750±353.55	57.27
	SCOD (mg/l)	23,500±2,121.32	9,500±2,828.43	59.57
	O&G (mg/l)	1,531±123.74	711±28.28	53.56
	TS (mg/l)	33,195±120.21	27,100±70.71	18.36
	SS (mg/l)	18,790±127.28	16,120±1,612.20	14.21
	VS (mg/l)	16,658±17.68	14,068±31.82	15.55
	Alkalinity (mg/l)	1,868±10.61	890±14.14	52.36
	VFA (mg/l)	1,575±7.07	695±49.50	55.87

ตารางภาคผนวกที่ ก-8 (ต่อ) ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดและเอนไซม์อิสระก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสียก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสียหลังหมัก	ร้อยละการบำบัด
250:250	pH	7.08±0.07	6.08±0.00	-
	TCOD (mg/l)	28,000±1,414.21	8,900±141.42	68.21
	SCOD (mg/l)	25,000±1,414.21	7,000±2,828.43	72.00
	O&G (mg/l)	1,691±38.89	580±38.89	65.70
	TS (mg/l)	32,725±247.49	25,605±21.21	21.76
	SS (mg/l)	22,970±42.43	18,600±113.14	19.02
	VS (mg/l)	18,970±7.07	15,475±42.43	18.42
	Alkalinity (mg/l)	2,015±7.07	860±14.14	57.32
	VFA (mg/l)	1,770±21.21	535±49.50	69.77
200:300	pH	7.03±0.01	6.55±0.01	-
	TCOD (mg/l)	29,500±707.11	6,900±141.42	76.61
	SCOD (mg/l)	27,500±3,535.53	5,500±707.11	80.00
	O&G (mg/l)	2,021±31.82	632±28.28	68.73
	TS (mg/l)	35,715±219.20	26,200±127.30	26.64
	SS (mg/l)	25,790±14.14	19,830±98.99	23.11
	VS (mg/l)	20,090±21.21	15,058±17.68	25.05
	Alkalinity (mg/l)	2,093±3.54	720±10.61	65.60
	VFA (mg/l)	2,090±7.07	525±10.61	74.88

ตารางภาคผนวกที่ ก-9 ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดและ
เอนไซม์ตั้งรูปก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสียต่อ หัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
480:20	pH	7.34±0.07	6.94±0.02	-
	TCOD (mg/l)	25,000±1,414.21	19,500±2,121.32	22.00
	SCOD (mg/l)	19,500±707.11	16,000±1,414.21	17.95
	O&G (mg/l)	909±14.14	773±24.75	14.96
	TS (mg/l)	18,775±332.34	17,425±190.92	7.19
	SS (mg/l)	2,890±155.56	2,720±268.70	5.88
	VS (mg/l)	12,325±813.17	11,705±289.91	5.03
	Alkalinity (mg/l)	1,425±49.50	1,215±49.50	14.74
	VFA (mg/l)	2,215±162.63	1,760±28.28	20.54
450:50	pH	7.13±0.03	6.82±0.02	-
	TCOD (mg/l)	26,500±2,121.32	19,500±707.11	26.42
	SCOD (mg/l)	21,000±1,414.21	14,500±707.11	30.95
	O&G (mg/l)	964±14.14	768±17.68	20.33
	TS (mg/l)	20,225±91.92	18,550±70.71	8.28
	SS (mg/l)	4,220±254.56	3,940±226.27	6.64
	VS (mg/l)	15,115±162.63	13,920±523.26	7.91
	Alkalinity (mg/l)	2,160±56.57	1,480±28.28	31.48
	VFA (mg/l)	2,440±84.85	1,475±35.36	39.55
400:100	pH	6.99±0.01	6.70±0.08	-
	TCOD (mg/l)	28,000±1,414.21	18,750±353.55	33.04
	SCOD (mg/l)	24,500±707.11	15,500±707.11	36.73
	O&G (mg/l)	1,029±14.14	773±45.96	24.88
	TS (mg/l)	22,995±63.64	20,695±544.47	10.00
	SS (mg/l)	5,940±197.99	5,490±466.69	7.58
	VS (mg/l)	17,230±169.71	15,890±509.12	7.78
	Alkalinity (mg/l)	2,825±21.21	1,740±42.43	38.41
	VFA (mg/l)	2,575±21.21	1,380±28.28	46.41

ตารางภาคผนวกที่ ก-9 (ต่อ) ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดและ เอนไซม์ตั้งรูปก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสีย ต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
350:150	pH	6.69±0.08	6.53±0.04	-
	TCOD (mg/l)	30,500±707.11	17,750±1,767.77	41.80
	SCOD (mg/l)	27,500±707.11	15,500±707.11	43.62
	O&G (mg/l)	1,134±28.28	803±3.54	29.19
	TS (mg/l)	23,865±63.64	20,765±190.92	12.99
	SS (mg/l)	8,320±141.42	7,510±834.39	9.74
	VS (mg/l)	19,185±106.07	17,470±523.26	8.94
	Alkalinity (mg/l)	3,480±28.28	1,925±21.21	44.68
	VFA (mg/l)	2,705±21.21	1,415±7.07	47.69
300:200	pH	6.55±0.01	6.28±0.03	-
	TCOD (mg/l)	33,750±1,060.66	17,250±1767.77	48.89
	SCOD (mg/l)	31,500±707.11	13,500±2,121.32	57.14
	O&G (mg/l)	1,264±42.43	758±3.54	40.03
	TS (mg/l)	24,320±183.85	20,530±183.85	15.58
	SS (mg/l)	14,220±226.274	12,260±197.99	13.78
	VS (mg/l)	21,030±113.14	18,020±28.28	14.31
	Alkalinity (mg/l)	4,535±49.50	2,380±28.28	47.52
	VFA (mg/l)	2,825±35.36	1,420±127.28	49.73

ตารางภาคผนวกที่ ก-9 (ต่อ) ลักษณะของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการปรับพีเอชด้วยกรดและ
เอนไซม์ตรึงรูปก่อนและหลังการบำบัดในระบบไร้อากาศที่อัตราส่วนต่างๆ

อัตราส่วนน้ำเสีย ต่อหัวเชื้อจุลินทรีย์ (V/V)	พารามิเตอร์ที่ วิเคราะห์	ลักษณะน้ำเสีย ก่อนหมัก	ลักษณะน้ำเสีย หลังหมัก	ร้อยละ การบำบัด
250:250	pH	6.24±0.30	5.95±0.07	-
	TCOD (mg/l)	36,500±2,121.32	15,000±1414.21	58.90
	SCOD (mg/l)	35,500±3,535.53	12,750±353.55	64.08
	O&G (mg/l)	1,411±101.82	740±28.28	47.55
	TS (mg/l)	25,200±42.43	20,565±275.77	18.39
	SS (mg/l)	18,530±155.56	15,230±268.70	17.81
	VS (mg/l)	22,135±106.07	18,015±162.63	18.61
	Alkalinity (mg/l)	5,070±56.57	2,448±31.11	51.72
	VFA (mg/l)	2,960±14.14	995±21.21	66.39
200:300	pH	5.90±0.01	5.73±0.04	-
	TCOD (mg/l)	39,500±707.11	12,250±353.55	68.99
	SCOD (mg/l)	42,500±2,121.32	13,000±1,414.21	69.41
	O&G (mg/l)	1,559±14.14	605±28.28	61.19
	TS (mg/l)	26,790±254.56	20,470±113.14	23.59
	SS (mg/l)	21,810±155.56	17,160±480.83	21.32
	VS (mg/l)	24,815±77.78	20,285±63.64	18.26
	Alkalinity (mg/l)	5,965±63.64	2,170±56.57	63.62
	VFA (mg/l)	3,125±91.92	925±35.36	70.40

ตารางภาคผนวกที่ ก-10 ปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมัน
ปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ไม่ผ่านการบำบัด

วันที่	น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม		น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	
	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน
1	120	28.82124	265	0.055498
	120	24.73627	265	0.087261
2	200	33.34604	350	0.233526
	200	30.64637	350	0.236044
3	198	46.37999	127	1.20982
	198	50.50335	127	1.789545
4	245	54.57748	285	1.37315
	245	55.46998	285	1.27914
5	380	21.89403	190	3.3464
	380	28.61688	190	4.15297
6	290	36.40927	200	3.65623
	290	39.50241	200	3.64038
7	290	44.95264	149	5.37772
	290	42.59431	149	4.61764
8	336	38.46033	195	3.23503
	336	37.49119	195	1.456511
9	258	50.46469	155	1.07244
	258	46.91989	155	1.34734
10	230	41.16515	32	2.4664
	230	43.61561	32	2.54145
11	165	39.65968	70	0.035975
	165	37.05219	70	0.03456
12	90	46.03501	25	0.11552
	90	37.84177	25	0.117

ตารางภาคผนวกที่ ก-10 (ต่อ) ปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มและน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ไม่ผ่านการบำบัด

วันที่	น้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม		น้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซล	
	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน
13	39	61.64320	-	-
	39	60.19258	-	-
14	10	26.43839	-	-
	10	26.13894	-	-
15	5	19.83265	-	-
	5	32.01928	-	-

ตารางภาคผนวกที่ ก-11 ปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป

วันที่	ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ		ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป	
	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน
1	300	32.31671	300	27.83942
	300	32.01837	300	27.00912
2	650	41.10783	450	33.66488
	650	41.85923	450	29.56098
3	500	49.50115	600	26.37000
	500	48.77913	600	26.35044
4	620	39.53203	480	33.52838
	620	38.57275	480	30.14068
5	800	24.50645	570	29.53357
	800	23.45128	570	27.30826
6	500	25.38397	735	20.16105
	500	25.09445	735	28.43902

ตารางภาคผนวกที่ ก-11 (ต่อ) ปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป

วันที่	ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ		ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป	
	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน
7	480	28.60332	485	38.82999
	480	29.60189	485	44.99125
8	585	56.85005	845	23.17748
	585	53.0326	845	24.57788
9	311	44.03113	465	47.23618
	311	40.89646	465	42.51143
10	345	32.38505	800	21.32276
	345	29.95754	800	28.92481
11	299	31.89641	505	36.62272
	299	30.45922	505	37.81239
12	425	34.09601	375	34.76219
	425	32.7022	375	33.29841
13	500	22.88283	290	28.21109
	500	21.63395	290	28.94162
14	325	32.78818	215	26.69616
	325	24.27659	215	25.35383
15	185	33.85701	125	28.30667
	185	32.11759	125	25.45084
16	250	27.87166	95	34.63937
	250	24.30678	95	36.68372
17	210	24.06488	60	33.28275
	210	24.56412	60	36.97811
18	150	25.22484	45	29.82639
	150	26.38047	45	28.10475

ตารางภาคผนวกที่ ก-11 (ต่อ) ปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนของน้ำเสียโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป

วันที่	ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ		ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป	
	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน
19	-	-	50	15.21879
	-	-	50	13.21790
20	-	-	10	15.91468
	-	-	10	15.03119

ตารางภาคผนวกที่ ก-12 ปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป

วันที่	ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ		ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป	
	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน
1	40	0.519174	80	2.12344
	40	0.557673	80	2.00110
2	25	10.60882	120	4.73450
	25	10.50648	120	4.48989
3	50	10.00394	140	6.54290
	50	10.3929	140	5.54300
4	155	8.80634	180	3.54053
	155	9.59369	180	3.61090
5	110	12.42653	190	6.01076
	110	12.71952	190	6.10210
6	155	18.98019	170	10.18688
	155	20.18377	170	9.10806
7	200	19.31834	225	8.72171
	200	18.64788	225	8.90222

ตารางภาคผนวกที่ ก-12 (ต่อ) ปริมาณก๊าซชีวภาพและเปอร์เซ็นต์มีเทนของน้ำเสียจากการผลิตไบโอดีเซลที่ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระและเอนไซม์ตรึงรูป

วันที่	ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์อิสระ		ผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ตรึงรูป	
	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน	ปริมาณก๊าซชีวภาพ (ml)	% มีเทน
8	210	18.55915	163	12.32655
	210	19.22918	163	11.90657
9	190	7.1619	135	14.82130
	190	7.7421	135	14.57000
10	340	6.87041	118	17.55763
	340	5.9849	118	15.89294
11	155	15.96184	110	10.2389
	155	15.60304	110	9.50436
12	120	34.56037	75	7.33924
	120	33.00516	75	8.02877
13	70	42.38214	35	8.47248
	70	41.94258	35	7.64494
14	55	10.322849	15	7.63290
	55	10.335455	15	7.90031
15	35	14.43133	8	3.81051
	35	16.0451	8	4.92529
16	32	10.71044	-	-
	32	11.37099	-	-
17	15	8.49	-	-
	15	6.84331	-	-

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์เอนไซม์

1. วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ตรีงรูป (Winkler and Struckmann, 1979)

1.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน *p*-nitrophenol

เจือจางสารละลาย *p*-nitrophenol (pNP) ความเข้มข้น 10 $\mu\text{mol/ml}$ ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 M พีเอช 8 ให้ได้ความเข้มข้น 0.25 $\mu\text{mol/ml}$ จากนั้นเจือจางต่อด้วยบัฟเฟอร์เดียวกันให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0-0.045 $\mu\text{mol/ml}$ จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 nm

1.2 วิธีการเตรียมสารเคมีในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไลเปส

1.2.1 ละลาย *p*-nitrophenoyl palmitate 30 mg ใน 2-โพรพานอลปริมาตร 10 ml

1.2.2 ละลาย Triton-x 100 ปริมาณ 0.4 g และ Gum arabic 0.1 g ในสารละลาย

โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 M พีเอช 8 ปริมาตร 90 ml

1.2.3 ละลายโซเดียมคาร์บอเนตปริมาณ 211.8 mg ในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรรวม 1,000 ml

1.3 วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสอิสระ

1.3.1 ให้เตรียมสารละลายเอนไซม์ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน ในที่นี้ใช้ความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์อิสระ 140 $\mu\text{g/ml}$

1.3.2 เติมสารละลายในข้อ 1.2.1 ปริมาตร 0.2 ml ผสมกับสารละลายในข้อ

1.2.2 ปริมาตร 1.8 ml ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน เติม

เอนไซม์ตรีงรูปที่เตรียมไว้จากข้อ 1.3.1 จากนั้นเขย่าให้เข้ากันอีกรอบ แล้วนำ

หลอดทดลองดังกล่าวไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 15 นาที

1.4 วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไลเปสตรีงรูป

1.4.1 ให้เตรียมสารละลายเอนไซม์ตรีงรูปที่ถูกตรึงลงบนแผ่นเมมเบรน ขนาดกว้าง 1 cm ยาว 1 cm จำนวน 1 แผ่น

1.4.2 เติมสารละลายในข้อ 1.2.1 ปริมาตร 0.2 ml ผสมกับสารละลายในข้อ

1.2.2 ปริมาตร 1.8 ml ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน เติม

เอนไซม์ตรีงรูปที่เตรียมไว้จากข้อ 1.4.1 จากนั้นเขย่าให้เข้ากันอีกรอบ แล้ว

นำหลอดทดลองดังกล่าวไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1.4.3 เมื่อครบเวลา หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายในข้อ 1.2.3 ปริมาตร 2.9 ml เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 5 นาที

1.4.4 หาปริมาณ *p*-nitrophenol โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 nm แล้วนำค่าที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน *p*-nitrophenol

กำหนดให้ 1 หน่วยของกิจกรรมเอนไซม์ หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสลาย *p*-nitrophenylpalmitate แล้วให้ *p*-nitrophenol เกิดขึ้น 1 μmol ภายในเวลา 1 นาที ในสภาวะทดสอบ

การคำนวณ

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์ตรีงรูป (หน่วยต่อกรัมโปรตีน)} = \frac{4.9 \text{ (มล.)} \times \text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 nm}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน } p\text{-nitrophenol}} \\ (15 \text{ นาที})(\text{ปริมาณโปรตีนที่ติดบนเมมเบรน, กรัม})$$

2. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ไลเปส (Bradford, 1976)

2.1 วิธีการเตรียมสารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

2.1.1 สารละลายสี เตรียมโดยละลายสารสี Coomassie brilliant blue G-250 100 mg ในเอทานอล (99.5%) ปริมาตร 50 ml เติมกรดฟอสฟอริก (85%) ลงไป 100 ml ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI ให้ได้เท่ากับ 200 ml แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41

2.1.2 สารละลายโปรตีนมาตรฐาน เตรียมสารละลายโปรตีนของ BSA (bovine serum albumin) ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/ml}$ โดยชั่ง BSA 50 mg ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากประจุให้ได้ 100 ml จากนั้นเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออน ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0-30 $\mu\text{g/ml}$ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายโปรตีน BSA

2.2 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเอนไซม์

- 2.2.1 ปิเปตตัวอย่างเอนไซม์ที่เจือจางด้วยบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์มา 10 ml (กรณีเป็นเอนไซม์อิสระ) ส่วนเอนไซม์ตรึงรูปให้นำสารละลายเอนไซม์ที่ถูกตรึงลงบนแผ่นพอลิเมอร์ 1x1 cm มาจำนวน 1 แผ่น
- 2.2.2 เติมน้ำกลั่นปราศจากไอออน 15 มิลลิลิตร (ปริมาตรรวมจะเป็น 25 ml)
- 2.2.3 ค้างมา 6 ml ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายสี 1.5 ml ลงในหลอดทดลองที่มีตัวอย่างอยู่ ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 5 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างและสารละลายโปรตีนมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 585 nm
- 2.2.4 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายโปรตีนเพื่อหาความเข้มข้นของโปรตีนของตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\text{ความเข้มข้นของโปรตีน } (\mu\text{g/ml}) = \frac{25 \text{ ml} \times \text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ } 585 \text{ nm} \times 7.5 \text{ ml}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐานโปรตีน BSA} \times 6 \text{ ml}}$$

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสีย

1. การวิเคราะห์ซีโอดีทั้งหมดและซีโอดีละลายน้ำ (Chemical Oxygen Demand)

โดยวิธีรีฟลักซ์แบบปิด (Close Reflux Method)

หลักการทั่วไป

การวิเคราะห์หาค่าซีโอดีเป็นการวัดความสกปรกของน้ำเสีย โดยคิดเปรียบเทียบในรูปของปริมาณออกซิเจนที่ต้องการใช้ในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ โดยใช้สารเคมีซึ่งมีอำนาจในการออกซิไดส์สูงในสารละลายที่เป็นกรดแก่ ในการวิเคราะห์หาค่าซีโอดีวิธีรีฟลักซ์โดยใช้ไดโครเมต (Dichromate) เป็นที่นิยมใช้กันมากกว่าการใช้สารออกซิเดชันชนิดอื่นๆ เนื่องจากความสามารถในการออกซิไดส์ใช้ได้กับตัวอย่างชนิดต่างๆ และวิธีวิเคราะห์ง่าย ออกซิไดส์สารอินทรีย์ต่างๆ ได้ประมาณ 95 ถึง 100 %

สิ่งรบกวนการวิเคราะห์

สารประกอบ diphatic ที่กลายเป็น ไอ ได้จะไม่ถูกออกซิไดส์ด้วยวิธีนี้ เนื่องจากสารอินทรีย์ที่กลายเป็น ไอ ได้ที่มีอยู่ในช่องว่างของไอน้ำ (vapor space) จะไม่สัมผัสกับตัวออกซิไดส์ที่เป็นของเหลว สารประกอบ diphatic จะถูกออกซิไดส์ได้มากเมื่อเติมซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ลงไป อย่างไรก็ตามซิลเวอร์ซัลเฟตจะทำปฏิกิริยากับคลอไรด์ โบรไมด์ และไอโอไดด์เกิดตะกอนซึ่งจะถูกออกซิไดส์เพียงบางส่วน แต่อุปสรรคส่วนใหญ่เกิดจากการที่มี halide อยู่ในน้ำตัวอย่าง ได้แก่ คลอไรด์ ดังนั้นเพื่อให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ก่อนทำการรีฟลักซ์ควรเติม $HgSO_4$ ลงไปในน้ำตัวอย่างและไม่ควรหาซีโอดีในน้ำตัวอย่างที่มีคลอไรด์มากกว่า 2,000 mg/L

การเก็บตัวอย่างและการเก็บรักษาสภาพตัวอย่าง

เก็บน้ำตัวอย่างใส่ในขวดแก้ว ในกรณีที่ไม่มีการปนเปื้อนจากสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในขวดเก็บตัวอย่างอาจใช้ขวดพลาสติกก็ได้ ถ้าไม่สามารถวิเคราะห์ได้ทันทีควรเติมกรดซัลฟูริกให้มีพีเอชประมาณ 2 แล้วเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดทดลองที่เป็นบอโรซิลิเกต ขนาด 16x100 มม. หรือ 20x150 มม. หรือ 25x150 มม. พร้อมทั้งฝาจุกที่บุด้วย TFE หรือใช้บอโรซิลิเกตแอมพูล (borosilicate ampules)
2. ฮีตติ้งบล็อก (heating block) เป็นอลูมิเนียมหล่อ (cast aluminum) มีช่องหลายๆ ช่องซึ่งมีความลึก 45-50 มม. เป็นช่องที่จะให้หลอดตั้งอยู่ได้พอดี
3. เครื่องให้ความร้อนหรือเตาอบ (block heater or oven)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์และวิธีการเตรียม

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (Potassiumdicromate) 0.05 N

ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง 4.903 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 167 มิลลิลิตร และเติมปรอทซัลเฟต (Hg_2SO_4) 33.3 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

2. กรดซัลฟิวริกเอเจนต์ (Sulfuric reagent)

เติมสารละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) (reagent grade) ลงในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ด้วยอัตราส่วนของซิลเวอร์ซัลเฟต 8.8 กรัม ต่อกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 ลิตร ทิ้งไว้ 2 วัน เพื่อให้ซิลเวอร์ซัลเฟตละลาย

3. สารละลายเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์ (Ferrou indicator)

ละลายฟิแนนโซลินโมโนไฮเดรต 1.485 กรัม และเฟอร์รัสซัลเฟตโมโนไฮเดรต ($FeSO_4 \cdot H_2O$) 0.695 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

4. สารมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ferrous Ammonium Sulfate) 0.025 N

ละลายไดแอมโมเนียมเฟอร์รัสไดซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot H_2O$) 39.00 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตหาได้โดยการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตดังนี้

- (1) งดสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตมา 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- (2) เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 30 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น
- (3) ไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตโดยใช้สารละลายเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์

การคำนวณ

$$\text{ความเข้มข้นของ FAS (N)} = \frac{\text{ปริมาตร } K_2Cr_2O_7 \text{ ที่ใช้ (mL)} \times \text{ความเข้มข้นของ } K_2Cr_2O_7 \text{ (N)}}{\text{ปริมาตร FAS ที่ใช้ไทเทรต (mL)}}$$

วิธีวิเคราะห์

1. เลือกใช้ปริมาตรน้ำตัวอย่างและสารเคมีที่เหมาะสม ตามตารางภาคผนวกที่ ข-1

ตารางภาคผนวกที่ ข-1 ขนาดของหลอดแก้ว ปริมาตรตัวอย่างน้ำและสารเคมีที่เหมาะสม

ขนาดหลอดย่อย (มม.)	ตัวอย่างน้ำ (mL)	สารละลาย $K_2Cr_2O_7$ (mL)	ซัลไฟริกเอเจนต์ (mL)	ปริมาตรทั้งหมด (mL)
16x100	2.5	1.5	3.5	7.5
20x150	5.0	3.0	7.0	15.0
25x150	10.0	6.0	14.0	30.0

2. เปิดตัวอย่างน้ำใส่ในหลอดย่อย เติมสารละลายที่ใช้ในการย่อย คือ สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 3 มิลลิลิตร

3. ค่อยๆ เทกรดซัลฟิวริกเอเจนต์ 7 มิลลิลิตร ปิดจุกหลอดแก้วให้แน่น เขย่าให้เข้ากัน

4. นำหลอดย่อยไปย่อยที่ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5. เปิดฝาจุก หยดเฟอโรอินอินดิเคเตอร์ประมาณ 2-3 หยด เขย่าให้เข้ากัน ไทเทรตด้วยเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง

การคำนวณ

$$COD (mg/L) = \frac{(A-B) \times N \times 80000}{V}$$

เมื่อ A = ปริมาตรของ FAS ที่ใช้ในการไทเทรตแบลงค์ (mL)

B = ปริมาตรของ FAS ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่างน้ำ (mL)

N = ความเข้มข้นของ FAS ที่ใช้ในการไทเทรต (N)

V = ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่ใช้ (mL)

2. ของแข็งแขวนลอย (Suspended Solid, SS)

โดยวิธี Gravimetric method

หลักการทั่วไป

กรองตัวอย่างน้ำผ่านกระดาษกรอง GF/C แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103-105 °C ละทำให้เย็นในโถทำแห้ง แล้วชั่งน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น คือ น้ำหนักของของแข็งแขวนลอยทั้งหมดต่อปริมาตรตัวอย่างน้ำที่ใช้

สิ่งรบกวนการวิเคราะห์

- อนุภาคส่วนที่ลอยน้ำหรือกึ่งลอยน้ำที่จับตัวเป็นก้อนใหญ่และไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ที่มีในตัวอย่งน้ำ ซึ่งอาจทำให้ได้ค่าไม่ถูกต้องนัก เนื่องจากไม่เป็นตัวแทนที่ดีของตัวอย่างน้ำ

- ตัวอย่างที่มีของแข็งละลายน้ำอยู่สูง เมื่อกรองตัวอย่างพวกวัตถุที่ละลายน้ำต่างๆ จะทำให้ใช้เวลาในการกรองนาน เนื่องจากวัตถุจะจับติดที่กระดาษกรอง ทำให้ได้ค่าเกินจริง เนื่องจากอุดตันบนกระดาษกรอง

ข้อควรระวัง

- ในการวิเคราะห์สารแขวนลอยในตัวอย่างที่มีสารที่ละลายได้มาก อาจจะทำให้มีปริมาณสารที่ละลายได้ติดอยู่กับตะกอน/สารแขวนลอยหรือกระดาษกรองด้วย ดังนั้นจะต้องทำการล้างสารที่ละลายได้ ให้หมดก่อนนำไปอบแห้ง

- ในกรณีที่มีของแข็งขนาดใหญ่แขวนลอยหรือจมอยู่ในตัวอย่างน้ำ ซึ่งเป็นของแข็งที่ทำให้ตัวอย่างน้ำไม่ผสมเข้ากันดี เช่น เศษไม้ เศษผ้า ก้อนหิน กุ้งพลาสติก หรือเศษวัสดุอื่นใดในทำนองเดียวกันที่มีขนาดใหญ่ เป็นต้น ควรกำจัดออกก่อนการวิเคราะห์

- การใช้เวลาในการกรองนานเกินไป ซึ่งเกิดจากการอุดตันของกระดาษกรอง อาจจะทำให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ถูกจับติดบนกระดาษกรองได้ ทำให้ปริมาณสารแขวนลอยที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าไม่ถูกต้อง โดยจะทำให้มีค่ามากกว่าความเป็นจริง จึงควรหลีกเลี่ยงให้มากที่สุด ถ้าพบว่ากระดาษกรอง เกิดการอุดตันและกรองได้ช้ามาก ควรทำการวิเคราะห์ใหม่

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. กระดาษกรอง GF/C
2. เครื่องมือสำหรับกรอง
 - 2.1 filter holder ใช้ grouch crucible adapter หรือ membrane funnel
 - 2.2 ถ้วยกรองความจุ 25 มิลลิลิตร สำหรับ Glass Filter ขนาด 2.2 เซนติเมตร
3. Suction flask ความจุ 500 มิลลิลิตร
4. เครื่องดูดสุญญากาศ

วิธีการวิเคราะห์

1. อบกระดาษกรองที่วางในอะลูมิเนียมฟรอยด์ที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียสให้แห้งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ประมาณ 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนัก
2. เลือกปริมาณน้ำตัวอย่างที่ได้ปริมาณของแข็งแขวนลอยไม่น้อยกว่า 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร
3. วางกระดาษกรองบนกรวยที่ต่อกับเครื่องดูดสุญญากาศ

4. ใช้น้ำกลั่นฉีดกระดาษกรองให้เปียก แล้วเปิดเครื่องดูดสุญญากาศ เพื่อให้กระดาษกรองติดกับกรวย
5. กรองตัวอย่างที่ผสมเข้ากันดีแล้ว โดยอาศัยแรงดึงจากเครื่องดูดอากาศ
6. ปิดเครื่องดูดสุญญากาศ ใช้คีมคีบกระดาษกรอง แล้วนำไปใส่อะลูมิเนียมฟรอยด์อันเดิมจากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
7. ทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ประมาณ 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

การคำนวณ

$$\text{Suspended Solid (mg/L)} = \frac{[(A-B) \times 1000]}{\text{ml sample}}$$

- เมื่อ A = น้ำหนักกระดาษกรองก่อนการวิเคราะห์ (mg)
 B = น้ำหนักกระดาษกรองหลังการวิเคราะห์ (mg)

3. กรดไขมันระเหยง่ายและสภาพด่าง (Volatile Fatty Acid and Alkalinity)

โดยวิธี Titration Method

อุปกรณ์และเครื่องมือเครื่องวัด pH

1. เครื่องวัดพีเอช
2. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร
3. เตาไฟฟ้า (Hot plate)
4. เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic Sterrer)
5. บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร

สารเคมีและการเตรียม

1. สารละลายกรดซัลฟิวริก (H₂SO₄) 0.02 N

เติมน้ำในขวดปรับปริมาตรก่อนขวด เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 28 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 1 นอร์มัล นำกรดซัลฟิวริก 1 นอร์มัล มา 20 มิลลิลิตร เจือจางให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างน้ำปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านการเหวี่ยง centrifuge รินเฉพาะส่วนใส ตวงใส่บีกเกอร์ใบละ 50 มิลลิลิตร

2. นำมาไทเทรตด้วยกรดซัลฟิวริก 0.02 นอร์มัล จนมีพีเอชเท่ากับ 4.5 บันทึกปริมาตรที่ใช้ แล้วไทเทรตต่อจนพีเอชเท่ากับ 3.0

3. นำไปต้มให้เดือด (อย่าให้เหลือปริมาณน้อย ให้ปริมาตรใกล้เคียงกับที่เริ่มต้น) แล้วทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4. ไทเทรตกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.02 นอร์มัล จนพีเอชเท่ากับ 4.0 จนปริมาตรเริ่มต้น และไทเทรตต่อจนพีเอชเท่ากับ 7 จดปริมาตรสิ้นสุด

การคำนวณ

$$\text{VFA (mg CaCO}_3\text{/L)} = \frac{\text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต (mL)} \times N \times 50,000}{V}$$

เมื่อ $N =$ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต (N)

$V =$ ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่ใช้ (mL)

$$\text{Alkalinity (mg CaCO}_3\text{/L)} = \frac{\text{ปริมาตรกรดซัลฟิวริกที่ใช้ไทเทรต (mL)} \times N \times 50,000}{V}$$

เมื่อ $N =$ ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรต (N)

$V =$ ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่ใช้ (mL)

4. น้ำมันและไขมัน (Oil and Grease)

โดยวิธี Soxhlet extraction method

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ชุดสกัดซอกส์เลต
2. เครื่องดูดสุญญากาศ
3. เครื่องอังน้ำ
4. ขวดสกัด (Extraction flask)
5. กระดาษกรองเบอร์ 40
6. กระดาษทิมเบิล (Extraction thimble paper)
7. ผ้ามีสลินตัดเป็นวงกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร
8. Glass beads
9. Electric heating mantle

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
2. เฮกเซน (n-Hexane)
3. Diatomaceous-silica filter acid suspension, 10 กรัมต่อลิตรของน้ำกลั่น

วิธีวิเคราะห์

1. เก็บตัวอย่างน้ำ 1 ลิตร หรือปริมาณน้อยกว่า แล้วปรับ pH ให้น้อยกว่า 2 ด้วยกรดซัลฟิวริก ในอัตราประมาณ 5 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง 1 ลิตร
2. เตรียมแผ่นกรองดูดซับน้ำมัน โดยวางผ้ามีสลินบนที่กรอง แล้วปูทับด้วยกระดาษกรองเบอร์ 40 ในกรวยบุชเนอร์ แล้วจึงเท Diatomaceous-silica filter acid suspension ที่ละลาย 10 กรัมต่อลิตรของน้ำกลั่น จำนวน 100 มิลลิลิตร ลงไป ใช้เครื่องดูดสุญญากาศดูดน้ำออกแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นประมาณ 1 ลิตร ดูดน้ำออกจนแห้ง
3. กรองน้ำตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 1 ผ่านบนกระดาษกรอง (ข้อ 2) ดูดน้ำออกจนแห้ง
4. ใช้คีมคีบกระดาษกรอง นำไปใส่ในทิมเบล ใช้สำลีชุบเฮกเซน เช็ดไขมันที่ติดด้วยบุชเนอร์ให้หมด แล้วนำสำลีใส่ในทิมเบลด้วย
5. นำทิมเบลไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ใส่ Glass beads ลงไป 3-5 เม็ด เพื่อป้องกันการเค็ดที่รุนแรง
6. ชั่งน้ำหนักด้วยคูลิเบล ซึ่งได้ทำให้แห้งและมีน้ำหนักคงที่ (อบแห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สมมุติน้ำหนัก A กรัม)
7. นำทิมเบลใส่ในชุดชอกส์เลต ทำการสกัดโดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายด้วยอัตรา 20 รอบ/ชั่วโมง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
8. กลั่นเฮกเซนจากขวดสกัดในเครื่องกลั่นให้เหลือปริมาตรเล็กน้อยแล้วนำไปอังไอน้ำที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ออกจนแห้ง
9. อบด้วยคูลิเบลที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในตู้ดูดความชื้น (Desiccator) 30 นาที จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก สมมุติ B กรัม)

การคำนวณ

$$\text{Oil and Grease (mg/L)} = [(B-A) \times 10^3] / \text{mL Sample}$$

5. บีโอดี (Biochemical Oxygen Demand: BOD)

โดยวิธี 5-Days BOD test

หลักการทั่วไป

บีโอดี คือ ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้ในน้ำ ค่าบีโอดีจะบอกถึงคุณลักษณะของน้ำว่ามีสารอินทรีย์ปนอยู่มากน้อยแค่ไหน การหาค่าบีโอดีเป็นวิธีการทางชีววิเคราะห์ (Bioassay) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการวัดค่าออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ย่อยสารอินทรีย์ในน้ำภายใต้สภาวะที่เหมือนกับที่เกิดในธรรมชาติมากที่สุด เพื่อที่จะให้การวิเคราะห์เป็นปริมาณวิเคราะห์จึงต้องทำให้ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีอิทธิพลต่ออัตราการย่อยสลายคงที่ นั่นคือค่าบีโอดีมาตรฐานจะใช้บ่มที่อุณหภูมิ 20 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน สาเหตุที่ใช้อุณหภูมิและเวลาดังกล่าวก็เพราะที่อุณหภูมิ 20 นี้ nitrifying bacteria เจริญเติบโตได้ช้าที่อุณหภูมินี้ ส่วนการเลือกใช้เวลาบ่ม 5 วัน ก็เพราะถ้าใช้เวลามากกว่านี้ การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียจะเกิดขึ้นน้อยมาก

การเก็บรักษาตัวอย่าง

- ตัวอย่างน้ำประเภท grab samples หากวิเคราะห์หาค่าบีโอดีได้ภายในเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากเก็บตัวอย่างไม่จำเป็นต้องแช่เย็นตัวอย่าง ถ้าวิเคราะห์ไม่ทันภายในเวลาดังกล่าวให้เก็บรักษาตัวอย่างน้ำไว้ด้วยการแช่เย็นอุณหภูมิ 4°C ซึ่งสามารถเก็บตัวอย่างไว้ได้นาน 6-24 ชั่วโมง และก่อนจะทำการวิเคราะห์จะต้องวางตัวอย่างน้ำทิ้งไว้ให้มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้องเสียก่อน

- ตัวอย่างน้ำประเภท composite samples ในการเก็บรักษาตัวอย่างน้ำประเภทนี้ให้เก็บรักษาตัวอย่างแต่ละตัวอย่างก่อนที่จะนำผสมรวมกันด้วยการแช่เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถเก็บตัวอย่างไว้ได้นาน 24 ชั่วโมง เมื่อนำตัวอย่างมาผสมกันแล้วควรวิเคราะห์ทันที

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Incubation Bottle ขนาด 250-300 มิลลิลิตร พร้อมจุกปิด
2. บิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตร และขาตั้งบิวเรต
3. กระจกบอทดวงพลาสติก ขนาด 1 ลิตร
4. ปิเปต
5. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

สารเคมี

1. น้ำกลั่นที่มีคุณภาพสูง เพื่อใช้สำหรับเตรียมน้ำเจือจาง ควรมีทองแดงน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร และปราศจากคลอรีน คลอรามิน สารอินทรีย์และกรด
2. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เตรียมโดยการละลาย KH_2PO_4 8.5 กรัม $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 33.4 กรัม K_2HPO_4 21.75 กรัม และ NH_4Cl 1.7 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วทำการปรับ

ปริมาตรเป็น 1 ลิตร สารละลายนี้มีค่า pH เท่ากับ 7.2

3. สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต เตรียมโดยละลาย $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 22.5 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำการปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ เตรียมโดยละลาย anhydrous $CaCl_2$ 27.5 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำการปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

5. สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ เตรียมโดยละลาย $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.25 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำการปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

6. สารละลายกรดและด่าง 1 นอร์มัล เพื่อใช้ปรับพีเอช

6.1 กรด เตรียมโดยค่อยๆ เติม กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4) 28 มิลลิลิตร ลงไปในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

6.2 ด่าง เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ($NaOH$) 40 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

7. สารละลายโซเดียมซัลไฟด์ 0.025 นอร์มัล เตรียมโดยละลาย Na_2SO_3 1.575 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร (สารละลายนี้ไม่อยู่ตัวต้องเตรียมวันที่จะใช้)

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมน้ำสำหรับใช้เจือจาง

1.1 ตวงน้ำกลั่นให้มากกว่าปริมาตรที่จะใช้ 1 ลิตร ใส่ลงภาชนะที่สะอาด

1.2 เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์ เฟอร์ริกคลอไรด์ โดยเติมสารละลายแต่ละชนิด 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำสำหรับใช้เจือจาง 1 ลิตร

1.3 เป่าอากาศที่สะอาดเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำอย่างน้อย 1 ชั่วโมง

2. การเตรียมตัวอย่างน้ำที่วิเคราะห์

2.1 ตัวอย่างน้ำที่เป็นด่างหรือกรด ต้องปรับ pH ให้เป็น 6.5-7.5 ก่อน

2.2 ตัวอย่างน้ำที่มีสารประกอบคลอรีนตกค้าง โลหะหนักหรือสารที่เป็นพิษชนิดอื่นเจือปนอยู่ จะต้องศึกษาและกำจัดเสียก่อนเป็นพิเศษ

3. วิธีการทำเจือจาง

3.1 เลือกเปอร์เซ็นต์ตัวอย่างมาทำการเจือจางที่คาดว่าจะให้ค่า BOD_5 อยู่ในช่วงที่กำหนดแล้วเลือกเปอร์เซ็นต์ที่สูงกว่าและต่ำกว่าที่อยู่ติดกันตามตารางภาคผนวก ข-2 ดังนั้นจึงจำเป็นต้องรู้ค่า BOD_5 โดยประมาณก่อน

3.2 ค่อยๆ รินน้ำ สำหรับการเจือจาง 700-800 มิลลิลิตร ลงในกระบอกตวงขนาด 1

ลิตร พยายามอย่าให้มีฟองอากาศ

3.3 เติมตัวอย่างน้ำตามจำนวนที่ต้องการแล้วเติมน้ำสำหรับการทำเจือจางจนได้ ปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3.4 คนให้เข้ากันโดยใช้แท่งแก้วเสียบจุกยางไว้ที่ปลาย ชักขึ้นลงเบาๆ โดยระวัง อย่าให้เกิดฟองอากาศ

3.5 ค่อยๆ รินน้ำตัวอย่างที่ผสมเข้ากันดีแล้ว ใส่ในขวดบีโอดี ที่แห้งและสะอาด จนเต็ม 3 ขวด ปิดจุกให้สนิท นำไปเก็บในตู้ Incubator ที่ 20 °C 2 ขวด ส่วน ขวดที่เหลือนำไปหาค่า DO ทันที เพื่อทราบค่า DO ที่จุดเริ่มต้น

3.6 ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.2-3.5 สำหรับเปอร์เซ็นต์ตัวอย่างน้ำที่เจือจางที่ต่ำกว่าและ สูงกว่า ตามลำดับ

4. การหาค่า DO ที่จุดเริ่มต้น (D_1) โดยใช้วิธี Azide Modification

5. การเพาะเลี้ยง

เพาะเลี้ยงโดยเก็บ 2 ขวด ของแต่ละเปอร์เซ็นต์ตัวอย่างเจือจางในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 20±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จึงนำมาหาปริมาณ DO (D_2)

ตารางภาคผนวก ข-2 ช่วงของค่า BOD_5 และวิธีการเจือจางน้ำ

ช่วงค่าบีโอดี	% น้ำตัวอย่าง
20,000-70,000	0.01
10,000-35,000	0.02
4,000-14,000	0.05
2,000-7,000	0.1
1,000-3,500	0.2
400-1,400	0.5
200-700	1.0
100-350	2.0
40-140	5.0
20-70	10.0
10-35	20.0
4-14	50.0
0-7	100.0

การควบคุมคุณภาพ

1. การตรวจสอบคุณภาพน้ำผสมเจือจาง (dilution water control) นำน้ำผสมเจือจางมาทดสอบหาค่าบีโอดี โดยเติมน้ำตัวอย่างที่ไม่ได้ใส่หัวเชื้อลงในขวด BOD 2 ขวด แล้วนำ 1 ขวดบ่มที่ 20 องศาเซลเซียส ส่วนอีกหนึ่งขวดทดสอบหาค่า DO ทันที ถ้าคุณภาพน้ำดี จะให้ค่า $DO_0 - DO_5$ ไม่ควรมากกว่า 0.2 mg/L

2. การตรวจสอบเพื่อควบคุมคุณภาพ ตรวจสอบการลดลงของออกซิเจนและปริมาณออกซิเจนคงเหลือ เมื่อผ่านการบ่มมาเป็นระยะเวลา 5 วัน ต้องมีค่าออกซิเจนลดลง ($DO_0 - DO_5$) อย่างน้อย 2.0 mg/L และค่าออกซิเจนที่เหลืออยู่อย่างน้อย 1.0 mg/L

6. การวิเคราะห์กรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid)

โดยวิธี Titration Method

สารเคมีและการเตรียม

1. เอทานอล 95%
2. สารละลาย NaOH 0.1 M เตรียมโดยละลาย NaOH 0.4 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
3. ฟีนอล์ฟธาไลน์อินดิเคเตอร์ (Phenolphthalein Indicator) 0.5 % เตรียมโดยการละลายฟีนอล์ฟธาไลน์อินดิเคเตอร์ 0.5 กรัม ในเอทานอล (50%) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ลงใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ให้ความร้อนเอทานอล 100 มิลลิลิตร ที่อยู่ใน flask อีกใบ
3. เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส ทำให้เป็นกลางด้วยสารละลาย NaOH เติลงใน flask ใบที่ 1 เติมฟีนอล์ฟธาไลน์ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่างกับสารละลายให้เข้ากัน และควบคุมอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส
4. ไทเทรตด้วยสารละลาย NaOH บันทึกปริมาตรสารละลาย NaOH ที่ใช้แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณกรดไขมันอิสระ

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดไขมันอิสระ (\%)} = \frac{V \times M \times 0.01}{m}$$

เมื่อ V = ปริมาตร (ml) ของ NaOH ที่ใช้ไทเทรต

M = มวลโมเลกุล (256)

m = น้ำหนัก (g) ของตัวอย่าง

7. การวิเคราะห์กักลีเซอรอล (Glycerol)

โดยวิธี Titration Method

สารเคมีและการเตรียม

1. สารละลายเอทิลีนไกลคอล (Ethylene glycol) เตรียมโดย นำ Ethylene glycol ใส่ในน้ำกลั่นปราศจาก CO₂ อัตราส่วน 1:1 V/V
2. สารละลายกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) 0.1 N เตรียมโดย ละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.8 มิลลิลิตร เจือจางในน้ำกลั่นปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) 0.05 N เตรียมโดย ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จำนวน 0.2 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) 0.125 N เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จำนวน 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
5. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) 0.1 N เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จำนวน 4 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
6. สารละลายโซเดียมเมทาเพอริโอเดต (Sodium metaperiodate)

เตรียมโดย (1) ละลาย Sodium metaperiodate 5 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ 150 มิลลิลิตร ใน flask เติมสารละลาย ethylene glycol ลงไป 5 มิลลิลิตรทิ้งไว้ในที่มืดที่ปราศจาก CO₂ เป็นเวลา 30 นาที

(2) ชั่ง Sodium metaperiodate มา 60 กรัม ละลายในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.1 N 120 มิลลิลิตร ในที่เย็น เจือจางด้วยน้ำกลั่นปราศจาก CO₂ ให้เป็น 500 มิลลิลิตร

(3) นำข้อ 1 และ ข้อ 2 มาผสมกัน แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
7. สารละลายโซเดียมฟอร์มเมต (Sodium formate) 0.1 N เตรียมโดยละลายโซเดียมฟอร์มเมต 0.68 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
8. สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนธาเลท (Potassium hydrogenphthalate) 0.05 M เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนธาเลทมา 10.12 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจาก CO₂ แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
9. สารละลาย Disodium tetraborate decahydrate 0.01 M เตรียมโดยชั่ง Disodium tetraborate decahydrate มา 3.81 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
10. ฟีนอล์ฟธาเลอินอินดิเคเตอร์ (Phenolphthalein indicator) เตรียมโดยละลาย Phenolphthalein 5 กรัม ในเอทานอล 95% ปรับปริมาตร 1 ลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. ตัวอย่างน้ำ : กรณีที่มีกลีเซอรอลน้อยกว่า 75% ใช้ตัวอย่างน้ำ 0.30-0.50 กรัม
: กรณีที่มีกลีเซอรอลมากกว่า 75% ใช้ตัวอย่างน้ำ 5 กรัม เจือจางด้วยน้ำกลั่นปราศจาก CO₂ ให้ได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิเปตมา 50 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์สำหรับวิเคราะห์
2. เจือจางตัวอย่างในบีกเกอร์ ด้วยน้ำกลั่นปราศจาก CO₂ ให้ได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร
3. จุ่มหัว Electrode ของเครื่องวัด pH ใส่ magnetic bar ลงไปแล้วเขย่า
4. ปรับ pH เป็นกลางด้วย NaOH 0.05 N ให้มี pH เป็น 7.9±0.01
5. เติม Sodium metaperiodate 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
6. ปิดบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟิวส์ เก็บในที่มืด อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
7. เติม ethylene glycol 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
8. เติม Sodium formate 5 ml ด้วย graduated pipette
9. นำไปไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน NaOH ความเข้มข้น 0.125 N จน pH 7.9±0.2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกลีเซอรอล \% (m/m)} = [(V1-V2) \times T \times 0.0921] \times 100/m$$

- เมื่อ
- V1 = ปริมาตรสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง
 - V2 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ใช้ไทเทรต blank
 - T = นอร์มัลลิตของสารละลายมาตรฐาน NaOH
 - m = มวลในหน่วยกรัมของกลีเซอรอลที่ทำปฏิกิริยากับ Sodium metaperiodate

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวลลิตา บุหลาด		
รหัสประจำตัวนักศึกษา	5510920024		
วุฒิการศึกษา			
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา	
วิทยาศาสตร์บัณฑิต (อนามัยสิ่งแวดล้อม) เกียรตินิยมอันดับสอง	มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์	2555	

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

- ทุนวิจัยระดับปริญญาโท สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.)

การตีพิมพ์ผลงานทางวิชาการ

Bulad, L., Suksaroj, T. and Suksaroj, C. 2014. Effect of Pre-treatment and Biochemical Methane Potential of Wastewater from the Production of Biodiesel. **Fifth International institute of engineers and researchers (IIEER) 8th** November 2014 Singapore.

ลลิตา บุหลาด, ชันวดี สุขสาโรจน์ และ ชัยศรี สุขสาโรจน์.2558. โปสเตอร์การย่อยสลายน้ำมันและไขมันโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป. ในงาน **RRi PSU Forum 2015**. วันที่ 24 มีนาคม 2558 ณ ห้องประชุมมงคลสุข คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ลลิตา บุหลาด, ชันวดี สุขสาโรจน์ และ ชัยศรี สุขสาโรจน์.2558. การย่อยสลายน้ำมันและไขมันโดยใช้เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป: กรณีศึกษาน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม. **นิทรรศการและงานประชุมวิชาการ โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ครั้งที่ 1 “สร้างสรรค์งานวิจัยตอบโจทย์อุตสาหกรรมมั่นคงและยั่งยืน”**. วันที่ 22 กรกฎาคม 2558 ณ ห้องแกรนด์ฮอลล์ ชั้น 2 ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค กรุงเทพฯ.