บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Bacillus subtilis* โดยแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ อาหารพื้นฐานที่มีโมลาส รองลงมา คือ CMC และน้ำตาลกลูโคส ส่วนแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ คือ อาหารพื้นฐานที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอน ผลของแหล่งไนโตรเจน พบว่าเชื้อสามารถเจริญ และผลิตเอนไซม์ได้ดีในอาหารพื้นฐานที่มียีสต์สกัดและ $NH_4H_2PO_4$ ผลของค่าพีเอช พบว่าอาหารพื้นฐานที่มีพีเอช 6.0 มีการเจริญของเชื้อสูงที่สุด ผลิตเอนไซม์ได้ 0.12 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 12 ชั่วโมง และอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 45 องศาเซลเซียส ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่มีกิจกรรม 0.15 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 12 ชั่วโมง

จากการทำบริสุทธิ์ขั้นต้นด้วยการตกตะกอนส่วนใสจากการเลี้ยงเชื้อ *Baciillus subtilis* A2 พบว่าการตกตะกอนด้วยอะซิโตนสามารถตกตะกอนได้เอนไซม์เซลลูเลสมากที่สุด 44.05 เปอร์เซ็นต์ กิจกรรมจำเพาะ 0.84 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ความบริสุทธิ์ 3.39 เท่า จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานและความคงตัวของเอนไซม์หยาบ ผลของพีเอช พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสสามารถทำปฏิกิริยาได้ดีที่สุดในบัพเฟอร์ที่มีพีเอช 5.0 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ผลของความคงตัวต่อพีเอชของเอนไซม์เซลลูเลสมีความคงตัวสูงในช่วงพีเอช 4-5 และมีความคงตัวสูงที่สุดที่ 45 องศาเซลเซียส

การแยกน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus subtilis* A2 พบว่ามีการแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งในปริมาณยังน้อย ทำให้เห็นความแตกต่างไม่ค่อยชัดเจน ส่วนการทดลองที่ใช้เอนไซม์เซลลูเลสที่ผ่านการทำบริสุทธิ์บางส่วนที่เวลา 12 ชั่วโมง ปริมาณตะกอนจะลดลงจาก 24.00 เป็น 20.33 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำมันในตะกอนลดลง เป็น 1.9 กรัมต่อลิตร แต่ประสิทธิภาพของการใช้เอนไซม์ยังไม่ค่อยดีหรือแยกได้ปริมาณที่น้อยมากจึงได้ศึกษาการแยกน้ำมันจากน้ำทิ้งโดยใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* A2 ในกระบอกตวง 50 มิลลิลิตร โดยไม่มีการเขย่า พบว่าไม่สามารถสรุปได้ว่าสามารถแยกน้ำมันจากกากตะกอนดีแคนเตอร์ได้ ทั้งนี้จุลินทรีย์อาจจะต้องการการเจริญเพื่อผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมาย่อยเซลลูโลสในกากตะกอนและอาจจะสามารถแยกน้ำมันออกได้

การใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* A2 ในการเจริญและแยกน้ำมันในน้ำทิ้งจากเครื่องดีแคนเตอร์ โดยการเขย่า พบว่าที่เวลา 72 ชั่วโมง ทำให้มีปริมาณของตะกอนของน้ำทิ้งลดลงมากที่สุด

และมีปริมาณน้ำมันในส่วนใสหลังจากปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนออกมามากที่สุด และการเจือจางของน้ำทิ้งที่ความเข้มข้นระดับ 1:1 ให้ผลการแยกน้ำมันออกจากตะกอนดีที่สุด แต่พบว่าการเติมแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนทำให้การแยกน้ำมันในน้ำทิ้งลดลง และการใช้น้ำทิ้งที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้การแยกน้ำมันออกจากตะกอนในน้ำทิ้งได้ดีกว่าชุดการทดลองที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ

จากการศึกษาสภาวะต่างๆ จะเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่ดีสุดในการแยกน้ำมันจากน้ำทิ้งโดยใช้เอนไซม์ หรือการใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* A2 นำไปทดลองที่โรงงานในขนาด 20 ลิตร พบว่ามีการแยกน้ำมันออกจากน้ำทิ้งน้อยมาก เห็นความแตกต่างไม่ชัดเจน แสดงว่าประสิทธิภาพของเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* A2 ยังไม่ค่อยดีหรือแยกได้ปริมาณที่น้อยมากและไม่สามารถสรุปได้ว่าสามารถแยกน้ำมันจากกากตะกอนดีแคนเตอร์ได้ อีกทั้งจากการศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ที่ผลิตได้ พบว่าไม่สามารถคงทนต่ออุณหภูมิและพีเอชได้ ยากต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในการแยกน้ำมันจากน้ำทิ้งที่โรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม ถึงแม้การฆ่าเชื้อสามารถให้การแยกน้ำมันออกจากตะกอนในน้ำทิ้งได้ดีกว่านั้นก็ยังคงเป็นไปได้ยากในโรงงานอุตสาหกรรมโดยทั่วไปที่มีบ่อขนาดใหญ่ สิ้นเปลืองพลังงาน