

# การแยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ด้วยวิธีการทางชีวภาพโดยใช้จุลินทรีย์และเอนไซม์

## SEPARATION OF OIL AND SOLIDS FROM PALM OIL MILL EFFLUENT BY BIOLOGICAL METHOD USING ENZYME AND MICROORGANISM

เสถียรพงษ์ อุดมศิลป์<sup>1</sup>, พูนสุข ประเสริฐสุวรรณ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

<sup>2</sup>ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

### บทคัดย่อ

โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเป็นหนึ่งในสามอุตสาหกรรมหลักภาคใต้ของไทยมีน้ำเสียเกิดขึ้นในปริมาณมาก และมีสารอินทรีย์สูง เมื่อวิเคราะห์น้ำทิ้งดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พบว่ามีพีเอช 4.7 ค่าซีโอดี น้ำมันของแข็งทั้งหมด และของแข็งแขวนลอย เท่ากับ 48.4, 25.6, 60.3 และ 40.8 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการเลี้ยงแบคทีเรียจำนวน 6 สายพันธุ์ คือ SU5, SU6, SU9, WD7, WD79 และ WD90 ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SU5 และ SU9 สามารถแยกน้ำมันในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ได้ดีที่สุดเท่ากับ 44.4% และ 49.5% ตามลำดับ หลังจากการเลี้ยงเชื้อ 24 ชั่วโมง และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 9 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (30±3 องศาเซลเซียส) บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เกิดลักษณะตะกอนลอยปริมาณ 30.2% และ 36.1% ตามลำดับ เมื่อทดสอบการใช้เอนไซม์เกรดทางการค้า 2 ชนิด คือ เซลลูเลส และเพคตินเนส ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสสามารถแยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ได้ดีกว่าเอนไซม์เพคตินเนส และกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสต่ำสุดที่ทำให้เกิดการแยกน้ำมันและของแข็ง (ตะกอนลอย) คือ 10 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ภายในเวลา 150 นาที โดยสามารถแยกน้ำมันได้ 41.3% เกิดลักษณะตะกอนลอย 32.3% สำหรับการแยกน้ำมันและของแข็งจากน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่โรงงานในถังขนาด 100 ลิตร โดยใช้เชื้อสายพันธุ์ SU5 และ SU9 พบว่าเชื้อสายพันธุ์ SU9 สามารถแยกน้ำมันในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ได้ดีกว่าเชื้อสายพันธุ์ SU5 และชุดควบคุม โดยสามารถแยกน้ำมันได้ เท่ากับ 58.1%, 48.2% และ 16.8% ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง ใช้เวลาเลี้ยงเชื้อ 24 ชั่วโมง เกิดลักษณะตะกอนลอยปริมาณ 16.8%, 11.6% และ 3.9% ตามลำดับ และลดค่าซีโอดีได้เท่ากับ 45.3%, 34.4% และ 25.0% ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** การแยกน้ำมันและของแข็ง, จุลินทรีย์และเอนไซม์, ตะกอนลอย, ซีโอดี, โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

## Abstract

The decanter effluent from a palm oil mill (POME) is one of three in south of Thailand, had large amount and organic, acidic pH (pH 4.7) and contained high organic matter with COD, oil, total solids and suspended solids were 48.4, 25.6, 60.3 and 40.8 g/l, respectively. Cultivation of the 6 strains were SU5, SU6, SU9 WD7, WD79 and WD90 in the decanter effluent from a palm oil mill revealed that the highest SU5 and SU9 strains separated oil from the decanter effluent from a palm oil mill 44.4% and 49.5%, respectively. After cultivation 24 hours lift them at temperature room ( $30\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) for 9 hour on the shaker that shaken at 200 rpm, then the bulking solids were detected for 30.2% and 36.1%, respectively. Using 2 commercial enzymatic tested; cellulase and pectinase enzyme in the decanter effluent from a palm oil mill revealed that the highest cellulase separated oil from the decanter effluent from a palm oil mill 41.3% and occurred bulking solid 32.3% at minimum concentration 10 units per milliliter, 150 min. Selection of bacteria tested in many decanter effluent that cultivate at room temperature and revealed that SU9 strain separated oil from the decanter effluent from a palm oil mill more than SU5 strain and control 58.1%, 48.2% and 16.8%, respectively and occurred bulking solid 45.3%, 34.4% และ 25.0%, respectively.

**Key words:** separated oil and solid from the decanter effluent, microorganism and enzyme, bulking solid, COD, POME

## บทนำ

ปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis* Jacq.) เป็นพืชเศรษฐกิจของภาคใต้ โดยประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันรวมทั้งหมดไม่ต่ำกว่า 1.4 ล้านไร่ การผลิตน้ำมันปาล์มมีแนวโน้มที่สูงขึ้น ผลที่ตามมาคือ วัสดุเศษเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำมันปาล์มมากขึ้น ได้แก่ ทะลายปาล์มเปล่า (empty fruit bunches) เส้นใยปาล์ม (palm pericarp fiber) กากเนื้อผลปาล์ม (palm kernel cake) กะลาปาล์ม (palm shell) กากตะกอนสลัดจ์ (sludge) และส่วนที่เป็นของเหลวคือน้ำทิ้งดีแคเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม [5] โดยเฉพาะโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มแบบมาตรฐานหรือแบบเปียก ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้น้ำในการสกัด และเป็นเหตุให้มีน้ำเสียเกิดขึ้นซึ่งปริมาณน้ำเสียที่ได้มาจากขั้นตอนต่างๆ ในกระบวนการผลิต ได้แก่ น้ำล้างปาล์ม น้ำทิ้งจากเครื่องดีแคเตอร์ และเครื่องกำจัดน้ำออกจากน้ำมันในขั้นตอนสุดท้าย น้ำทิ้ง

จากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มมีสีน้ำตาลเข้ม ปริมาณสารอินทรีย์สูง มีพีเอชต่ำ (4.5) มีลักษณะเป็นอิมัลชันทำให้เกิดปัญหาของแข็งไม่ตกตะกอน ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำมันที่อยู่ในตะกอนของแข็งเหล่านี้ การแยกน้ำมันออกจากของแข็งก่อนเข้าสู่บ่อบำบัดน้ำเสียจะช่วยเพิ่มผลผลิตน้ำมันและได้คุณภาพน้ำมันที่ดี แต่ถ้าหากปล่อยเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย น้ำมันส่วนนี้จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นน้ำมันกรด และทำให้โรงงานมีค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นในการขุดลอกของแข็งหรือขุดลอกบ่อบำบัด จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการบำบัดน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275 [3] พบว่าการใช้เอนไซม์ดังกล่าว สามารถทำให้ของแข็งแยกตัวออกได้ หลังการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำให้ของเหลวส่วนที่เหลือปริมาณสารแขวนลอยลดลง 78% และแยกน้ำมันได้ 95% และปรากฏเป็นชั้นตะกอนลอย งานวิจัยต่อมาเป็นการวิจัย

เพื่อใช้เชื้อราในการบำบัด จากผลการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการพบว่าเชื้อราที่ผลิตพอลิเมอร์ คือ *Rhizopus* sp. ST29 สามารถกำจัดน้ำมันในน้ำทิ้งได้ 91.45% และทำให้ค่าซีโอดีลดลง 66% ในสภาวะปลอดเชื้อ ส่วนในสภาวะที่ไม่ปลอดเชื้อ *Rhizopus* sp. ST4 สามารถกำจัดน้ำมันในน้ำทิ้งได้ 84.2% และลดซีโอดีได้ 62.2% สูงกว่าค่าที่ได้จาก *Rhizopus* sp. ST29 (80.5% และ 40.6% ตามลำดับ) [4] อย่างไรก็ตาม การใช้เชื้อราในระบบการบำบัดที่ออกมาจากเครื่องกำจัดน้ำออกจากน้ำมันในขั้นตอนสุดท้าย โดยการให้อากาศก็ประสบกับปัญหาการเกี่ยวพันของไมซีเลียมของเชื้อรากับแกนหรือเครื่องให้อากาศ การใช้แบคทีเรียหรือเอนไซม์ทางการค้าจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจ ซึ่งจะช่วยให้การแยกของแข็งเกิดได้ง่ายขึ้น เร็วขึ้น และทำลายลักษณะอิมัลชัน ซึ่งจะช่วยให้น้ำมันลอยตัวออกจากของแข็งด้วย

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อแยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยวิธีการทางชีวภาพ โดยใช้เอนไซม์ทางการค้าเปรียบเทียบกับเชื้อจุลินทรีย์

### อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

#### 1. ตัวอย่างน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ตัวอย่างน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท น้ำมันพืชบริสุทธ์ จำกัด อ. หาดใหญ่ จ.สงขลา โดยเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มหลังมีการสกัดน้ำมันปาล์มเต็มกระบวนการผลิต ตัวอย่างน้ำทิ้งเก็บจากท่อน้ำทิ้งของเครื่องดีแคนเตอร์โดยตรง โดยวัดอุณหภูมิของน้ำทิ้งด้วยเทอร์โมมิเตอร์ทันที จากนั้นบรรจุน้ำทิ้งลงในภาชนะพลาสติกขนาด 40 ลิตร แล้วรีบนำกลับห้องปฏิบัติการภายใน 1 วัน กรองตัวอย่างน้ำทิ้งผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น ก่อนแบ่งน้ำทิ้งใส่ขวดขนาด 1.5 ลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

#### 2. วิเคราะห์คุณลักษณะของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

นำตัวอย่างน้ำทิ้งวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ รุ่น Model HK-7E บริษัท Tokyo TOA Electronic วิเคราะห์ค่าซีโอดีแบบเปิด [7] ปริมาณของแข็งทั้งหมด [7] และของแข็งแขวนลอย [7] จากนั้นนำตัวอย่างน้ำทิ้งไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ รุ่น SCR 20 B บริษัท Hitachi ที่ความเร็วรอบ 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำไปวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของตะกอน [6] และปริมาณน้ำมันในตะกอน [6] โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

#### 3. การคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถแยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งดีแคนเตอร์โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

เตรียมหัวเชื้อของแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ WD7, WD90, WD79, SU5, SU6 และ SU9 ซึ่งแยกได้จากน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยถ่ายเชื้อลงในฟลาสก์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหาร basal medium ( $K_2HPO_4$  3.4 กรัม,  $KH_2PO_4$  1.3 กรัม,  $(NH_4)_2SO_4$  2.0 กรัม,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2 กรัม,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  0.002 กรัม,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  0.005 มิลลิกรัม, Yeast extract 2.0 กรัม, Trace element solution 2.0 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 1 ลิตร) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 3$  องศาเซลเซียส) บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับปริมาณเชื้อเริ่มต้นของหัวเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ให้มีค่า  $OD_{660}$  เท่ากับ 0.5 ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Model U-2000 บริษัท Hatachi จากนั้นเติมหัวเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ลงในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ปลอดเชื้อ (น้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ผ่านการนิ่งมาเชื้อด้วยเครื่องนิ่งแบบไอน้ำ รุ่น SS325 บริษัท Tomy ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที) ปรับพีเอชเท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 4 นอร์มอล จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 3$  องศาเซลเซียส)

บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที สุ่มเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง วัดค่าพีเอช สังเกตการมีน้ำมันลอยบนผิวหน้าหรือตะกอนลอย และการตกตะกอนเองของของแข็งในน้ำทิ้ง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่เติมเชื้อในน้ำทิ้งที่ปลอดเชื้อ) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการแยกน้ำมันและของแข็งจากน้ำทิ้งจำนวน 2 สายพันธุ์

#### 4. ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการแยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งดีแคนเตอร์โรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้แบคทีเรีย

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3 โดยใช้แบคทีเรียที่คัดเลือกไว้จำนวน 2 สายพันธุ์ นำไปเลี้ยงในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 3$  องศาเซลเซียส) และในห้องควบคุมอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่เติมเชื้อในน้ำทิ้งที่ปลอดเชื้อ) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อนำไปศึกษาต่อในปริมาณที่มากขึ้นในโรงงาน (100 ลิตร)

#### 5. ศึกษาการใช้เอนไซม์ต่อการแยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งดีแคนเตอร์โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

เตรียมสารละลายเอนไซม์ที่มีกิจกรรมเอนไซม์เริ่มต้น 100 ยูนิต์ต่อมิลลิลิตร ของเอนไซม์เซลลูเลส ตามวิธีของ [9] และเอนไซม์เพคตินเนส ตามวิธีของ [8] ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ปลอดเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิของบริษัท Memmert ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สังเกตการเกิดตะกอนลอยที่เวลา 0, 30, 45, 60, 120, 150 และ 180 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่เติมเอนไซม์ในน้ำทิ้งที่ปลอดเชื้อ) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

#### 6. ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของเอนไซม์ที่คัดเลือกได้ต่อการแยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งดีแคนเตอร์โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

คัดเลือกเอนไซม์ที่สามารถแยกน้ำมันและ

ของแข็งจากน้ำทิ้งได้ดีที่สุด จากนั้นทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 5 แต่ให้มีกิจกรรมเอนไซม์เริ่มต้น 5 ระดับ คือ 10, 25, 50, 75 และ 100 ยูนิต์ต่อมิลลิลิตร สังเกตการเกิดตะกอนลอยที่เวลา 0, 50, 90, 150, 120 และ 180 นาที เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ไม่เติมเอนไซม์ในน้ำทิ้งที่ปลอดเชื้อ) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

#### 7. การทดลองในปริมาณมากขึ้นที่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

นำผลการทดลองดังกล่าวไปทดลองในระดับปริมาณมากขึ้น (100 ลิตร) ที่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม และวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับข้างต้น

### ผลการวิจัย

#### 1. องค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบต่าง ๆ ของน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ แสดงดังตารางที่ 1 เป็นดังนี้ อุณหภูมิน้ำทิ้ง  $78 \pm 0.1$  องศาเซลเซียส ค่าพีเอช 4.7 และค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังนี้ ซีไอดี ของแข็งทั้งหมด และสารแขวนลอยเท่ากับ  $48.4 \pm 0.4$ ,  $60.3 \pm 0.3$  และ  $40.8 \pm 0.2$  กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยค่าต่าง ๆ อยู่ในช่วงของค่าต่าง ๆ ที่เคยมีรายงานมาก่อน ดังตารางที่ 1 โดยพีเอชที่ได้ (4.7) มีค่ามากกว่าในรายงานก่อน ๆ เล็กน้อย (พีเอช 4.5-4.6) ส่วนค่าซีไอดี ( $48.4 \pm 0.4$  กรัมต่อลิตร) อยู่ในช่วงค่าที่รายงานโดย [3] และ [2] คือ 35.5-52.9 กรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด ( $60.3 \pm 0.3$  กรัมต่อลิตร) สอดคล้องกับรายงานของ [2] และ [1] คือ 53.0-71.9 กรัมต่อลิตร ส่วนสารแขวนลอย ( $40.8 \pm 0.2$  กรัมต่อลิตร) มีค่าที่ใกล้เคียงกับรายงานของ [1] คือ 43.2 กรัมต่อลิตร จากข้อมูลดังกล่าว ในการสุ่มแต่ละครั้งมีความแตกต่างกันด้านคุณภาพของน้ำทิ้ง อันเนื่องมาจากความแตกต่างของกระบวนการผลิต ช่วงเวลาการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง

**ตารางที่ 1** องค์ประกอบของน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

พารามิเตอร์	[1]	[2]	[3]	[4]	การทดลอง
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	-	-	-	-	78±0.1
พีเอช	4.5	4.6	4.5	4.5	4.7±0.2
สี	น้ำตาล	น้ำตาล	น้ำตาล	-	น้ำตาล
ของแข็งทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	71.9	53.0	36.4	44.6	60.3±0.3
ของแข็งแขวนลอย (กรัมต่อลิตร)	43.2	33.1	11.6	20.5	40.8±0.2
ค่าซีไอดี (กรัมต่อลิตร)	110.0	35.5	52.9	112.8	48.4±0.4
น้ำมันและกรีส (กรัมต่อลิตร)	25.6	24.9	4.7	25.5	21.4±0.3

**2. คัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถแยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม**

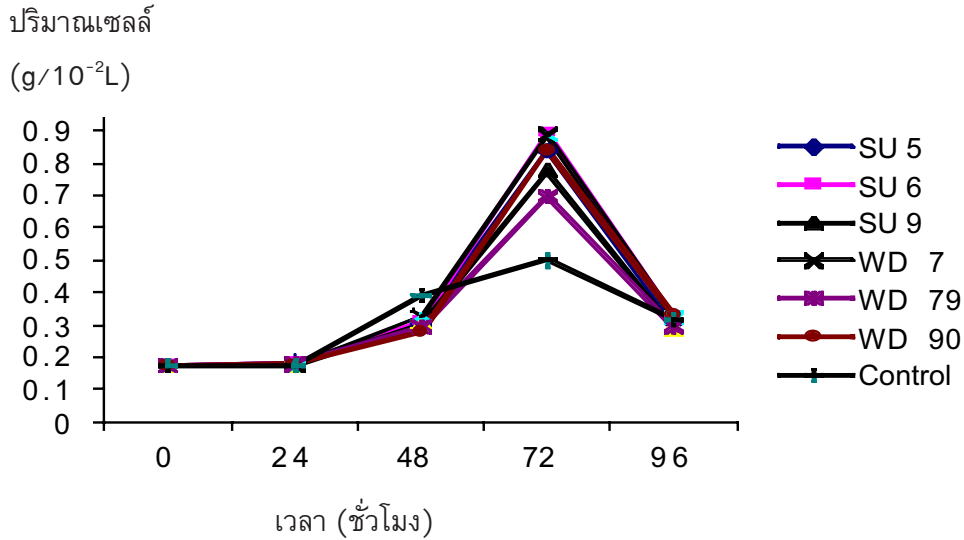
การคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถแยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเป็นเวลา 96 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที พบว่าหลังการเพาะ

เลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และตั้งทิ้งไว้ 9 ชั่วโมง แบคทีเรียจำนวน 2 สายพันธุ์คือ SU5 และ SU9 สามารถแยกน้ำมันและตะกอนลอยออกจากน้ำทิ้งดีแคนเตอร์เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมเชื้อลงในน้ำทิ้ง แสดงดังตารางที่ 2 และจากภาพที่ 1 พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์สามารถเจริญได้ดี แสดงว่าสภาวะของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์

**ตารางที่ 2** ผลของการเกิดตะกอนลอยของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เลี้ยงแบคทีเรียจำนวน 6 สายพันธุ์

สายพันธุ์	การเกิดตะกอนลอย
SU5	++
SU6	-
SU9	+++
WD7	-
WD79	-
WD90	-
Control	-

หมายเหตุ: + เกิดตะกอนลอย  
- ไม่เกิดตะกอนลอย



ภาพที่ 1 การเจริญของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ที่อุณหภูมิห้อง

### 3. ผลของอุณหภูมิต่อการแยกน้ำมันและของแข็งจากน้ำทิ้งดีแคนเตอร์โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

แบคทีเรียที่คัดเลือกได้จำนวน 2 สายพันธุ์คือสายพันธุ์ SU5 และ SU9 เลี้ยงในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มเป็นเวลา 96 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และตั้งทิ้งไว้ 9 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งได้เท่ากับ 44.4% และ 49.5% ตามลำดับ และมีปริมาณตะกอนลอยเท่ากับ 36.1 และ 30.2

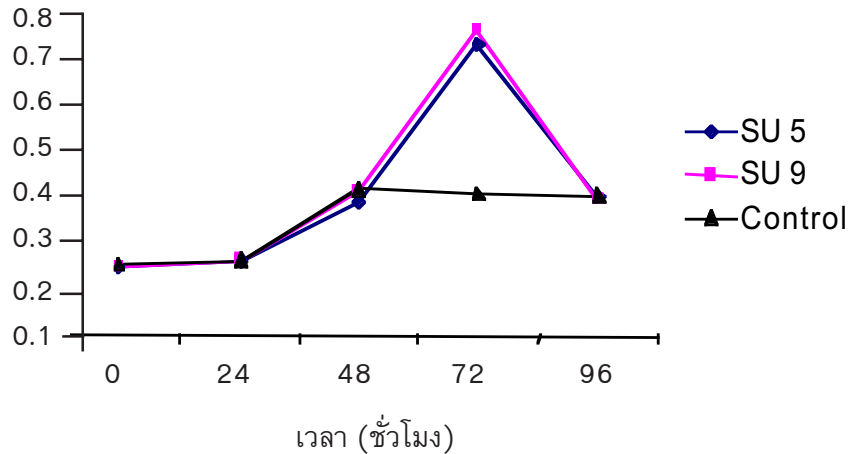
ตามลำดับ เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมเชื้อลงในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ซึ่งไม่สามารถแยกเป็นลักษณะตะกอนลอยจากน้ำทิ้ง ดังแสดงในตารางที่ 3 ส่วนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่สามารถแยกลักษณะตะกอนลอยออกจากน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ได้ และเมื่อนำไปวัดการเจริญของแบคทีเรียแสดงดังภาพที่ 2 พบว่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีที่สุดหลังการเลี้ยงเชื้อ 72 ชั่วโมง และสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์คือ สภาวะที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 3 ผลของการเกิดตะกอนลอยของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่เลี้ยงเชื้อจำนวน 2 สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้

สายพันธุ์	การเกิดตะกอนลอย
SU5	++
SU9	+++
Control	-

หมายเหตุ: + เกิดตะกอนลอย  
- ไม่เกิดตะกอนลอย

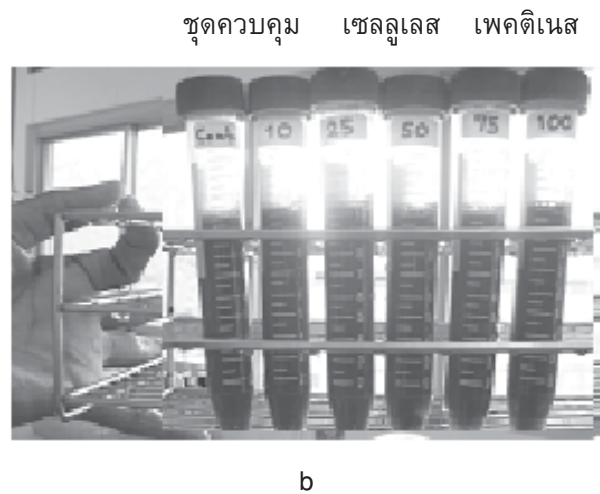
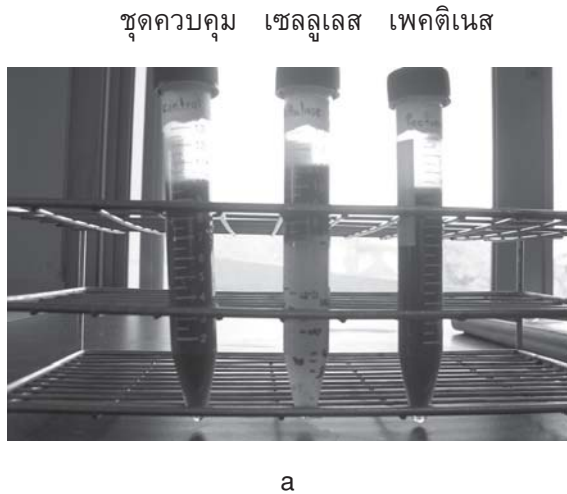
ปริมาณเซลล์  
(กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร)



ภาพที่ 2 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 96 ชั่วโมง

4. ผลของการใช้เอนไซม์ต่อการแยกน้ำมัน และของแข็งออกจากน้ำทิ้งดีแคเตอร์ของโรงงาน สกัดน้ำมันปาล์ม

จากการเติมเอนไซม์เซลลูเลส และเพคตินเอส ลงในน้ำทิ้งดีแคเตอร์ที่มีกิจกรรมเอนไซม์ 100 ยูนิต/มล. บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 180 นาที ดังแสดง ในภาพที่ 3



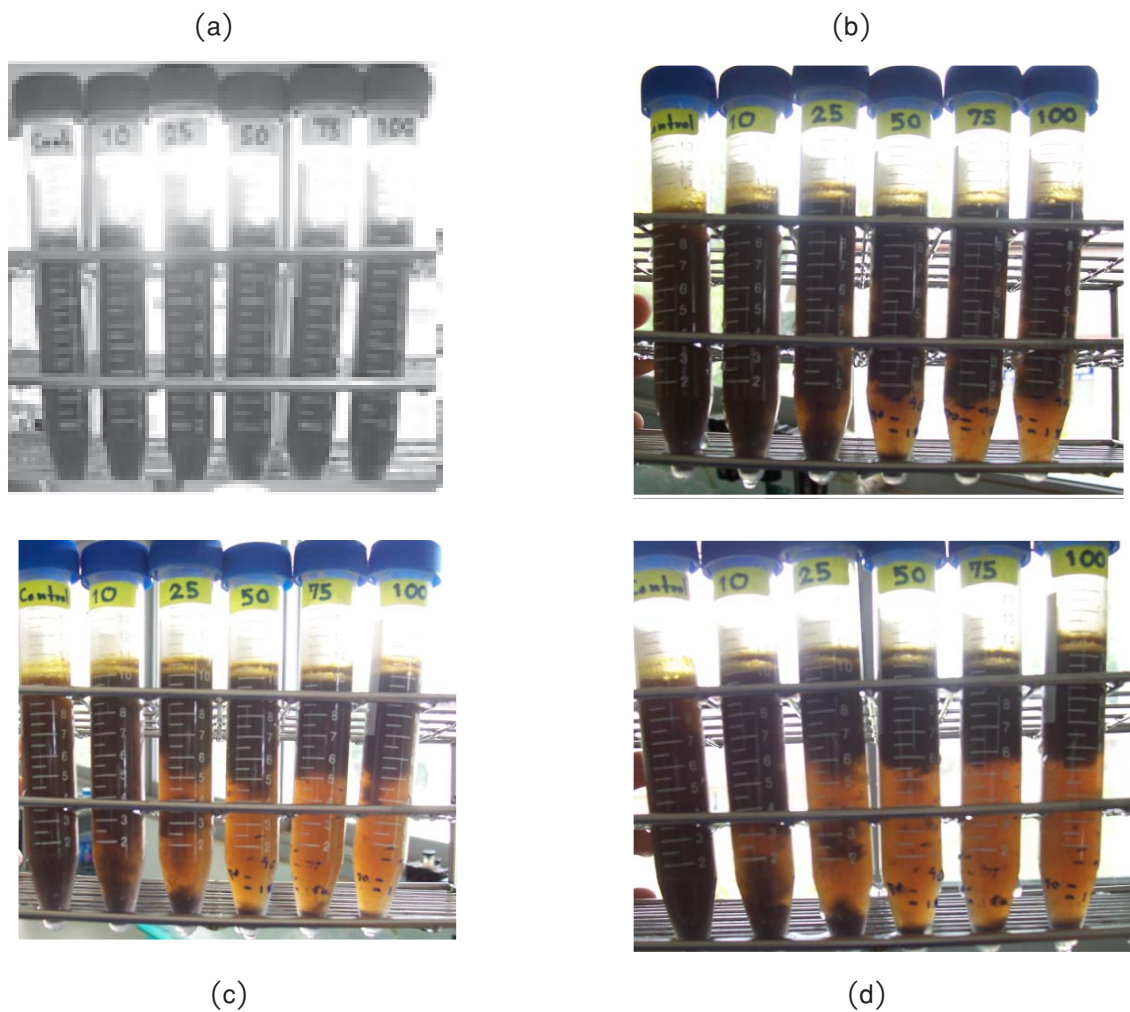
ภาพที่ 3 การใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเพคตินเอสต่อการแยกชั้นตะกอนลอยและของแข็ง เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา (a) 45 นาที และ (b) 180 นาที

พบว่า การเติมเอนไซม์เซลลูเลสสามารถ แยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งดีแคเตอร์ได้ดี กว่า โดยเริ่มแยกชั้นและปรากฏลักษณะของตะกอน ลอยออกจากน้ำทิ้งหลังการบ่ม 45 นาที และเมื่อบ่ม

เป็นเวลา 180 นาที พบว่าการเติมเอนไซม์เซลลูเลส จะเกิดการแยกของตะกอนลอยจากน้ำทิ้งได้อย่าง ชัดเจนขึ้น

### 5. ผลของเอนไซม์เซลลูเลสต่อการแยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งดีแคแเตอร์

นำเอนไซม์เซลลูเลสที่มีกิจกรรมเอนไซม์เริ่มต้น 5 ระดับ คือ 10, 25, 50, 75 และ 100 ยูนิต/มล. บ่มที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 180 นาที ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ผลของกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสเริ่มต้นต่อการแยกน้ำมันและของแข็งในน้ำทิ้งดีแคแเตอร์ บ่มที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา (a) 50 นาที, (b) 90 นาที, (c) 150 นาที และ (d) 180 นาที

พบว่า การเติมเอนไซม์ที่มีกิจกรรมเริ่มต้น 50, 75 และ 100 ยูนิต/มล. จะเริ่มเกิดการแยกชั้นของตะกอนชัดเจนหลังจากบ่มเป็นเวลา 50 นาที และเมื่อบ่มที่ 90 นาที การเติมเอนไซม์ที่มีกิจกรรมเริ่มต้น 25 และ 10 ยูนิต/มล. จะเริ่มเกิดการแยกชั้นของตะกอนหลังจากบ่มเป็นเวลา 90 และ 150 นาที ตามลำดับ และเมื่อบ่มเป็นเวลา 150 นาที พบว่าการเติมเอนไซม์ที่มีกิจกรรมเริ่มต้นเท่ากับ 10 ยูนิต/มล. สามารถทำให้เกิด

การลอยตัวของของแข็งได้เล็กน้อย ดังภาพย่อยที่ 4d

การแยกชั้นของน้ำมันและตะกอนลอยที่เวลา 180 นาที ได้ผลดังตารางที่ 4 จะเห็นว่าการใช้เอนไซม์ที่มีกิจกรรมเริ่มต้นในช่วง 10-100 ยูนิต/มล. ปริมาณตะกอนลอยเกิดขึ้นในช่วง 32.3-85.3% และปริมาณน้ำมันในช่วง 5.9-70.9% ตามลำดับ โดยการใส่เอนไซม์ที่มีกิจกรรม 100 ยูนิต/มล. สามารถแยกปริมาณตะกอนลอยและปริมาณน้ำมันได้สูงสุด



ตารางที่ 4 ปริมาณตะกอนลอยและปริมาณน้ำมันในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์เซลลูเลส

กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต/มล.)	ปริมาณน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณตะกอนลอย (เปอร์เซ็นต์)
10	5.98 <sub>±</sub> 0.04	32.33 <sub>±</sub> 0.13
25	41.26 <sub>±</sub> 0.03	40.49 <sub>±</sub> 0.06
50	56.68 <sub>±</sub> 0.11	47.57 <sub>±</sub> 0.05
75	65.00 <sub>±</sub> 0.08	68.98 <sub>±</sub> 0.14
100	70.93 <sub>±</sub> 0.05	85.25 <sub>±</sub> 0.05

### 6. การทดลองในปริมาณมากขึ้นที่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

เนื่องจากเอนไซม์มีราคาแพงสำหรับการนำไปใช้ในอุตสาหกรรม ดังนั้น จึงทดลองเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ โดยเตรียมเชื้อที่คัดเลือกได้ 2 สายพันธุ์คือสายพันธุ์ SU5 และ SU9 ที่สามารถแยกน้ำมันและของแข็งได้ดีที่สุดในห้องปฏิบัติการ นำมาศึกษาในปริมาณที่มากขึ้นที่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โดยเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งขนาด 100 ลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ที่อุณหภูมิห้อง โดยตั้งทิ้งไว้ให้เกิดตะกอนลอยและการตกตะกอนของของแข็ง ซึ่งพบว่าเชื้อสายพันธุ์ SU9 สามารถแยกตะกอนลอยได้ดีกว่าสายพันธุ์ SU5 และชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อมีค่าเท่ากับ 16.76%, 11.57% และ 3.88% ตามลำดับ สามารถแยกน้ำมันได้เท่ากับ 58.1%, 48.2% และ 16.8% ตามลำดับ และลดค่าซีไอได้ดี เท่ากับ 45.3%, 34.4% และ 25.0% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณตะกอนลอย ปริมาณน้ำมัน และค่าซีไอที่ดีที่สุดของน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ที่อุณหภูมิห้อง หลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

สายพันธุ์	ปริมาณตะกอนลอย (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)	ค่าซีไอที่ดีที่สุด (เปอร์เซ็นต์)
SU5	11.57 <sub>±</sub> 0.04	48.15 <sub>±</sub> 0.05	34.37 <sub>±</sub> 0.10
SU9	16.76 <sub>±</sub> 0.11	58.11 <sub>±</sub> 0.13	45.34 <sub>±</sub> 0.14
Control	3.88 <sub>±</sub> 0.07	16.78 <sub>±</sub> 0.02	24.97 <sub>±</sub> 0.05

### สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

1. จากเลี้ยงเชื้อจำนวน 6 สายพันธุ์ โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่มีค่า OD<sub>660</sub> เท่ากับ 0.5 ในน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม พบว่าเชื้อ SU5

และ SU9 ให้ประสิทธิภาพในการเกิดการลอยตัวของของแข็งได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิห้อง เมื่อบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และวางทิ้งไว้ 9 ชั่วโมง เกิดการลอยตัวของของแข็งเท่ากับ 30.2% และ 36.1% ตามลำดับ

และแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งได้เท่ากับ 44.4% และ 49.5% ตามลำดับ

2. เอนไซม์เซลลูเลสสามารถแยกน้ำมันและของแข็งออกจากน้ำทิ้งดีแคนเตอร์ได้ดีกว่าเอนไซม์เพคตินเนส และความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เกิดการแยกน้ำมันและของแข็ง คือ 10 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยสามารถแยกน้ำมันได้เท่ากับ 41.3% และเกิดตะกอนลอย 32.3% หลังการทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 180 นาที

3. เมื่อศึกษาในปริมาณ 100 ลิตรที่โรงงานเชื้อ SU9 ให้ประสิทธิภาพในการเกิดการลอยตัวของของแข็งได้ดีกว่า SU5 และชุดควบคุม ที่อุณหภูมิห้องใช้เวลาในการเลี้ยงเชื้อ 24 ชั่วโมง และเมื่อตั้งทิ้งไว้

9 ชั่วโมงเกิดการลอยตัวของของแข็งเท่ากับ 16.8%, 11.6% และ 3.9% ตามลำดับ แยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งได้เท่ากับ 58.1%, 48.2% และ 16.8% ตามลำดับ และลดค่าซีไอดีของน้ำทิ้งได้ 45.3%, 34.4% และ 24.3% ตามลำดับ การที่ชุดควบคุมสามารถลดค่าซีไอดีได้เนื่องจากมีเชื้อจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบริษัทน้ำมันพีชบริสุทธ์ จำกัด ที่ให้ความร่วมมือและความอนุเคราะห์ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง และขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ฝ่ายอุตสาหกรรม ที่ให้ทุนอุดหนุนโครงการวิจัย

### เอกสารอ้างอิง

- [1] เบญจวรรณชิตมณี. (2534). การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในน้ำทิ้งของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยเชื้อราที่แยกได้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- [2] ปรีชา มุณีศรี. (2538). การบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- [3] พูนสุข ประเสริฐสรรพ; อรัญ หันพงศ์กิตติกุล; และโสภา จันทภาโส. (2544). ปัจจัยที่มีผลต่อการบำบัดน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus niger* ATCC 6275 ที่เลี้ยงบนกากปาล์ม. วารสารสงขลานครินทร์. 23: 797-806.
- [4] โสภา จันทภาโส. (2541). ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกสารแขวนลอยและน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์และการลดความเข้มข้นของสี. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- [5] อรัญ หันพงศ์กิตติกุล; พูนสุข ประเสริฐสรรพ; กัลยา ศรีสุวรรณ; เสาวลักษณ์ จิตรบรรเจิดกุล; และวีรศักดิ์ ทองลิ้มปี. (2537). รายงานโครงการวิจัยการศึกษาวิธีแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม โครงการย่อย: การศึกษาในห้องปฏิบัติการ. สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- [6] A.O.A.C. (1999). Official Method of Analysis the Association of Official Analytical Chemists 16th ed. The Association of Official Analytical Chemists. Inc. Virginia.
- [7] APHA, AWWA and WEF. (1998). Standard Method for the Examination of Water and Wastewater. 18th ed. N. Y.: American Public Health Association.
- [8] Maiorano, A.E., Schmidell, W. and Ogaki, Y. (1995). Determination of the enzymatic activity of pectinases from different microorganisms. *Biotechnol.* 11: 355-356.
- [9] Mandels, M. and Weber, J. (1969). The production of cellulose. In *Cellulase and Their Application* (ed. R. E. Gould) Adv. Chem. Ser. 95. pp. 391-398, Washington, D.C.: American Chemistry Society.