

ชื่อวิทยานิพนธ์	การบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยเชื้อราทนร้อนที่ผลิตพอลิเมอร์
ผู้เขียน	นางสาวหัสลินดา บินมะแอ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2547

### บทคัดย่อ

น้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม เป็นหนึ่งในสามแหล่งหลักของมลสารจากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรในภาคใต้ของประเทศไทย จากการวิเคราะห์ลักษณะของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์พบว่า มีพีเอชเป็นกรด (พีเอช 4.5) มีปริมาณสารอินทรีย์สูง โดยมีค่าซีโอดีทั้งหมด 143.9 กรัมต่อลิตร ซีโอดีที่ละลายน้ำ 50.84 กรัมต่อลิตร บีโอดี 71.95 กรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด 71.5 กรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย 34.2 กรัมต่อลิตร น้ำมันและกริส 10 กรัมต่อลิตร แต่มีไนโตรเจน (1.2 กรัมต่อลิตร) และฟอสฟอรัส (0.5 กรัมต่อลิตร) ในปริมาณต่ำ เมื่อทดสอบคุณสมบัติทนร้อนของเชื้อราที่อุณหภูมิห้องถึง 65 องศาเซลเซียส พบว่า *Humicola insolens*, *Thermomyces lanuginosus* และ *Rhizopus* sp. ST 29 มีคุณสมบัติทนร้อนและเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 55, 55 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เมื่อศึกษาผลของปริมาณสารอินทรีย์ โดยเลี้ยงเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ระดับความเจือจางต่างๆ (1:0, 1:1 และ 1:2) บนเครื่องเขย่า (200 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 5 วัน พบว่าเชื้อเจริญได้ดีที่ระดับการเจือจาง 1:1 มีค่าซีโอดีที่ละลายน้ำได้ (soluble COD) เท่ากับ 22.56 กรัมต่อลิตร โดย *Rhizopus* sp. ST 29 ให้ผลดีที่สุด มีปริมาณมวลชีวภาพ 18.30 กรัมต่อลิตร และผลิตพอลิเมอร์ได้ 26.88 มิลลิกรัมต่อกรัมมวลชีวภาพ ปริมาณน้ำมันและกริสลดลงร้อยละ 98.66 ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 72.7 ปริมาณของแข็งทั้งหมดลดลงร้อยละ 60.5 ซึ่งทำให้น้ำทิ้งมีตะกอนน้อยลงและมีความใสมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบแอกติวิตีของเอนไซม์ที่เชื้อผลิตขึ้น พบว่า *Rhizopus* sp. ST 29 สามารถผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส (CMCase) (814.6 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และไซลันเนส (1547.4 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ได้สูงสุด ในขณะที่ *T. lanuginosus* ผลิตเอนไซม์เพคติเนสได้สูงสุด (0.96 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และเชื้อรา *H. insolens* ให้ค่าแอกติวิตีของเอนไซม์ไลเปสสูงสุด (10.20 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) เมื่อศึกษาคุณสมบัติบางประการของพอลิเมอร์ พบว่า พอลิเมอร์มีน้ำหนักโมเลกุล 17,657 ดาลตัน มีประจุเป็นลบ และมีขนาดอนุภาคเฉลี่ย 1234.3 นาโนเมตร จากผลการศึกษาข้างต้นจึงคัดเลือกเชื้อ *Rhizopus* sp. ST 29 เพื่อศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจน, ความเข้มข้นของไนโตรเจน และพีเอชเริ่มต้นต่อการเจริญและการผลิตพอลิเมอร์รวมทั้งประสิทธิภาพในการบำบัด

พบว่า ค่าที่เหมาะสมของปัจจัยต่างๆสำหรับการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus* sp. ST29 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีดังนี้ คือใช้ปุ๋ย (46-0-0) เป็นแหล่งไนโตรเจนโดยความเข้มข้นที่เหมาะสมร้อยละ 0.025 เพื่อเริ่มต้นที่เหมาะสม คือ 4.5 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้เชื้อ *Rhizopus* sp. ST 29 สามารถเจริญให้มวลชีวภาพ 20.18 กรัมต่อลิตร และผลิตพอลิเมอร์ได้ 54.19 มิลลิกรัมต่อกรัมมวลชีวภาพ (หรือ 5779.2 มิลลิกรัมต่อลิตรของน้ำทิ้ง) ซึ่งการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้นเพียงร้อยละ 10.27 ในขณะที่การผลิตพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นสองเท่า และสามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 80 หลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 4 วัน เมื่อศึกษาผลของการให้อากาศในถังหมักแบบต่างๆ คือ การให้อากาศในถังหมักแอร์ลิปท์ (อัตราการให้อากาศ 3.0, 1.5, 0.5 และ 0.025 vvm), การกวนในถังหมักที่มีการกวนอย่างต่อเนื่อง (CSTR) โดยมีการกวนอย่างเดียวก่อน และแบบใช้เครื่องเขย่า พบว่า อัตราการให้อากาศที่เหมาะสมในถังหมักแอร์ลิปท์ คือ 3.0 vvm เชื้อให้ปริมาณมวลชีวภาพ 8.67 กรัมต่อลิตร และให้ประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดีร้อยละ 50 หลังการเลี้ยงเชื้อที่ 5 วัน การเลี้ยงเชื้อในถังหมักที่มีการกวนอย่างต่อเนื่อง (CSTR) โดยไม่มีการให้อากาศ ให้ปริมาณมวลชีวภาพ 18.11 กรัมต่อลิตรและให้ประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดีร้อยละ 25 หลังการเลี้ยงเชื้อ 5 วัน ส่วนการเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าพบว่าเชื้อให้ปริมาณมวลชีวภาพ 20.49 กรัมต่อลิตร และให้ประสิทธิภาพการลดค่าซีโอดีร้อยละ 64 หลังการเลี้ยงเชื้อที่ 4 วัน เมื่อเปรียบเทียบการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ฆ่าเชื้อและไม่ฆ่าเชื้อในสภาวะไม่ปลอดเชื้อ พบว่า การเลี้ยงในน้ำทิ้งที่ไม่ฆ่าเชื้อ *Rhizopus* sp. ST 29 เจริญและให้ประสิทธิภาพการบำบัดดีกว่าการเลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มที่ผ่านฆ่าเชื้อ ให้ค่ามวลชีวภาพเท่ากับ 0.723 กรัมต่อลิตร ค่าซีโอดีที่ละลายน้ำลดลงร้อยละ 36.7 ของแข็งทั้งหมดลดลงร้อยละ 77.24 ของแข็งแขวนลอยลดลงร้อยละ 50.59 น้ำมันและกรีสลดลงร้อยละ 76.19 เมื่อเปรียบเทียบการบำบัดน้ำทิ้งด้วยเชื้อในรูปอิสระและรูปที่ตรึงเซลล์ด้วยวัสดุทางการค้า (Bio stage) และฟองน้ำ พบว่า เชื้อที่ตรึงด้วย Bio stage ให้ค่ามวลชีวภาพเท่ากับ 1.412 กรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพในการบำบัดสูงสุดโดยซีโอดีที่ละลายน้ำลดลงร้อยละ 66.6 ของแข็งทั้งหมด ของแข็งแขวนลอย และน้ำมันและกรีส ลดลงร้อยละ 77.24, 77.84 และ 56.25 ตามลำดับ ผลจากการศึกษาการป้อนสารอาหารแบบกึ่งต่อเนื่อง พบว่า หลังการทดลองเป็นเวลา 12 วัน เชื้อที่ตรึงด้วย bio stage มีประสิทธิภาพในการลดซีโอดีที่ละลายน้ำได้ร้อยละ 60 ของแข็งทั้งหมด 75.93 ของแข็งแขวนลอย 77.24 และน้ำมันและกรีส 52.38

**Thesis Title** Treatment of Palm Oil Mill Effluent by Thermotolerant Polymer-Producing Fungi.

**Author** Miss Haslinda Binmaeil

**Major Program** Biotechnology

**Academic Year** 2004

### Abstract

Palm oil mill effluent (POME) is one of the three major sources of pollutant from agro-industry in Southern. Decanter effluent had the following characteristics ; it had acidic pH (pH 4.5) and contained high organic matter with 143.9 g/l total COD, 50.84 g/l soluble COD, 71.95 g/l BOD , 71.5 g/l total solids (TS), 34.2 g/l suspended solids (SS), 10 g/l oil & grease but contained low nitrogen (1.2 g/l) and phosphorus (0.5 g/l). Studies on thermotolerant properties of fungi room temperature and 65 °C revealed that *Humicola insolens*, *Thermomyces lanuginosus* and *Rhizopus* sp. ST 29 were found to be thermotolerant with the optimum temperatures of 55, 55 and 45 °C respectively. Effect of organic matter concentration was investigated by cultivation of the three fungal strains at their optimum temperatures in the decanter effluent at different dilutions (1:0, 1:1 and 1:2) under shaken flask condition (200 rpm) for 5 days. Results indicated that the optimum dilution was 1:1 (v/v) with soluble COD value of 22.56 g/l and *Rhizopus* sp. ST 29 gave the best results, giving the biomass concentration of 18.30 g/l and produced 26.88 mg polymer per g biomass, oil & grease decreased by 98.66% with COD removal of 72.7% and total solids reduction of 60.5% with less amount of sediment and clearer effluent. Comparison on their enzyme activities revealed that *Rhizopus* sp. ST 29 produced the highest activities of carboxymethyl cellulose (CMCase) (814.6 U/ml) and xylanase (1547.4 U/ml) while *T. lanuginosus* gave the highest pectinase activity (0.96 U/ml) and *H. insolens* gave the highest lipase activity (10.20 U/ml). Studies on some properties of the polymer indicated that molecular weight of the polymer were 17,657 Daltons, anionic polymer and having particle size of 1234.3 nm. Based on these results, *Rhizopus* sp. ST 29 was selected for studies on the effects of nitrogen source, nitrogen concentration and initial pH on growth, biopolymer production and treatment efficiency. The optimum condition for cultivation of *Rhizopus* sp. ST 29 at 45 °C were

as following : 0.025% fertilizer (46-0-0) as N-source with the optimum concentration of 0.025%, and initial pH of 4.5. Under the optimum condition, *Rhizopus* sp. ST29 gave 20.18 g/l biomass and 54.19 mg/g biomass (or 5779.2 mg/l effluent) 10.27%, the polymer production increased about 2-folds of biomass with 80% COD removal after 4 days cultivation. The effect of aeration rate was studied in different types of fermenter ; aeration in air lift fermentor (flow rate of 3.0, 1.5, 0.5 and 0.025 vvm), agitation only in continuous stirred tank reactor (CSTR) and cultivation on a shaker. The optimal aeration rate in an air-lift fermentor was 3.0 vvm, giving biomass of 8.67 g/l and 50% COD removal after 5 days cultivation. In CSTR fermentor (agitation only), the strain produced 18.11 g/l biomass and 25% COD removal after 5 days cultivation. Cultivation on a shaker gave 20.49 g/l biomass and 64% of COD removal after 4 days cultivation. Comparison on treatment of sterilized and non-sterilized decanter effluent under septic condition revealed that *Rhizopus* sp. ST29 cultivation in non-sterilized decanter effluent grow better and gave higher treatment efficiency with 0.723 g/l biomass and the COD, TS, SS and oil & grease removals of 36.7, 77.24, 50.59 and 76.19 % respectively. Comparison on treatment of decanter using free and immobilized cells of *Rhizopus* sp. ST29 on commercial supporter (Bio stage) and polyurethane sponge was studied. It was found that immobilized cells with bio stage contained 1.412 g/l biomass and gave the highest removals of soluble COD, TS, SS and oil & grease with the values of 66.6, 77.24, 77.84 and 56.25 %, respectively. Results in semi-continuous feeding indicated that after 12 days cultivation, cell immobilized on bio stage were able to reduce 60% soluble COD, 75.93 % total solids removal, 77.24 % suspended solids removal and 52.38 % oil & grease removal.