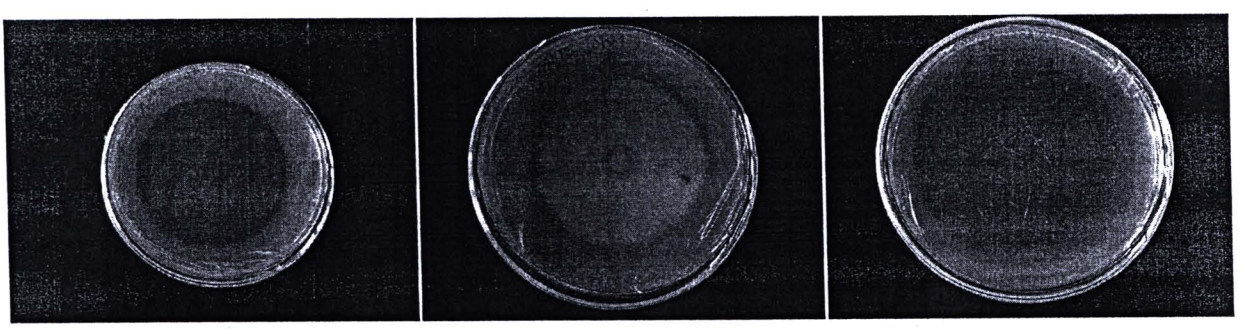
บทที่ 3

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ - 2 ก.ค. 2555
เลขทะเบียน 246761
เลขเรียกหนังสือ



SU-1 SU-2 SU-3

การศึกษาการลดสีน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มด้วยวิธีทางชีวภาพ

(Study of biological decolorization of palm oil mill effluent)

บทที่ 3
วิธีการทดลอง

1. ศึกษาองค์ประกอบน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

ตัวอย่างน้ำเสียจากบ่อบำบัดแบบเปิด (open pond system) ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานบริษัท ทักษิณปาล์ม (2521) จำกัด จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากบ่อสุดท้าย วิเคราะห์คุณลักษณะน้ำเสียตามพารามิเตอร์ต่าง ๆ ดังนี้

1.1 pH

- วิเคราะห์ด้วยเครื่อง pH meter

1.2 Chemical oxygen demand (COD)

- วิเคราะห์ด้วยวิธี Dichromate oxidation แบบ open reflux

1.3 Biological oxygen demand (BOD)

- วิเคราะห์ด้วยวิธี Azide modification of Winkler Method

1.4 Total Kjedahl nitrogen (TKN)

- วิเคราะห์ด้วยวิธี Kjeldahl nitrogen

1.5 Oil & grease

- วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Soxhlet

1.6 สี

- วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectophotometer โดยวิธีแพลทตินัม-โคบอลท์ (Livernoche et al., 1983)

2.คัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถลดสีน้ำเสียจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม

สุ่มเก็บตัวอย่างเชื้อราที่ได้จากบริเวณต่างๆ ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช และชุมพร นำตัวอย่างที่ได้เพาะลงอาหาร PDA จากนั้นกระตุ้นเชื้อเริ่มต้นโดยการถ่ายเส้นใยเห็ดแต่ละชนิดลงบนจานอาหาร PDA บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) ตัดเส้นใยเห็ดที่เจริญบนอาหารอายุ 5 วัน บริเวณขอบโคโลนี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. วางเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มีตัวอย่างน้ำเสียที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 1:0 1:1 1:2 และ 1:3 โดยเติมผงวุ้น 1.5 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนัก บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

สังเกตและบันทึกการเจริญของเส้นใยและสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ คัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการเจริญและกำจัดสีได้ที่ความเข้มข้นของน้ำเสียต่ำสุด

3. ทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์แลคเคส

นำจุลินทรีย์ที่ได้จากการคัดเลือกในข้อ 2 เพาะลงอาหาร PDA จากนั้นกระตุ้นเชื้อเริ่มต้นโดยการถ่ายเส้นใยเห็ดแต่ละชนิดลงบนจานอาหาร PDA บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) ตัดเส้นใยเห็ดที่เจริญบนอาหารอายุ 5 วัน บริเวณขอบโคโลนี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. วางเลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติม ABTS 0.03 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนัก บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

สังเกตและบันทึกการเจริญของเส้นใยและสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ คัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการเจริญและผลิตเอนไซม์แลคเคส

4. ทดสอบสภาวะที่เชื้อราความสามารถเจริญและกำจัดสีสูงสุด

4.1 สภาวะให้อากาศ

นำเชื้อที่คัดเลือกได้เพาะลงอาหารเหลวที่ความเข้มข้นน้ำเสียระดับต่างๆ ได้แก่ 1:1 1:2 และ 1:3 ทดสอบที่สภาวะมีอากาศ (เขย่า 200 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 12 วัน สังเกตการเจริญและบันทึกระยะเวลาที่เริ่มมีเส้นใยปรากฏ ที่เวลาบ่มต่าง ๆ นำตัวอย่างน้ำหมักวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส pH color COD และ total phenol เปรียบเทียบผลที่ได้เพื่อเลือกระดับความเข้มข้นของน้ำเสียที่เชื้อสามารถเจริญได้โดยเปรียบเทียบกับเชื้อ *P. Chrysosporium*

4.2 สภาวะไม่ให้อากาศ

นำเชื้อที่คัดเลือกได้เพาะลงอาหารเหลวที่ความเข้มข้นน้ำเสียระดับต่างๆ ได้แก่ 1:1 1:2 และ 1:3 ทดสอบที่สภาวะไม่ให้อากาศ เป็นเวลา 12 วัน สังเกตการเจริญและบันทึกระยะเวลาที่เริ่มมีเส้นใยปรากฏ ที่เวลาบ่มต่าง ๆ นำตัวอย่างน้ำหมักวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส pH color COD และ total phenol เปรียบเทียบผลที่ได้เพื่อเลือกระดับความเข้มข้นของน้ำเสียที่เชื้อสามารถเจริญได้โดยเปรียบเทียบกับเชื้อ *P. chrysosporium*