

การกำจัดไขมันในน้ำเสียโดยเอนไซม์และจุลินทรีย์
DISPOSAL OIL IN WASTEWATER BY ENZYMES AND MICROORGANISMS

พงศ์พันธุ์ เสือแก้ว วรพจน์ รัตนพันธุ์ สมพร เจนคุณาวัฒน์*
ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล
E-mail : somporn@rit.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเพื่อกำจัดไขมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียสังเคราะห์โดยเอนไซม์และจุลินทรีย์ จากการเปรียบเทียบจุลินทรีย์ในการบำบัดน้ำมันในน้ำเสียสังเคราะห์ 3 ชนิด พบว่า 3 วันหลังการบำบัด เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* สามารถลดปริมาณไขมันและน้ำมันจาก 4,645.83 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงเหลือ 3,029.16 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือมีประสิทธิภาพในการบำบัดไขมันและน้ำมันร้อยละ 34.79 รองลงมาได้แก่เชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas aeruginosa* สามารถลดปริมาณไขมันและน้ำมันลงเหลือ 3,116.67 และ 3,158.16 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อผ่านแปรปรมาณหัวเชื้อ *P. fluorescens* เริ่มต้น พบว่าปริมาณ *P. fluorescens* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 (v/v) มีประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ร้อยละ 42.95 การทดสอบปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ที่อัตราส่วนต่างๆ พบว่าปริมาณเอนไซม์ต่อน้ำเสียสังเคราะห์ที่ย่อยไขมันและน้ำมันได้ดีที่สุดคือ 1 กรัม : 100 มิลลิตร รองลงมาได้แก่ 0.91 กรัม : 100 มิลลิตร โดยมีความเข้มข้นของกรดไขมัน 0.0095 และ 0.0090 นอร์มัลตามลำดับ และไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับอัตราส่วนเอนไซม์ต่อน้ำเสียสังเคราะห์ที่ 0.83 : 100 0.66 : 100 และ 0.58 : 100 กรัมต่อมิลลิตร การทดสอบการบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์โดยเอนไซม์ร่วมกับจุลินทรีย์ พบว่าเอนไซม์ที่อัตราส่วน 0.75 กรัมต่อน้ำเสียสังเคราะห์ 100 มิลลิตรร่วมกับ เชื้อ *P. fluorescens* ความเข้มข้นร้อยละ 2 (v/v) ให้ปริมาณความเข้มข้นกรดไขมันสูงสุดที่ 4 วันหลังการย่อยสลายที่ 0.0174 นอร์มัล รองลงมาได้แก่ที่อัตราส่วน 0.66:100 และ 0.58:100 โดยมีปริมาณกรดไขมัน 0.116 และ 0.0105 นอร์มัลตามลำดับ และมีปริมาณกรดไขมันมากกว่าการย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่อัตราส่วน 0.75:100 อย่างเดียว 0.0094 นอร์มัล หรือมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันสูงขึ้นร้อยละ 117.50 การทดสอบในเครื่องย่อยไขมันโดยเอนไซม์และจุลินทรีย์ที่อัตราส่วนเอนไซม์ต่อน้ำเสียสังเคราะห์ 0.75:100 ร่วมกับเชื้อ *P. fluorescens* ร้อยละ 2 (v/v) ที่ระยะเวลา 4 วัน พบว่ามีความเข้มข้นของกรดไขมัน 0.0138 นอร์มัลต่ำกว่าการทดสอบโดยเครื่องจารเทสต์ร้อยละ 20.68

คำสำคัญ : เครื่องย่อยไขมัน เอนไซม์ น้ำเสีย การกำจัดไขมัน *Pseudomonas fluorescens* *Pseudomonas aeruginosa* *Bacillus subtilis*

1. บทนำ

ในปีการศึกษา 2545 ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร ได้รับทุนสนับสนุนในการทำโครงการเรื่องเครื่องแยกและย่อยไขมัน จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าการย่อยสลายไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ โดยเอนไซม์และจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการด้วยเครื่องจาร์เทสต์แล้วนำมาประยุกต์ใช้กับเครื่องย่อยที่สร้างพบว่าประสิทธิภาพในการย่อยของเครื่องนั้นต่ำกว่าการทดสอบในห้องปฏิบัติการและเนื่องจากระยะเวลาในการทดสอบมีจำกัดจึงไม่สามารถทำการทดลองแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นได้

การย่อยสลายไขมันโดยเอนไซม์ไลเปสมีการนำมาใช้ในทางพาณิชย์ในผงซักฟอกโดยมีการนำเอนไซม์มาผสมในสูตรผงซักฟอกเพื่อย่อยสลายไขมันที่ติดมากับเสื้อผ้า มีการจำหน่ายเอนไซม์ดังกล่าวเป็นการค้า เช่น เอนไซม์ Lipolase® - LipoPrime®

Karam&Nicell (1997) ได้รายงานการใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆ ในการย่อยสลายอินทรีย์สารและของเสียชนิดต่างๆ ไลเปส (Lipases) เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่มีการศึกษาเพื่อนำมาใช้ในการย่อยสลายของเสียประเภทไขมัน และมีการนำมาใช้ในวงการอุตสาหกรรมผงซักฟอกและอุตสาหกรรมสิ่งทอ

ได้มีการนำจุลินทรีย์มาช่วยย่อยสลายน้ำมันที่ปนเปื้อนบนดินและน้ำโดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันจากเรือบรรทุกน้ำมัน พบว่าในการย่อยสลายน้ำมันตามชายหาดโดยจุลินทรีย์เมื่อมีการใช้ปุ๋ยร่วมกับจุลินทรีย์จะทำให้การย่อยสลายน้ำมันเกิดขึ้นได้ดีและเร็วขึ้น ศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ได้คัดสายพันธุ์จุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปส เช่น สายพันธุ์ *Bacillus subtilis* TISTR No. 1248 *Pseudomonas aeruginosa* TISTR No. 1287 และมี สายพันธุ์เชื้อราและยีสต์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้คือ *Aspergillus versicolor* TISTR No. 3460 และ *Yarrowia lipolytica* TISTR No. 5621

คณะผู้วิจัยจึงมีความประสงค์ที่จะทดสอบหาปัจจัยที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันในน้ำเสียโดย

เอนไซม์และจุลินทรีย์เพิ่มเติม โดยการนำจุลินทรีย์จากศูนย์จุลินทรีย์มาศึกษาเปรียบเทียบ และศึกษาเอนไซม์ไลเปสชนิดอื่นๆ ที่มีจำหน่ายเพื่อนำผลการศึกษามาจัดแปลงเครื่องย่อยไขมันให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ตลอดจนการลดต้นทุนในการบำบัดให้ถูกลงและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์

2. วิธีการทดลอง

2.1 การทดสอบปัจจัยที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมัน

กำหนดให้ น้ำเสียสังเคราะห์ใช้ในการบำบัดด้วยจุลินทรีย์เป็นน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีธาตุอาหารเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ค่าซีไอดี 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีน้ำมันและไขมันจากน้ำมันผสม (Oil Mixture) ประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะกอก 4,645.83 มิลลิกรัมต่อลิตร เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายน้ำมันคือเอนไซม์ เค็มไซม์ พีเอส ทราย (Kemzyme PS Dry) และจุลินทรีย์ *P. fluorescens* *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* ตรวจวัดการย่อยสลายน้ำมันโดยการไตเตรตหาปริมาณกรดไขมันอิสระด้วยการนำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการย่อย 5 มิลลิลิตร เติมน้ำเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับอะซิโตนในอัตราส่วน 1:1 เติมน้ำสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ไตเตรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.025 นอร์มัล คำนวณความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระจากสมการ

$$N_1 V_1 = N_2 V_2 \quad (1)$$

เมื่อ

N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์, นอร์มัล

N_2 = ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระ, นอร์มัล

V_1 = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรต, มิลลิลิตร

V_2 = ปริมาตรของสารตัวอย่าง, มิลลิลิตร

(Kittaphatmontree, 1997)

วิเคราะห์น้ำมันและไขมันโดยการสกัดด้วยเฮกเซน โดยการนำน้ำตัวอย่างที่ผ่านการย่อย 200 มิลลิลิตร มา

เตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีน้ำมันผสม (น้ำมันถั่ว
เหลือง น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะกอก) ปนเปื้อนร้อยละ 3

โดยใช้น้ำเสียสังเคราะห์ต่อน้ำมันที่ 19,400:600 มิลลิลิตร เติมน้ำมัน 150 กรัม เปิดเครื่องกวนที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมงแล้วปิดเครื่อง จากนั้นเติมเชื้อ *P. fluorescens* ร้อยละ 2 (v/v) หรือ 400 มิลลิลิตร และเติมอากาศด้วยมอเตอร์เติมอากาศเป็นเวลา 4 วัน ทำการไตเตรตหาความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระ เปรียบเทียบกับการย่อยโดยเครื่องจาร์เทสต์ของน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีน้ำมันปนเปื้อนร้อยละ 3 ที่เติมน้ำมัน 0.75 กรัมต่อน้ำเสียสังเคราะห์ 100 มิลลิลิตร ร่วมกับเชื้อ *P. fluorescens* ร้อยละ 2 (v/v) ปั่นที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 2 ชั่วโมงและเติมอากาศเป็นเวลา 4 วัน

3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 การทดสอบปัจจัยที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมัน

การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันของจุลินทรีย์

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันในน้ำเสียสังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ 3 ชนิด คือ *P. fluorescens* *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* พบว่า น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีปริมาณน้ำมันและไขมัน 4,645.83 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเติมเชื้อดังกล่าวเพื่อย่อยสลายน้ำมันและไขมันที่เจือปน ปริมาณน้ำมันและไขมันลดลงตามระยะเวลาในการย่อยสลาย โดยเชื้อ *P. fluorescens* สามารถที่จะย่อยสลายน้ำมันและไขมันเจือปนได้ดีที่สุด โดยในวันที่ 3 หลังการย่อยสลายน้ำมัน ปริมาณน้ำมันและไขมันลดลงเหลือ 3,029.16 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาได้แก่ *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* ที่ 3,116.67 และ 3,158.16 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันที่ร้อยละ 34.79 32.91 และ 32.01 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) แต่จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

ตารางที่ 1 ปริมาณน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เติมจุลินทรีย์เพื่อย่อยสลายน้ำมันและไขมันที่ระยะเวลา 1 2 และ 3 วัน

จุลินทรีย์	น้ำมันและไขมัน (มก./ล.)		
	1 วัน	2 วัน	3 วัน
<i>P. fluorescens</i>	3,333.34	3,195.83	3,029.16
<i>B. subtilis</i>	3,533.33	3,333.33	3,116.67
<i>P. aeruginosa</i>	3,639.93	3,387.33	3,158.16

CV = 6.72%

ns = ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การทดลองที่ 2 ศึกษาปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมัน

จากการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันในน้ำเสียของเชื้อ *P. fluorescens* *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* เพื่อคัดเลือกหาเชื้อจุลินทรีย์ที่ดีที่สุดโดยมีระยะเวลาการบำบัด 3 วัน พบว่าเชื้อ *P. fluorescens* ให้ค่าของน้ำมันและไขมันน้อยที่สุดในวันที่ 3 จึงนำเชื้อ *P. fluorescens* มาทำการทดลองเพื่อหาปริมาณจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมัน

ในวันที่ 4 หลังการเติมเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าน้ำเสียที่เติมจุลินทรีย์ร้อยละ 1 มีลักษณะค่อนข้างใส มีสีขาวขุ่นเล็กน้อย ไม่มีกลิ่นเหม็น คราบไขมันสีเหลืองลอยอยู่บางส่วน และมีคราบไขมันจับตัวกันเป็นครีมบางๆ สีขาวลอยอยู่ทั่วไป ที่ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ร้อยละ 2 มีลักษณะน้ำเสียเช่นเดียวกับที่ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ร้อยละ 1 แต่มีคราบไขมันสีเหลืองลอยอยู่บางส่วนน้อยกว่า

จากการทดลองพบว่าน้ำเสียสังเคราะห์เมื่อผ่านการบำบัดด้วย *P. fluorescens* ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาการบำบัดแตกต่างกัน ปริมาณน้ำมันและไขมันมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาการบำบัดที่เพิ่มขึ้น และลดลงตามปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น โดยที่ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ร้อยละ 1 มีปริมาณน้ำมันและไขมันภายหลังการบำบัดครบ 4 วัน 2,775.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนที่เชื้อจุลินทรีย์ร้อยละ 2 มีปริมาณน้ำมันและไขมันภายหลังการบำบัดครบ 4 วัน 2,650.00 มิลลิกรัม

ต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 2 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมันและไขมันที่ระยะเวลาการย่อยสลายน้ำมันที่ 4 วัน พบว่าปริมาณเชื้อร้อยละ 1 มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำมันและไขมันร้อยละ 40.26 และปริมาณเชื้อร้อยละ 2 มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำมันและไขมันร้อยละ 42.95 โดยอัตราการบำบัดจะสูงมากในช่วงวันที่ 1 และช้าลงในวันที่ 2 3 และ 4

ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำมันและไขมันที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 1 2 3 และ 4 วัน โดยเชื้อ *P. fluorescens* ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีการเติมอากาศ

สิ่งทดลอง	น้ำมันและไขมัน (มก./ล.)			
	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน
<i>P. fluorescens</i> 1%	3,275.00	3,025.00	2,866.67	2,775.00 ^{ns}
<i>P. fluorescens</i> 2%	3,208.33	2,950.00	2,767.67	2,650.00

CV = 7.13%

ns = ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของเกตุศุคนธ์ (2539) ที่ศึกษาเรื่องการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันพบว่าการใช้จุลินทรีย์ *Geotrichum candidum* ในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของ *Geotrichum candidum* ร้อยละ 4 โดยปริมาตรมีประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมันและไขมันได้ดีที่สุดร้อยละ 43.30

การทดลองที่ 3 การทดสอบปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม

ลักษณะของน้ำเสียสังเคราะห์โดยทั่วไปมีคราบน้ำมันจำนวนมากเกาะติดกันเป็นแพลอยอยู่เต็มบริเวณผิวหน้า สีเหลืองเข้มมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 7 อุณหภูมิ 25.83 องศาเซลเซียส และมีความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระเฉลี่ย 0.0045 นอร์มัล

ลักษณะสมบัติของน้ำเสียเมื่อผ่านการบำบัดที่ระยะเวลา 4 วัน น้ำเสียสังเคราะห์ที่เติมเอนไซม์ 0.75-

1.00 กรัม มีลักษณะสีน้ำตาลอ่อนค่อนข้างใส มีความขุ่นเล็กน้อย ไม่มีกลิ่นเหม็น คราบน้ำมันมีสีเหลืองลอยอยู่บางส่วนเป็นกลุ่มๆ และมีคราบน้ำมันจับตัวกันเป็นครีมบางๆ สีขาวลอยอยู่ทั่วไป มีตะกอนสีน้ำตาลอ่อนตกอยู่ก้นภาชนะเล็กน้อย ส่วนน้ำเสียสังเคราะห์ที่เติมเอนไซม์ 0.58-0.66 กรัม มีลักษณะสีน้ำตาลอ่อนค่อนข้างใสมีความขุ่นเล็กน้อย ไม่มีกลิ่นเหม็น คราบน้ำมันมีสีเหลืองลอยอยู่บางส่วนและมีคราบน้ำมันจับกันถึงเป็นครีมบางๆ สีขาว

ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากการทดลองพบว่าน้ำเสียเมื่อผ่านการบำบัดด้วยเอนไซม์ที่ปริมาณและระยะเวลาการบำบัดแตกต่างกัน ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น และค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 จากนั้นจะค่อนข้างคงที่ในวันที่ 2 ถึงวันที่ 4 ในปริมาณเอนไซม์เดียวกัน น้ำเสียสังเคราะห์ที่เติมเอนไซม์ 1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มีค่าความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระภายหลังการบำบัดในวันที่ 3 และ 4 มากที่สุดคือ 0.0095 นอร์มัล และน้ำเสียสังเคราะห์ที่เติมเอนไซม์ที่อัตรา 0.58 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มีค่าความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระ 0.0055 นอร์มัล ตั้งแต่วันที่ 2 และไม่เพิ่มขึ้นอีกเลย ดังแสดงในตารางที่ 3 โดยอัตราส่วนเอนไซม์ต่อน้ำเสีย 1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และ 0.91 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอัตราส่วนอื่น

ตารางที่ 3 ปริมาณความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระที่ระยะเวลาการย่อยสลาย 1 2 3 และ 4 วัน

เอนไซม์ : น้ำเสีย (ก./มล.)	กรดไขมันอิสระ (นอร์มัล)			
	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน
1.00:100	0.00930	0.00930	0.00950	0.0095 ^a
0.91:100	0.00900	0.00900	0.0090	0.0090 ^a
0.83:100	0.00810	0.00810	0.0082	0.0082 ^b
0.75:100	0.00800	0.00800	0.0080	0.0080 ^b
0.66:100	0.00600	0.00600	0.0060	0.0061 ^c

0.58:100	0.00550.00550.0055 0.0055 ^c
CV = 20.63%	
* ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่มีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05	

การทดลองที่ 4 การทดสอบการย่อยสลายน้ำมันโดยจุลินทรีย์และเอนไซม์

จากการทดสอบการย่อยสลายน้ำมันในน้ำเสียด้วยเอนไซม์ร่วมกับจุลินทรีย์ พบว่าที่อัตราส่วนเอนไซม์ต่อน้ำเสียสังเคราะห์ 0.75 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มีความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระภายหลังการบำบัด 4 วันมากที่สุดคือ 0.0174 นอร์มัล ในขณะที่อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อน้ำเสียสังเคราะห์ 0.58 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มีความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระภายหลังการบำบัด 4 วัน น้อยที่สุดคือ 0.0105 นอร์มัล ดังแสดงในตารางที่ 4 โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 5) แสดงว่าการเติมเอนไซม์ต่อน้ำเสีย (w/v) 0.75 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระจะเพิ่มขึ้นในช่วงการบำบัดที่ 1 วัน คือจาก 0.0045 นอร์มัล เป็น 0.0080 ในระยะเวลาการบำบัด 1 วัน และไม่เพิ่มขึ้นอีกเลยการเติมเอนไซม์ต่อน้ำเสีย 0.75 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเติมเชื้อ *P. fluorescens* ร้อยละ 2 (v/v) พบว่าค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบำบัดที่เพิ่มขึ้น โดยมีค่าสูงสุดที่ 4 วัน และมีปริมาณมากกว่าการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันปนเปื้อนโดยเอนไซม์อย่างเดียวถึง 0.0094 นอร์มัล หรือมีประสิทธิภาพสูงขึ้นร้อยละ 117.50 จึงมีประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียได้ดีกว่าเอนไซม์เพียงอย่างเดียว และปริมาณความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระที่เพิ่มขึ้นอาจเป็นเพราะว่าเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นมานั้น เป็นเอนไซม์พวก เอ็กstrasellular Enzyme (Extracellular Enzyme) ซึ่งทำการย่อยสลายไขมันภายนอกเซลล์ และมีการนำกรดไขมันไปใช้น้อยกว่าจึงทำให้ปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของ เกียรติณรงค์และ ใจเสาะ (2545)

ตารางที่ 4 ปริมาณความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระที่ถูกย่อยสลายโดยการเติมเชื้อ *P. fluorescens* ร้อยละ 2 ของน้ำเสียสังเคราะห์และเติมอากาศที่ปริมาณเอนไซม์ต่างๆ

เอนไซม์ : น้ำเสีย (ก./มล.)	กรดไขมันอิสระ (นอร์มัล)			
	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน
0.75:100	0.013	0.015	0.016	0.0174 ^a
	8	6	5	*
0.66:100	0.010	0.011	0.011	0.0116 ^b
	3	1	1	
0.58:100	0.010	0.010	0.009	0.0105 ^c
	3	3	8	

CV = 22.98%				
* ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์ที่มีอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05				

ตารางที่ 5 ปริมาณความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระหลังการบำบัดน้ำมันในน้ำเสียด้วยเอนไซม์ 0.75 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรและเอนไซม์ 0.75 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตรร่วมกับ จุลินทรีย์ที่ระยะเวลาการบำบัด 1 2 3 และ 4 วัน

สิ่งทดลอง	กรดไขมันอิสระ (นอร์มัล)			
	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน
เอนไซม์	0.008	0.008	0.008	0.008
	0	0	0	0
เอนไซม์และจุลินทรีย์	0.013	0.015	0.016	0.017
	8	6	5	4

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพเครื่องย่อยไขมัน

การทดสอบการย่อยไขมันด้วยเครื่องย่อยไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีน้ำมันผสมปนเปื้อนร้อยละ 3 เมื่อเติมเอนไซม์ต่อน้ำเสีย (w/v) เท่ากับ 0.75:100 และเติมเชื้อ *P. fluorescens* ความเข้มข้นร้อยละ 2 (v/v) เติมหาอากาศเป็นระยะเวลา 4 วัน พบว่าปริมาณความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันโดยเครื่องย่อยไขมันเฉลี่ย 0.0138 นอร์มัล ในขณะที่ทดสอบด้วยเครื่องจาร์เทสต์มีความเข้มข้นของกรดไขมันเฉลี่ย 0.0174 ซึ่งมีประสิทธิภาพต่ำกว่าการ

ทดสอบในห้องปฏิบัติการร้อยละ 20.68 แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ปริมาณความเข้มข้นกรดไขมันอิสระที่ย่อยด้วยเครื่องย่อยไขมันเปรียบเทียบกับกรดย่อยด้วยเครื่องจาร์เทสต์ที่ระยะเวลา 1 2 3 และ 4 วัน

การทดสอบ	กรดไขมันอิสระ (นอร์มัล)			
	1 วัน	2 วัน	3 วัน	4 วัน
เครื่องย่อยไขมัน	0.010	0.011	0.012	0.013
เครื่องจาร์เทสต์	8	3	6	8
เครื่องจาร์เทสต์	0.013	0.015	0.016	0.017
เครื่องจาร์เทสต์	8	6	5	4

สรุปผลการทดลอง

1. จากการเปรียบเทียบเชื้อ *P. fluorescens*, *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* ในการย่อยสลายน้ำมันพบว่า เชื้อ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมัน ดีที่สุด คือร้อยละ 34.79 รองลงมาได้แก่เชื้อ *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันร้อยละ 32.91 และ 32.01 ตามลำดับ

2. เชื้อ *P. fluorescens* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 (v/v) สามารถย่อยสลายน้ำมันได้ดีกว่าเชื้อที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 (v/v) โดยมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันร้อยละ 42.95 และ 40.20 ตามลำดับ

3. ปริมาณเอนไซม์มีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมัน โดยประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อน้ำเสียสังเคราะห์ 1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีที่สุด และที่อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อน้ำเสียสังเคราะห์ 0.58 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันต่ำที่สุด

4. การย่อยสลายน้ำมันโดยใช้เอนไซม์ที่อัตราส่วนของเอนไซม์ต่อน้ำเสียสังเคราะห์ 0.75 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ร่วมกับเชื้อ *P. fluorescens* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบำบัด

ที่เพิ่มขึ้น โดยให้ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระสูงที่สุดที่ 4 วันหลังการย่อยสลาย 0.0174 นอร์มัล

5. การทดสอบการย่อยสลายน้ำมันด้วยเครื่องย่อยไขมันพบว่าปริมาณความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระที่ได้จากการย่อยสลายน้ำมันโดยเครื่องย่อยไขมันเฉลี่ย 0.0138 นอร์มัล ในขณะที่ทดสอบด้วยเครื่องจาร์เทสต์มีความเข้มข้นของกรดไขมันเฉลี่ย 0.0174 ซึ่งมีประสิทธิภาพต่ำกว่าการทดสอบในห้องปฏิบัติการร้อยละ 20.68

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินการทำโครงงานวิศวกรรมครั้งนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยความรู้และความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมพร เจริญคุณวัฒน์ ที่ปรึกษาโครงงานวิศวกรรม

ขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ฝ่ายอุตสาหกรรมภายใต้โครงการโครงงานอุตสาหกรรมสำหรับนักศึกษาปริญญาตรี [Industrial Projects for Undergraduate Students (IPUS)] ประจำปี 2547 และบริษัท ธานี เทวดิ่ง จำกัด ในการสนับสนุนทุนวิจัย



เอกสารอ้างอิง

- เกียรติณรงค์ คุรุบา และ เจษฎา เงามณี. 2545. เครื่องแยกและย่อยไขมัน. โครงการวิศวกรรม. ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, ปทุมธานี.
- เกตุศุคนธ์ มณีวรรณ. 2539. การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ ในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมัน. รายงานการวิจัย, ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม.

- Karam, J. & Nicell, J. A. 1997. Potential applications of enzymes in waste treatment. J. Chem Tech Biotechnology. 69 : 141 – 153.
- Kitiphatmontree, M. 1997. The Kinetic Study of Lipase – Catalysed Hydrolysis of Olive Oil in Microemulsion – Based Gels. MSc. Thesis, Presented to Ramkhamhaeng University, Bangkok.