

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่สามารถลดค่าซีโอดีในน้ำเสียได้ดี

จากการนำน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตผลไม้กระป๋องจากโรงงานแห่งหนึ่งในจังหวัดชลบุรี มาทดลองเลี้ยงยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ จำนวน 5 สายพันธุ์ เพื่อลดค่าซีโอดีของน้ำเสีย ซึ่งน้ำเสียที่นำมาใช้ในการทดลองมีลักษณะดังนี้ คือ มีค่าซีโอดี $5,300 \pm 15.27$ มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 4.2 ± 0.00 น้ำตาลรีดิวซ์ 8.87 ± 0.02 กรัมต่อลิตร มีสีเหลืองอ่อน มีสารแขวนลอย 0.17 ± 0.00 กรัมต่อลิตร สารทั้งหมด 5.3 ± 0.07 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4-1)

ตารางที่ 4-1 ลักษณะน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่ลดค่าซีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋อง

ตัวแปรที่วิเคราะห์	ปริมาณ
ซีโอดี	$5,300 \pm 15.27$ มิลลิกรัมต่อลิตร
พีเอช	4.2 ± 0.00
น้ำตาลรีดิวซ์	8.87 ± 0.02 กรัมต่อลิตร
สี	เหลืองอ่อน
สารแขวนลอย	0.17 ± 0.00 กรัมต่อลิตร
สารทั้งหมด	5.3 ± 0.07 กรัมต่อลิตร

การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ทำได้โดยนำยีสต์แต่ละสายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* (S1), *Saccharomyces cerevisiae* (S2), *Candida utilis* CBS 1517, *Candida utilis* ATCC 9226 และยีสต์ที่แยกได้จากน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋อง (W1) ไปเลี้ยงในน้ำเสียเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และเจือจางให้ได้ค่า OD ที่ 0.5 แล้วนำไปใส่ลงในฟลาस्कที่มีน้ำเสียที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปบ่มบนเครื่องเขย่าอัตราความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ผลของการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่สามารถลดค่าซีโอดีได้ดี มีดังตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-2 การเจริญและการลดค่าซีโอดีของยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋อง

สายพันธุ์ยีสต์	S1	S2	CBS1517	ATCC9226	W1
COD ที่ลดลง (%)	86.8±0.52	88.24±0.23	89.7±0.11	87.9±0.23	88±0.76
น้ำหนักร					
เซลล์แห้ง (g/L)	0.31±0.00	0.3±0.00	0.32±0.00	0.30±0.00	0.31±0.00
ฟิเอช	3.69±0.01	3.66±0.00	4.41±0.02	4.25±0.03	3.83±0.03
น้ำตาล					
ที่ใช้ไป (%)	99.95±0.00	100±0.00	99.94±0.00	99.86±0.01	99.96±0.00

จากตารางที่ 4-2 จะเห็นได้ว่า ผลการทดลองคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่สามารถลดค่าซีโอดีในน้ำเสีย นั้นมีรายละเอียดดังนี้

1. ค่าซีโอดี

ความสามารถในการลดค่าซีโอดีของยีสต์ทั้ง 5 สายพันธุ์ พบว่า แต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการลดค่าซีโอดีได้ค่อนข้างดี คืออยู่ในช่วง 86.8-89.7 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำเสียมีค่าซีโอดีเริ่มต้น 5,300 มิลลิกรัมต่อลิตร และยีสต์ที่สามารถลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุดคือ *C. utilis* CBS 1517 ซึ่งสามารถลดค่าซีโอดีได้ 89.7±0.11 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ One Way ANOVA พบว่ามีความแตกต่างของแต่ละสายพันธุ์ในการลดลงของเปอร์เซ็นต์ซีโอดีอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

2. น้ำหนักเซลล์แห้ง

จากการทดลองเลี้ยงยีสต์ทั้ง 5 สายพันธุ์ในน้ำเสีย พบว่า มีน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 0.30-0.32 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4-2) โดยยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด คือ 0.32±0.00 กรัมต่อลิตร จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งของทั้ง 5 สายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

3. น้ำตาลรีดิวซ์

น้ำเสียมีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 8.87±0.02 กรัมต่อลิตร จากการทดลอง พบว่า สายพันธุ์ยีสต์ทั้ง 5 สายพันธุ์ ใช้น้ำตาลอยู่ในช่วงระหว่าง 99.83-100 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 4-2 ซึ่งยีสต์ S1 มี

ปริมาณน้ำตาลที่เหลือน้อยที่สุด คือ 0 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ *C. utilis* CBS 1517 ใช้น้ำตาลไป 99.94 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าปริมาณการใช้น้ำตาลของยีสต์แต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

4. ฟีเอช

จากการทดลองพบว่า น้ำเสียเริ่มต้นมีฟีเอช 4.2 หลังจากนำไปหมักในเครื่องเขย่าเป็นเวลา 72 ชั่วโมง น้ำเสียจะมีฟีเอชอยู่ระหว่าง 3.66-4.41 (ตารางที่ 4-2) ซึ่งยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 มีฟีเอชหลังการทดลองสูงกว่ายีสต์สายพันธุ์อื่น คือ 4.41 ± 0.02 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าฟีเอชของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ หลังทำการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

จากผลการทดลองข้างต้น จึงได้เลือก *C. utilis* CBS 1517 มาทำการทดลองในขั้นต่อไป เนื่องจากสามารถลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุด

สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์

1. ผลของฟีเอช

ศึกษาผลของฟีเอชเริ่มต้นของน้ำเสียต่อการเจริญและการลดค่าซีโอดีของ *C. utilis* CBS 1517 โดยน้ำเสียที่นำมาใช้ในการทดลองมีค่าซีโอดี $4,533 \pm 4.94$ มิลลิกรัมต่อลิตร ฟีเอช 3.38 ± 0.00 น้ำตาลรีดิวซ์ 5.46 ± 0.01 กรัมต่อลิตร มีสีเหลืองอ่อน มีสารแขวนลอย 0.15 ± 0.01 กรัมต่อลิตร สารทั้งหมด 5 ± 0.07 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4-3) โดยผลการทดลองมีดังตารางที่ 4-4

ตารางที่ 4-3 ลักษณะน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองหาฟีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์

C. utilis CBS 1517

ตัวแปรที่วิเคราะห์	ปริมาณ
ซีโอดี	$4,533 \pm 4.94$ มิลลิกรัมต่อลิตร
ฟีเอช	3.38 ± 0.00
น้ำตาลรีดิวซ์	5.46 ± 0.01 กรัมต่อลิตร
สี	เหลืองอ่อน
สารแขวนลอย	0.15 ± 0.01 กรัมต่อลิตร
สารทั้งหมด	5 ± 0.07 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4-4 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเจริญของยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 ในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋อง

พีเอช				
ตัวแปรที่วิเคราะห์	3.38 (Control)	3.5	4	4.5
COD ที่ลดลง (%)	75.3±0.86	81.7±0.17	78±1.17	76.3±1.57
น้ำหนักรีดแห้ง (g/L)	0.25±0.01	0.28±0.006	0.27±0.01	0.26±0.00
พีเอชน้ำตาล	3.57±0.08	3.94±0.01	4.85±0.03	6.24±0.04
ที่ใช้ไป (%)	99.77±0.04	99.82±0.05	99.83±0.02	99.84±0.02

จากตารางที่ 4-4 จะเห็นได้ว่าการทดลองผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเจริญของยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 ในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋อง มีรายละเอียดดังนี้

1. ค่าซีไอดี

พบว่าสายพันธุ์ยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 สามารถลดค่าซีไอดีในน้ำเสียที่มีพีเอชเริ่มต้นต่างกันได้ระหว่าง 75.3-81.7 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 4-4 ซึ่งที่พีเอช 3.5 ยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 สามารถลดค่าซีไอดีได้ดีที่สุด คือ 81.7±0.17 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ One Way ANOVA พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ของการลดลงของเปอร์เซ็นต์ซีไอดีของน้ำเสียที่ปรับพีเอช

2. น้ำหนักรีดแห้ง

พบว่าน้ำหนักรีดแห้งของยีสต์ในน้ำเสียที่ปรับพีเอชระหว่าง 3.5-4.5 มีค่าระหว่าง 0.25-0.28 กรัมต่อลิตร ซึ่งที่พีเอช 3.5 จะมีน้ำหนักรีดแห้งสูงสุด คือ 0.28±0.00 กรัมต่อลิตร จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ของน้ำหนักรีดแห้งเมื่อทำการปรับพีเอชเริ่มต้นของน้ำเสีย

3. น้ำตาลรีดิวซ์

จากการทดลองพบว่า ยีสต์ใช้น้ำตาลในน้ำเสียในช่วงระหว่าง 99.77-99.84 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าปริมาณการใช้น้ำตาลในน้ำเสียที่ปรับพีเอชที่กำหนดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

4. พีเอช

พบว่าหลังการทดลองน้ำเสียมีพีเอชระหว่าง 3.57-6.24 และน้ำเสียที่มีพีเอชเริ่มต้นเป็น 4.5 จะมีพีเอชสูงสุด คือ 6.24 ± 0.04 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าพีเอชของน้ำเสีย หลังทำการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

จากการทดลองทั้งหมดข้างต้น พบว่า พีเอชที่เหมาะสมต่อยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 คือน้ำเสียที่ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 เนื่องจากสามารถลดค่าซีไอดีและได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่าน้ำเสียที่ปรับพีเอชเริ่มต้นอื่น จึงเลือกน้ำพีเอช 3.5 ไปใช้ในการทดลองหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อไป

2. แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม

จากการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญและการลดลงของค่าซีไอดีของน้ำเสีย ซึ่งน้ำเสียที่นำมาใช้ในการทดลอง มีค่าซีไอดี $5,200 \pm 14.14$ มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 3.45 ± 0.00 น้ำตาลรีดิวซ์ 4.21 ± 0.02 กรัมต่อลิตร มีสีเหลืองอ่อน มีสารแขวนลอย 0.18 ± 0.00 กรัมต่อลิตร สารทั้งหมด 5.5 ± 0.1 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4-5) โดยแหล่งไนโตรเจนที่นำมาศึกษา ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต, แอมโมเนียมคลอไรด์ และยูเรียในปริมาณ 0, 0.05, 0.1 และ 0.15 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4-5 ลักษณะน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์

C. utilis CBS 1517

ตัวแปรที่วิเคราะห์	ปริมาณ
ซีไอดี	$5,200 \pm 14.14$ มิลลิกรัมต่อลิตร
พีเอช	3.45 ± 0.00
น้ำตาลรีดิวซ์	4.21 ± 0.02 กรัมต่อลิตร
สี	เหลืองอ่อน
สารแขวนลอย	0.18 ± 0.00 กรัมต่อลิตร
สารทั้งหมด	5.5 ± 0.1 กรัมต่อลิตร

1. ค่าซีไอดี

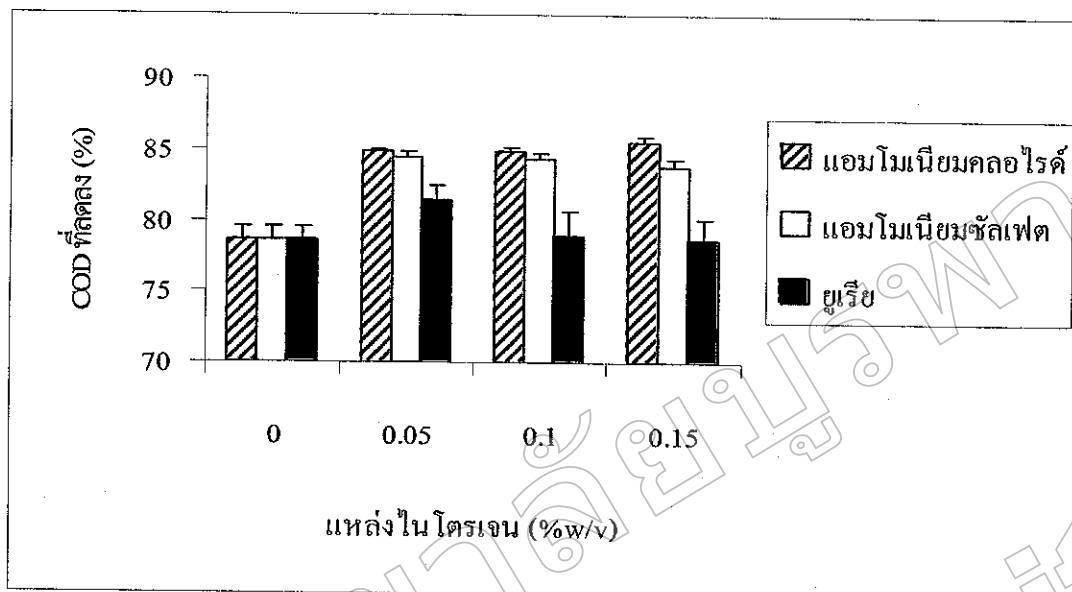
พบว่าเมื่อเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณ 0-0.15 เปอร์เซ็นต์ลงในน้ำเสีย สามารถลดค่าซีไอดีได้ระหว่าง 78.6-84.5 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4-1 ซึ่งเมื่อเติมปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตใน

ปริมาณ 0.05 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุด คือ 84.5 ± 0.34 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Model I ANOVA (Two Fixed Factors) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ของการลดลงของเปอร์เซ็นต์ซีโอดีของน้ำเสียที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณที่กำหนดไว้

เมื่อเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ในปริมาณ 0-0.15 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดค่าซีโอดีได้ระหว่าง 78.6-85.5 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4-1 แต่น้ำเสียที่เติมแอมโมเนียมคลอไรด์ปริมาณ 0.15 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุด คือ 85.5 ± 0.05 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Model I ANOVA (Two Fixed Factors) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ของการลดลงของเปอร์เซ็นต์ซีโอดีของน้ำเสียที่เติมแอมโมเนียมคลอไรด์ในปริมาณที่กำหนดไว้

เมื่อเติมยูเรียในปริมาณ 0-0.15 เปอร์เซ็นต์ นั้นสามารถลดค่าซีโอดีได้ระหว่าง 78.6-81.4 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4-1 แต่ปริมาณยูเรียที่เติมแล้วยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 ลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุด คือ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ลดค่าซีโอดีได้ 81.4 ± 1.00 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Model I ANOVA (Two Fixed Factors) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ของการลดลงของเปอร์เซ็นต์ซีโอดีของน้ำเสียที่เติมยูเรียในปริมาณที่กำหนดไว้

ผลจากการเติมแหล่งไนโตรเจน 3 ชนิดลงไปในน้ำเสียพบว่า เมื่อเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.15 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 ลดค่าซีโอดีได้ดีที่สุด คือ 85.5 ± 0.41 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4-1 ค่าซีโอดีที่ลดลงเมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 ในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่เติมแอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรียในปริมาณ 0-0.15 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าอัตราความเร็ว 200 รอบต่อนาที

2. น้ำหนักเซลล์แห้ง

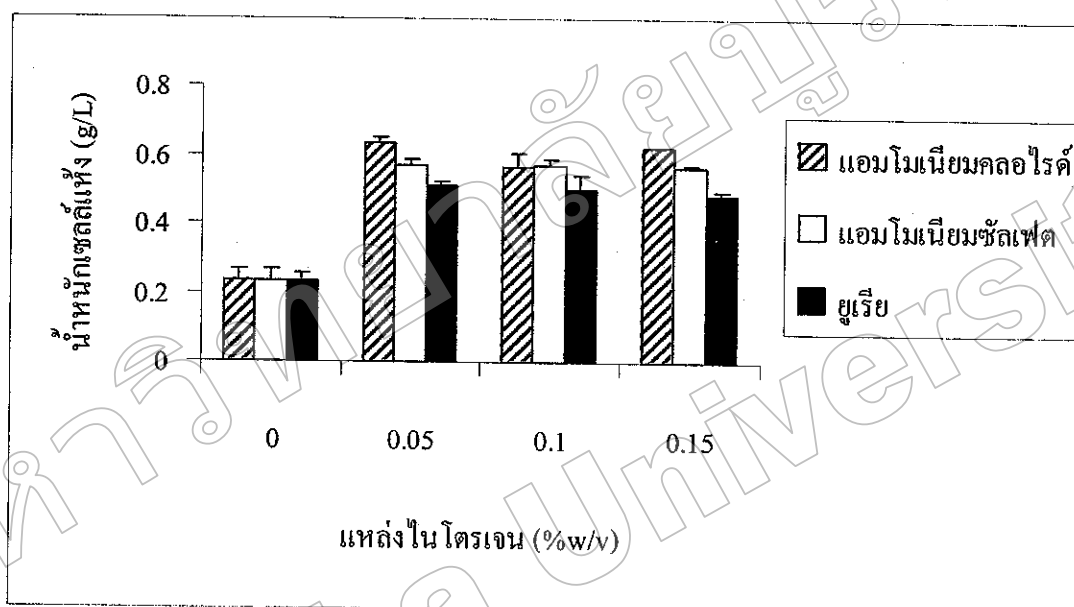
พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ในน้ำเสียที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 0-0.15 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักเซลล์แห้งใกล้เคียงกัน คือ อยู่ระหว่าง 0.23-0.57 กรัมต่อลิตร ดังภาพที่ 4-2 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ของน้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อทำการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตของน้ำเสียในปริมาณต่าง ๆ ที่กำหนดไว้

น้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ในน้ำเสียที่มีการเติมแอมโมเนียมคลอไรด์จะอยู่ระหว่าง 0.23-0.63 กรัมต่อลิตร ดังภาพที่ 4-2 ซึ่งน้ำเสียที่มีการเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.05 เปอร์เซ็นต์ จะมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุด คือ 0.63 ± 0.03 กรัมต่อลิตร จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ของน้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อทำการเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ของน้ำเสียในปริมาณต่าง ๆ ที่กำหนดไว้

น้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ในน้ำเสียที่มีปริมาณยูเรีย 0-0.15 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 0.23-0.512 กรัมต่อลิตร ซึ่งน้ำเสียที่เติมยูเรียปริมาณ 0.05 เปอร์เซ็นต์มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด คือ 0.51 ± 0.01 ดังภาพที่ 4-2 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่ามี

ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ของน้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อทำการเติมยวรีของน้ำเสียในปริมาณต่าง ๆ ที่กำหนดไว้

แหล่งในโตรเจนที่เติมลงในน้ำเสียแล้วทำให้ยีสต์ชนิดนี้มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดคือ แอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.63 ± 0.03 กรัมต่อลิตร



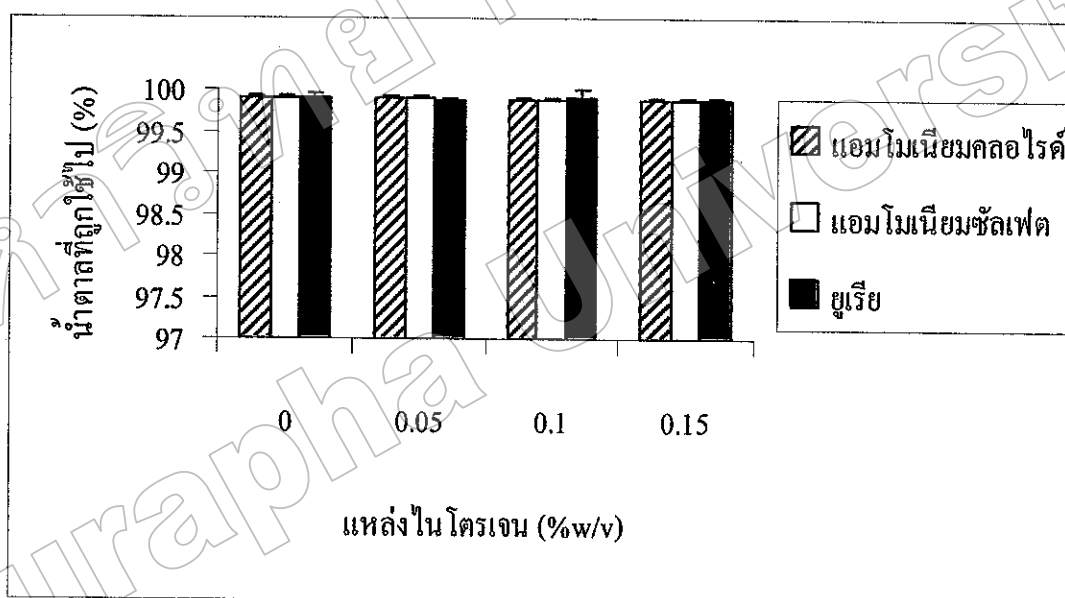
ภาพที่ 4-2 น้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 ในน้ำเสียจากโรงงาน ผลไม้กระป๋องที่เติมแอมโมเนียมคลอไรด์, แอมโมเนียมซัลเฟต และยวรีในปริมาณ 0-0.15 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าอัตราความเร็ว 200 รอบต่อนาที

3. น้ำตาลรีดิวซ์

มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 4.21 ± 0.02 กรัมต่อลิตร จากการทดลองเมื่อเติมแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่ามีการใช้น้ำตาลไปอยู่ระหว่าง 99.88-99.91 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4-3 แต่น้ำเสียที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณ 0.05 เปอร์เซ็นต์จะเหลือปริมาณน้ำตาลน้อยที่สุด คือ 0.09 ± 0.01 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ของปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไปเมื่อทำการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในน้ำเสียในปริมาณต่าง ๆ ที่กำหนดไว้

เมื่อเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ พบว่า มีการใช้ปริมาณน้ำตาลอยู่ระหว่าง 99.88-99.91 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4-3 ปริมาณน้ำตาลที่เหลือน้อยที่สุด คือ น้ำเสียที่เติมแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.05 เปอร์เซ็นต์ เหลือปริมาณน้ำตาลอยู่ 0.09 ± 0.01 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ของปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไปเมื่อทำการเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ในน้ำเสียในปริมาณต่าง ๆ ที่กำหนดไว้

จากการทดลองเมื่อเติมยูเรียในน้ำเสีย พบว่า มีการใช้ปริมาณน้ำตาลอยู่ระหว่าง 99.87-99.9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปริมาณการใช้น้ำตาลใกล้เคียงกัน ดังภาพที่ 4-3 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ของปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไปเมื่อทำการเติมยูเรียในน้ำเสียในปริมาณต่าง ๆ ที่กำหนดไว้



ภาพที่ 4-3 น้ำตาลที่ใช้ไปเมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 ในน้ำเสียโรงงานผลไม้กระป๋องที่เติมแอมโมเนียมคลอไรด์, แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรียในปริมาณ 0-0.15 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าอัตราความเร็ว 200 รอบต่อนาที

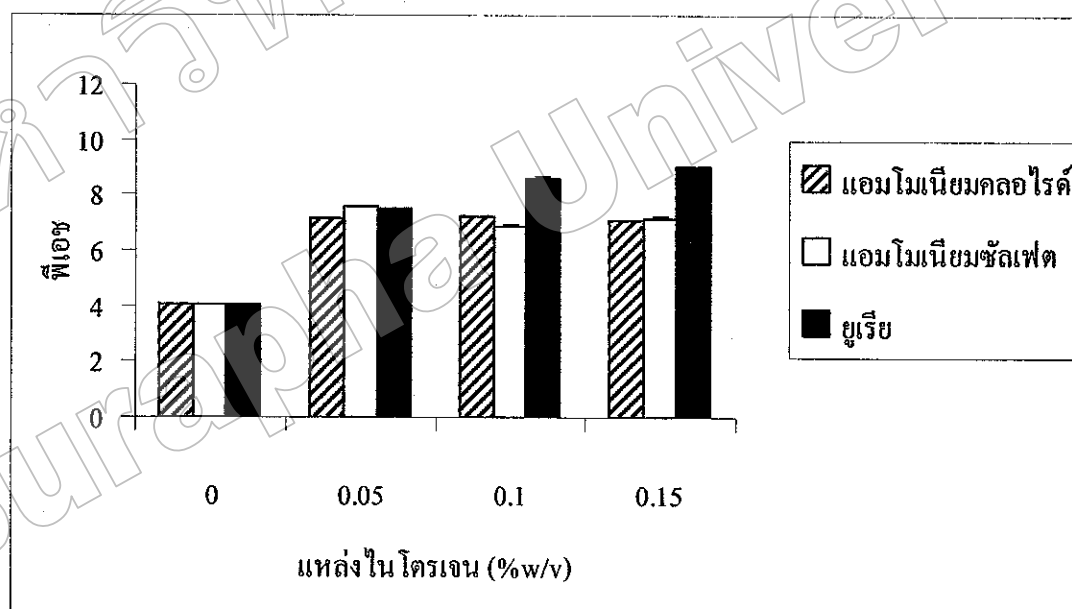
4. พีเอช

จากการทดลองพบว่า จากพีเอชน้ำเสียเริ่มต้นคือ 3.5 เมื่อเติมแอมโมเนียมซัลเฟต แล้วพีเอชจะเพิ่มขึ้นหลังการทดลอง คือ อยู่ระหว่าง 4.06-7.6 ซึ่งน้ำเสียที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟต ปริมาณ 0.05 เปอร์เซ็นต์มีพีเอชสูงที่สุด คือ 7.6 ± 0.02 ดังภาพที่ 4-4 จากการวิเคราะห์

ความแปรปรวน พบว่าฟิเฮอร์หลังทำการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในน้ำเสียในปริมาณต่าง ๆ ที่กำหนดไว้

จากการทดลอง เมื่อเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ พบว่า น้ำเสียหลังทำการทดลองมีฟิเฮอร์อยู่ระหว่าง 4.06-7.21 และน้ำเสียที่เติมแอมโมเนียมคลอไรด์ปริมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์มีฟิเฮอร์สูงสุด คือ 7.21 ± 0.02 ดังภาพที่ 4-4 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่าฟิเฮอร์หลังทำการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเติมแอมโมเนียมคลอไรด์ในน้ำเสียในปริมาณต่าง ๆ ที่กำหนดไว้

จากการทดลองเมื่อเติมยูเรีย พบว่า ฟิเฮอร์ของน้ำเสียหลังทำการทดลองอยู่ระหว่าง 4.06-9.06 น้ำเสียที่เติมยูเรียในปริมาณ 0.15 เปอร์เซ็นต์จะมีฟิเฮอร์สูงสุด คือ 9.06 ± 0.01 ดังภาพที่ 4-4 จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า ฟิเฮอร์หลังทำการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเติมยูเรียในน้ำเสียในปริมาณต่าง ๆ ที่กำหนดไว้



ภาพที่ 4-4 ฟิเฮอร์เมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 ในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่เติมแอมโมเนียมคลอไรด์, แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรียในปริมาณ 0-0.15 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บนเครื่องเขย่าอัตราความเร็ว 200 รอบต่อนาที

จากการทดสอบความแปรปรวนด้วยผลของแหล่งในโตรเจนทั้ง 3 ชนิดโดยใช้ Model I ANOVA (Two Fixed Factors) พบว่า

1. เปอร์เซ็นต์ซีโอดีที่ลดลงของน้ำเสียเมื่อเติมแหล่งในโตรเจนทั้ง 3 ชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) หลังจากทำ Post Hoc Test พบว่า เปอร์เซ็นต์การลดลงของค่าซีโอดีระหว่างแอมโมเนียมคลอไรด์และแอมโมเนียมซัลเฟตไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เนื่องจากเปอร์เซ็นต์ซีโอดีที่ลดลงเฉลี่ยไม่แตกต่าง คือ 83.5 เปอร์เซ็นต์ และ 82.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนยูเรียเปอร์เซ็นต์ซีโอดีที่ลดลงแตกต่างจากแหล่งในโตรเจนอื่น ($p < 0.05$) คือ มีค่าเปอร์เซ็นต์การลดลงของค่าซีโอดีน้อยกว่า คือ 79.53 เปอร์เซ็นต์
2. พีเอชของแหล่งในโตรเจนทั้ง 3 แหล่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) หลังจากทำ Post Hoc Test พบว่า แหล่งในโตรเจนที่ทำให้พีเอชไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) คือ แอมโมเนียมซัลเฟตและแอมโมเนียมคลอไรด์ เนื่องจากมีพีเอชเฉลี่ยใกล้เคียงกัน คือ 6.49 และ 6.38 ส่วนยูเรียมีพีเอชเฉลี่ยหลังการทดลองสูงกว่า คือ 7.3 จึงมีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับแหล่งในโตรเจนอื่น
3. น้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์เมื่อเติมแหล่งในโตรเจนทั้ง 3 แหล่งลงไปนํ้าเสียมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) หลังจากทำ Post Hoc Test พบว่า น้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อเพาะเลี้ยงโดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟตและแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งในโตรเจนไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เนื่องจากมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเซลล์แห้งใกล้เคียงกัน ส่วนยูเรียมีน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยน้อยกว่าแหล่งในโตรเจนอื่นอย่างชัดเจน จึงแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับแหล่งในโตรเจนอื่น
4. เปอร์เซ็นต์การใช้ปริมาณน้ำศาลของแหล่งในโตรเจนทั้ง 3 แหล่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) หลังจากทำ Post Hoc Test พบว่า เปอร์เซ็นต์การใช้ปริมาณน้ำศาลของยีสต์เมื่อเติมแอมโมเนียมคลอไรด์และยูเรีย ไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เนื่องจากมีค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การลดลงของการใช้น้ำศาลใกล้เคียงกัน ส่วนแอมโมเนียมซัลเฟตมีค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การลดลงของการใช้น้ำศาลมากกว่าแหล่งในโตรเจนอื่นอย่างชัดเจน จึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับแหล่งในโตรเจนอื่น

จากผลการทดลองข้างต้น แม้ว่ายูเรียจะทำให้ค่าซีโอดีของน้ำเสียลดลงน้อยกว่าการเติมแหล่งในโตรเจนอีก 2 ชนิด แต่การลดลงของค่าซีโอดีก็ยังคงสูงพอสมควร นอกจากนั้นยูเรียยังมีราคาถูกกว่าแหล่งในโตรเจนอื่น จากการสำรวจราคาสารปริมาณ 500 กรัม พบว่า แอมโมเนียมซัลเฟตราคา 270 บาท แอมโมเนียมคลอไรด์ราคา 420 บาท ยูเรียราคา 250 บาท ส่วนราคาปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรียในท้องตลาด เมื่อเทียบราคาต่อเนื้อธาตุต่อ 1 กิโลกรัมแล้วยูเรียถูกกว่าแอมโมเนียม

ซัลเฟต 4-8 บาทต่อกิโลกรัม นอกจากนั้นปุ๋ยยูเรียยังเป็นปุ๋ยที่ให้ธาตุไนโตรเจนที่มีราคาต่อหน่วยต่ำที่สุด จึงเลือกใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนให้กับ *C. utilis* CBS 1517

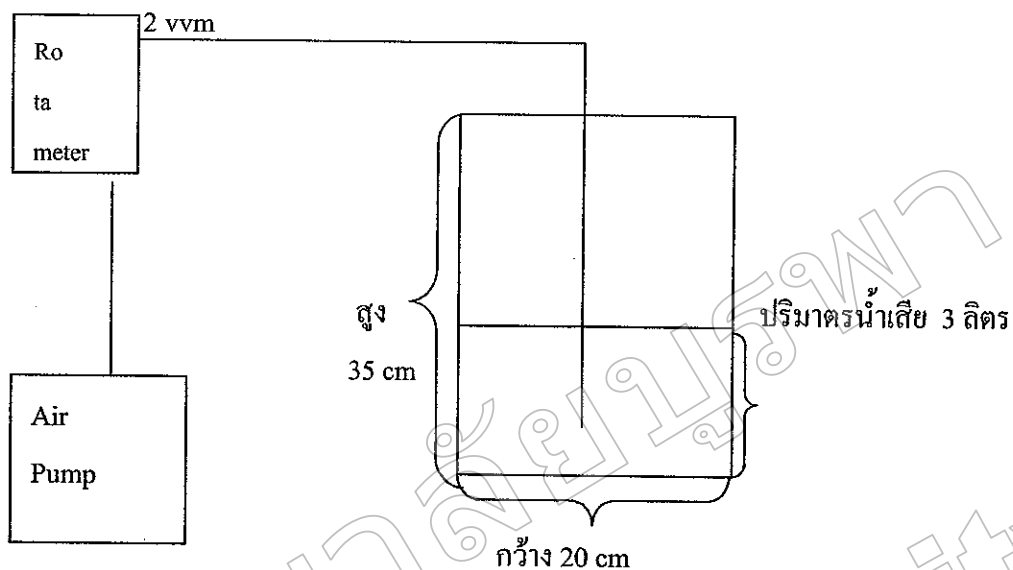
การทดลองโดยจำลองระบบบำบัดน้ำเสีย

1. ระบบบำบัดแบบเบ็คเตอรีจ

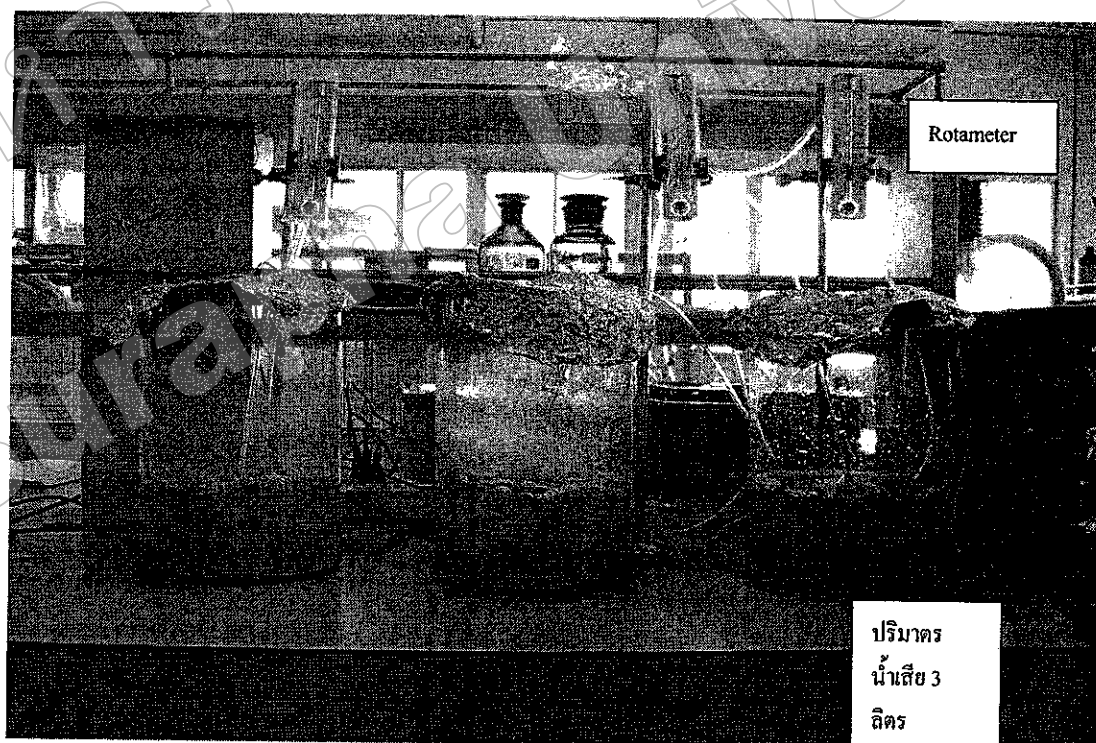
ลักษณะน้ำเสียก่อนที่ใช้ในการทดลองแบบเบ็คเตอรีจมีค่าซีไอดี $4,000 \pm 20$ มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 4.35 ± 0.01 น้ำตาลรีดิวซ์ 2.34 ± 0.06 กรัมต่อลิตร มีสีเหลืองอ่อน มีสารแขวนลอย 0.17 ± 0.00 กรัมต่อลิตร สารทั้งหมด 5.1 ± 0.1 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4-6) ทำการปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมแหล่งไนโตรเจนให้กับยีสต์ คือ ยูเรียในปริมาณ 0.05 เปอร์เซ็นต์ และทำการทดลองบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋อง ในระบบบำบัดจำลองแบบเบ็คเตอรีจ (ภาพที่ 4-5 และ 4-6) ซึ่งมีปริมาตรน้ำเสีย 3 ลิตร ในโหลแก้วขนาด 8 ลิตร ที่มีปริมาณอากาศคงที่ที่ 2 vvm โดยใช้ Rotameter เป็นตัวควบคุมปริมาณอากาศที่จะเข้าไปในระบบ โดยใช้ Air Pump เป็นตัวให้อากาศ

ตารางที่ 4-6 ลักษณะน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองแบบเบ็คเตอรีจของยีสต์ *C. utilis* CBS 1517

ตัวแปรที่วิเคราะห์	ปริมาณ
ซีไอดี	$4,000 \pm 20$ มิลลิกรัมต่อลิตร
พีเอช	4.35 ± 0.01
น้ำตาลรีดิวซ์	2.34 ± 0.06 กรัมต่อลิตร
สี	เหลืองอ่อน
สารแขวนลอย	0.17 ± 0.00 กรัมต่อลิตร
สารทั้งหมด	5.1 ± 0.1 กรัมต่อลิตร



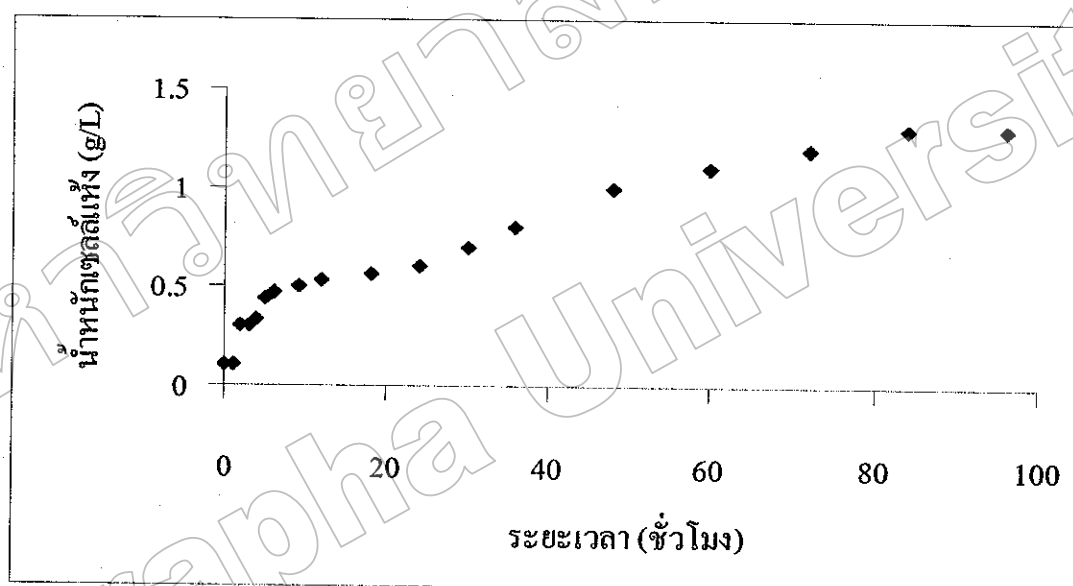
ภาพที่ 4-5 ชุดจำลองการทดลองแบบเบ็ดเสร็จ



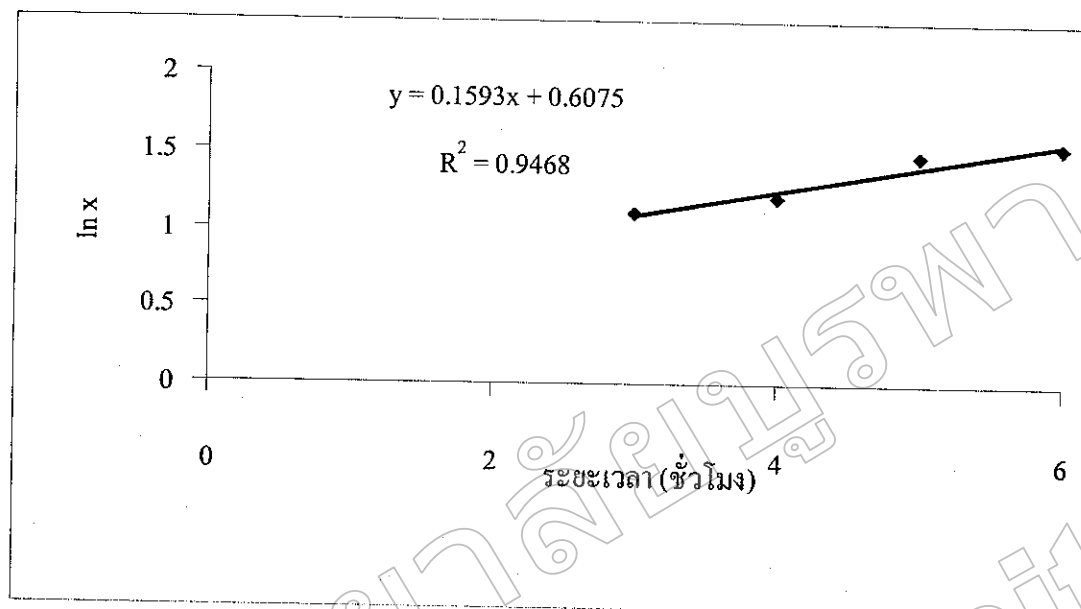
ภาพที่ 4-6 ชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จแสดงโหลแก้วบรรจุน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องปริมาณ 3 ลิตร มีการให้อากาศแก่น้ำเสียและควบคุมปริมาณอากาศไว้ที่ 2 vvm โดยใช้ Rotameter ซึ่งทำการทดลอง 3 ชั่วโมง โดยในแต่ละโหลเป็น 1 ชั่วโมงของการทดลอง

1.1 การหาค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ผลการทดลองมีดังนี้

หาอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดของยีสต์ในน้ำเสีย โดยการทดลองในน้ำเสียที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ที่ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 และใส่ยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) มีการให้อากาศด้วยเครื่องให้อากาศ (Air Pump) ที่มีปริมาณอากาศคงที่ที่ 2 vvm เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับระยะเวลาที่เพาะเลี้ยงจะได้กราฟดังภาพที่ 4-6 จากภาพจะพบว่ายีสต์สายพันธุ์ *C. utilis* CBS 1517 จะมีระยะปรับตัว (Lag Phase) ในช่วงสั้น ๆ ในระหว่าง 1-2 ชั่วโมงแรกและเข้าสู่ระยะการเติบโตทางเลข (Log Phase) ในช่วง 3-84 และเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ในช่วงสุดท้ายที่ชั่วโมงที่ 84-96 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาหาอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดจะได้เท่ากับ 0.15 h^{-1} ดังภาพที่ 4-7



ภาพที่ 4-7 การเจริญของยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋อง ที่ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว และมีการให้อากาศที่ 2 vvm เป็นเวลา 96 ชั่วโมง



ภาพที่ 4-8 อัตราการเจริญเฉพาะสูงสุด (μ_{max}) ของยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่นิ่งนำเชื้อแล้ว และมีการให้อากาศ 2 vvm

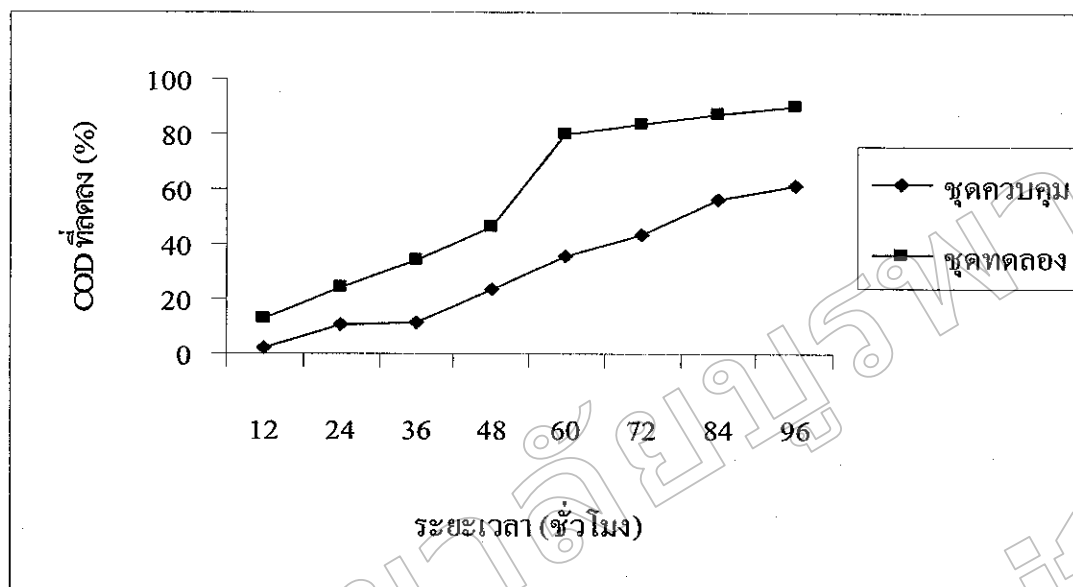
1.2 การทดลองในระบบบำบัดจำลองแบบเบ็ดเสร็จ

นำน้ำเสียที่จะนำมาทำการทดลองมาปรับให้มีสถานะที่เหมาะสมต่อการลดค่า

ซีไอดีและการเจริญของยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 ตามผลการทดลองข้างต้น โดยแบ่งเป็น 2 ชุด คือ ชุดทดลองและชุดควบคุม ซึ่งมีการเติมยูเรียและให้อากาศเช่นเดียวกับชุดทดลอง ส่วนชุดทดลองเติมยีสต์ที่ทดลองที่เจือจางจนมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.5 ในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ชุดควบคุมไม่ได้ใส่ยีสต์สายพันธุ์ที่ทำการทดลองลงไป และมีการให้อากาศด้วยเครื่องให้อากาศ (Air Pump) โดยมีการควบคุมปริมาณอากาศด้วย Rotameter ให้มีปริมาณอากาศคงที่ที่ 2 vvm ทั้งชุดควบคุมและชุดทดลอง ดังภาพที่ 4-5 และ 4-6

1.2.1 ค่าซีไอดี

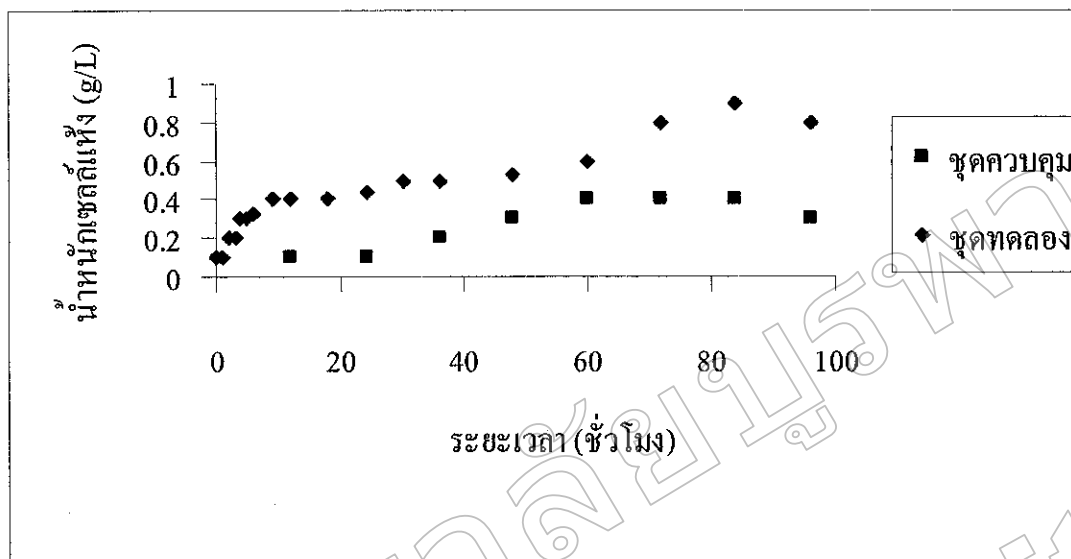
จากผลการทดลองพบว่า ชุดควบคุมของแบบเบ็ดเสร็จที่ไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) สามารถลดค่าซีไอดีได้ 61.3 ± 1.15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการทดลองเป็นเวลา 96 ชั่วโมง ส่วนชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จ ลดค่าซีไอดีได้ 89.9 ± 1.42 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4-9



ภาพที่ 4-9 การลดลงของซีโอดีในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องเมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศ 2 vvm

1.2.2 น้ำหนักเซลล์แห้ง

พบว่าในชุดควบคุมแบบเบ็ดเสร็จที่ไม่เติมยีสต์ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 0-0.3 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดอยู่ที่ 60 ชั่วโมง ในชุดทดลองมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.1-0.9 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมง 1-96 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดอยู่ที่ 84 ชั่วโมง คือ 0.9 ± 0.00 กรัมต่อลิตร ในชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จ ดังภาพที่ 4-10

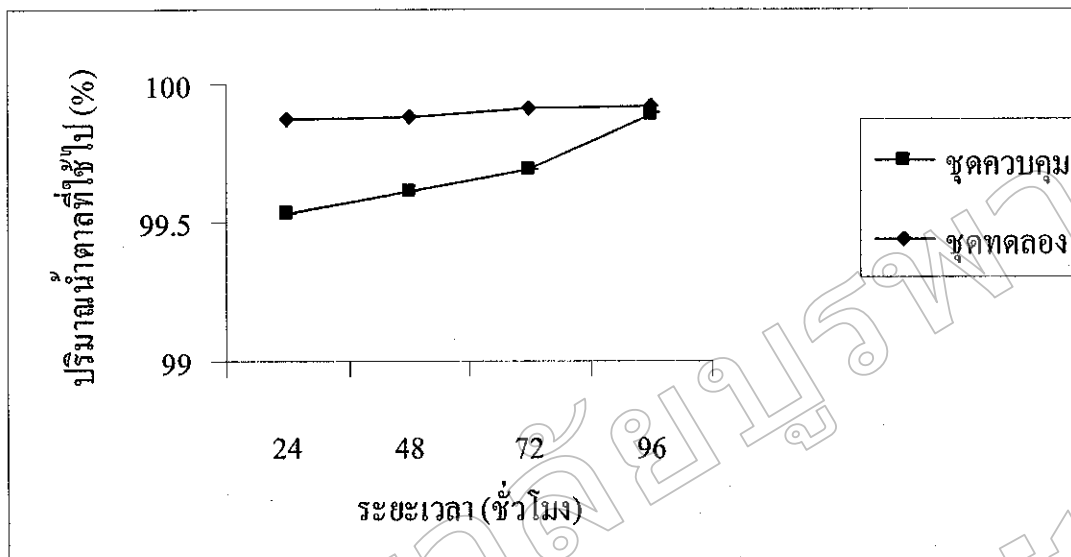


ภาพที่ 4-10 น้ำหนักเซลล์แห้งในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องเมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS

1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศที่ 2 vvm

1.2.3 น้ำตาลรีคิวซ์

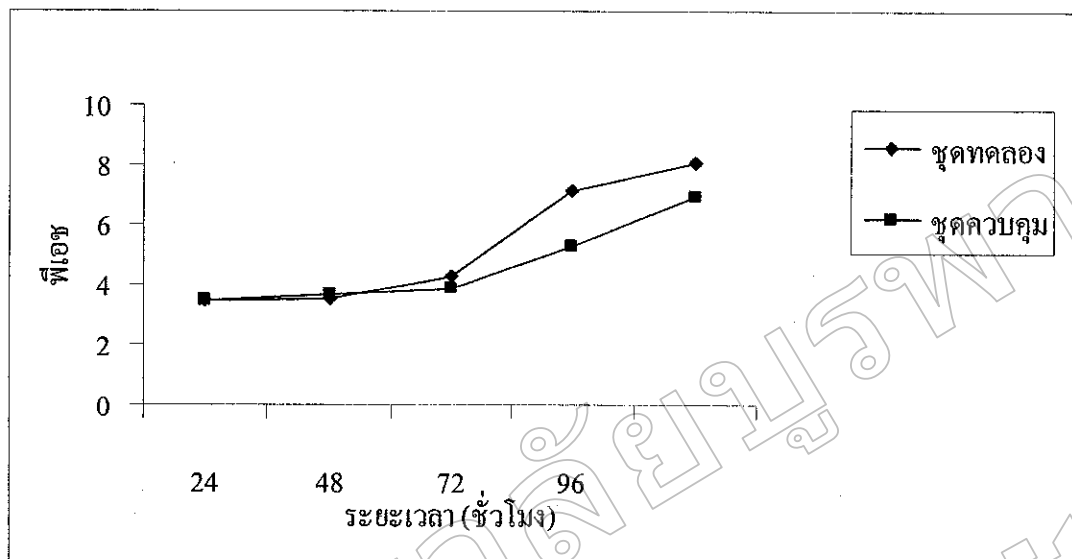
ในน้ำเสียมีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 2.34 กรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่า ในชุดควบคุมแบบเปิดเสร็จที่ไม่เติมยีสต์ มีการใช้ปริมาณน้ำตาลระหว่าง 99.53-99.89 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชุดทดลองแบบเปิดเสร็จ มีการใช้ปริมาณน้ำตาลระหว่าง 99.87-99.97 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่



ภาพที่ 4-11 น้ำตาลที่ถูกใช้ไปในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องเมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศที่ 2 vvm

1.2.4 พีเอช

พบว่า พีเอชในชุดควบคุมของแบบเบ็ดเสร็จที่ไม่เติมยีสต์ จากพีเอชเริ่มต้น 3.5 พีเอชของชุดควบคุมแบบเบ็ดเสร็จจะค่อนข้างคงที่ จนถึงชั่วโมงที่ 48 จากนั้นจะเพิ่มขึ้นจนถึง 6.75 ± 0.04 ที่ชั่วโมงที่ 96 ส่วนในชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จ พีเอชของแบบเบ็ดเสร็จจะอยู่ระหว่าง 3.55-8.01 พีเอชจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันแรกเช่นเดียวกับชุดควบคุม หลังจากนั้นพีเอชจะเพิ่มขึ้นสูงสุดอยู่ที่วันที่ 4 คือ 8.01 ± 0.11 ดังภาพที่ 4-12

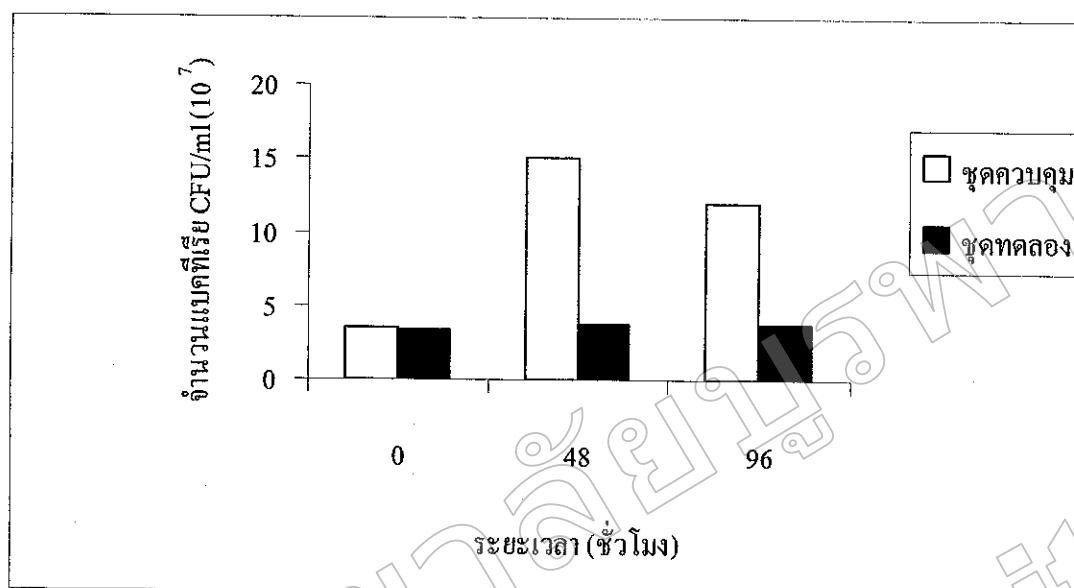


ภาพที่ 4-12 พีเอชของน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องเมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศที่ 2 vvm

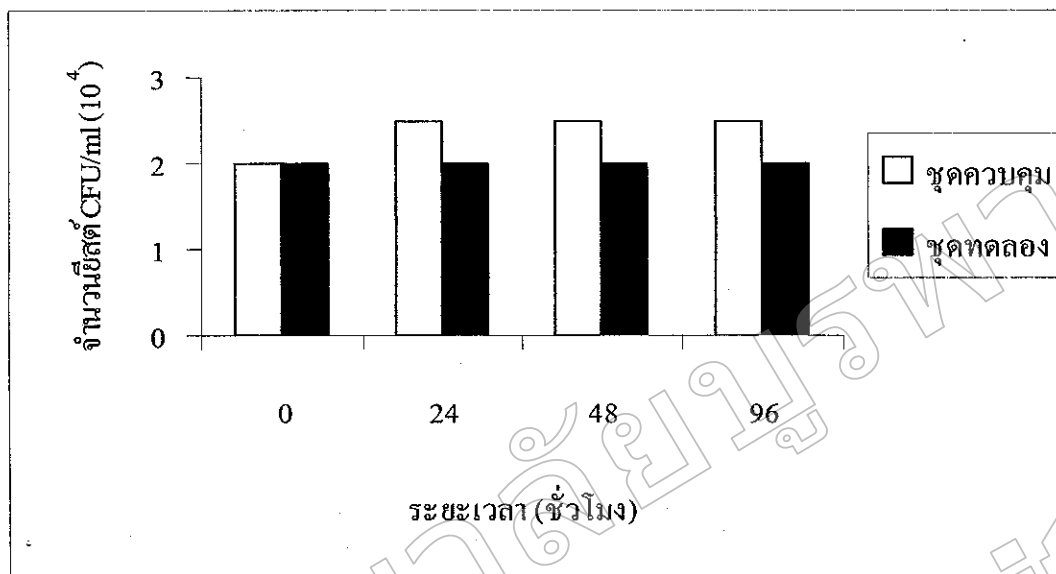
1.2.5 จุลินทรีย์ที่พบในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋อง

จากการจำแนกจุลินทรีย์ที่พบในน้ำเสียที่นำมาทำการทดลองโดยใช้ชุดทดสอบ

API, Biomeriux, France พบแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Bacillus sphaericus* และ *Aerococcus viridans* 2 และได้ทำการนับจำนวนจุลินทรีย์ในระหว่างทำการทดลองในชั่วโมงที่ 0, 48 และ 96 ในชุดควบคุมแบบเบ็ดเสร็จมีแบคทีเรียในชั่วโมงที่ 0, 48 และ 96 จำนวน 1.6×10^7 , 13.2×10^7 และ 4.5×10^7 CFU/ml ส่วนในชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จมีแบคทีเรียในชั่วโมงที่ 0, 48 และ 96 จำนวน 1.2×10^7 , 3.5×10^7 และ 5×10^7 CFU/ml ดังภาพที่ 4-13 และในการนับจำนวนจุลินทรีย์ในอาหาร PDA ของน้ำเสีย พบยีสต์ลักษณะโคโลนีกลม สีส้มแดง ขนาด 2-3 มิลลิเมตร ในชุดควบคุมมียีสต์ในชั่วโมงที่ 0, 48 และ 96 จำนวน 2×10^4 , 3×10^4 และ 4×10^4 CFU/ml ส่วนในชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จมียีสต์ชนิดนี้ 2×10^4 , 2.5×10^4 และ 3×10^4 CFU/ml ดังภาพที่ 4-14 และมีโคโลนีของ *C. utilis* CBS 1517 ในชุดทดลองจำนวน 1.85×10^7 , 4.1×10^7 และ 14×10^7 CFU/ml



ภาพที่ 4-13 จำนวนแบคทีเรียที่พบในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องเมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศที่ 2 vvm



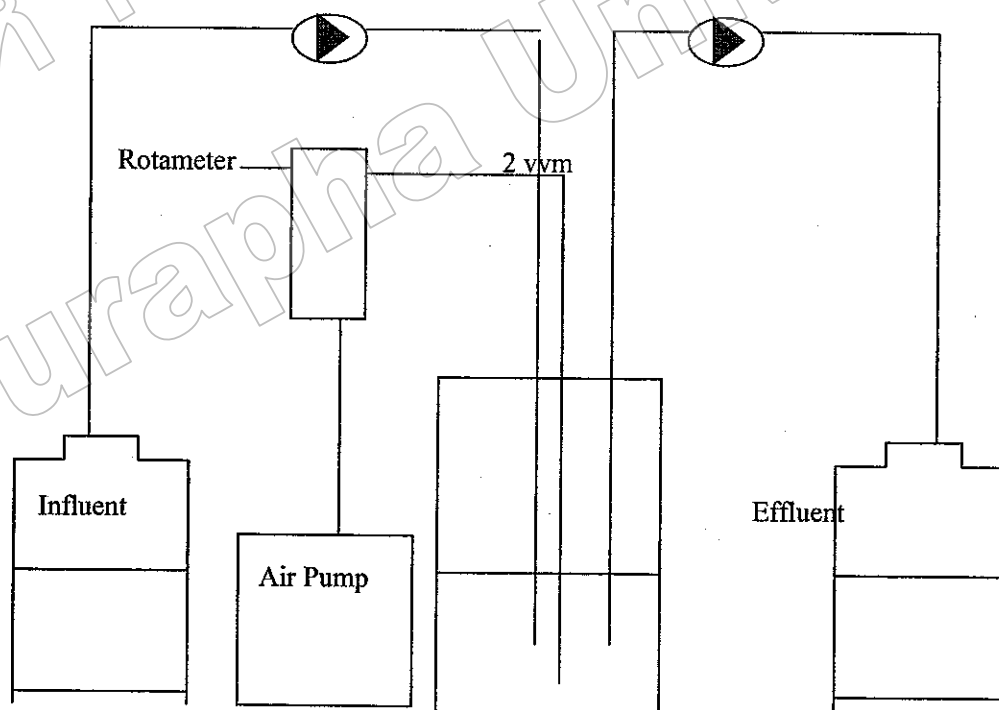
ภาพที่ 4-14 จำนวนยีสต์ลักษณะ โคโลนิกรวม สีส้มแดงที่พบในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องเมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศที่ 2 vvm

1.3 การทดลองในระบบบำบัดจำลองแบบต่อเนื่อง

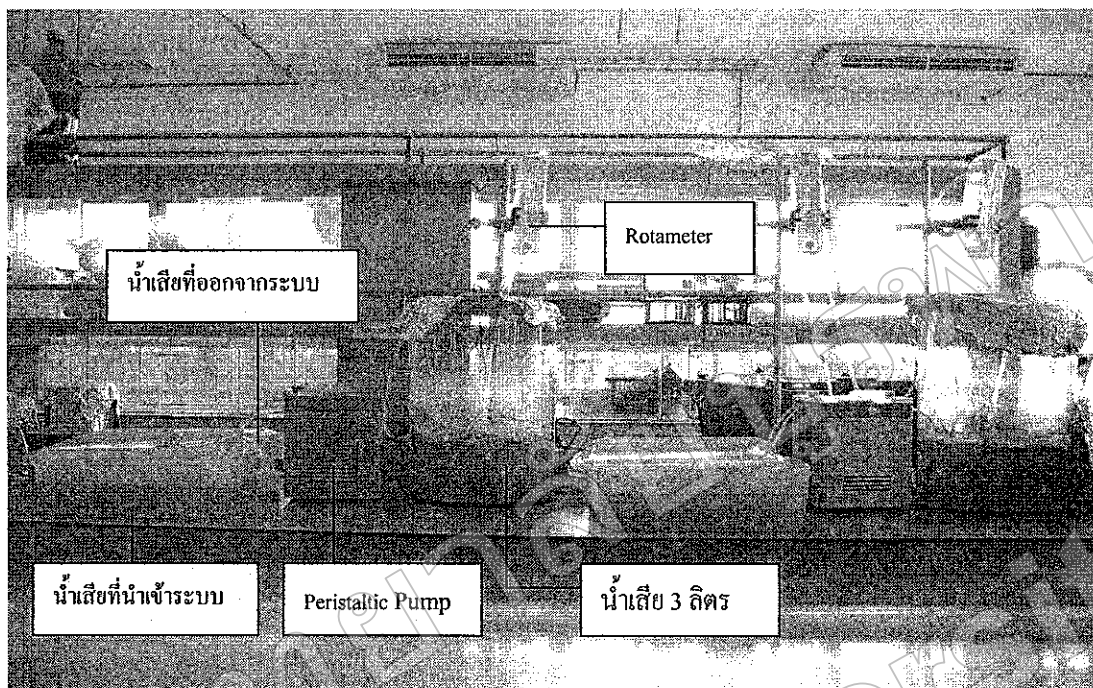
ลักษณะน้ำเสียก่อนที่ใช้ในการทดลองแบบต่อเนื่อง มีค่าซีโอดี $3,933 \pm 267$ มิลลิกรัมต่อลิตร พีเอช 4.35 ± 0.35 น้ำตาลรีดิวซ์ 1.72 ± 0.01 กรัมต่อลิตร มีสีเหลืองอ่อน มีสารแขวนลอย 0.17 ± 0.01 กรัมต่อลิตร สารทั้งหมด 5.1 ± 0.00 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4-7) การปรับน้ำเสียให้เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์สายพันธุ์นี้เช่นเดียวกับแบบเบ็ดเสร็จ มีการให้อากาศด้วย Air Pump และควบคุมปริมาณอากาศด้วย Rotameter ที่ 2 vvm มีการนำน้ำเข้าและน้ำออกด้วย Peristaltic Pump มีอัตราการนำน้ำเข้าน้ำออก 3.98 มิลลิตรต่อนาที ดังภาพที่ 4-15 และ 4-16

ตารางที่ 4-7 ลักษณะน้ำเสียที่จะใช้ในการทดลองบำบัดน้ำเสียด้วยระบบจำลองแบบต่อเนื่องของ
ยีสต์ *C utilis* CBS 1517

ตัวแปรที่วิเคราะห์	ปริมาณ
ซีโอซีเฉลี่ย	3,933±267 มิลลิกรัมต่อลิตร
พีเอช	4.35±0.35
น้ำตาลรีดิวซ์	1.72±0.01 กรัมต่อลิตร
สี	เหลืองอ่อน
สารแขวนลอย	0.17±0.01 กรัมต่อลิตร
สารทั้งหมด	5.1±0.00 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4-15 ชุดจำลองระบบบำบัดน้ำเสียแบบต่อเนื่อง

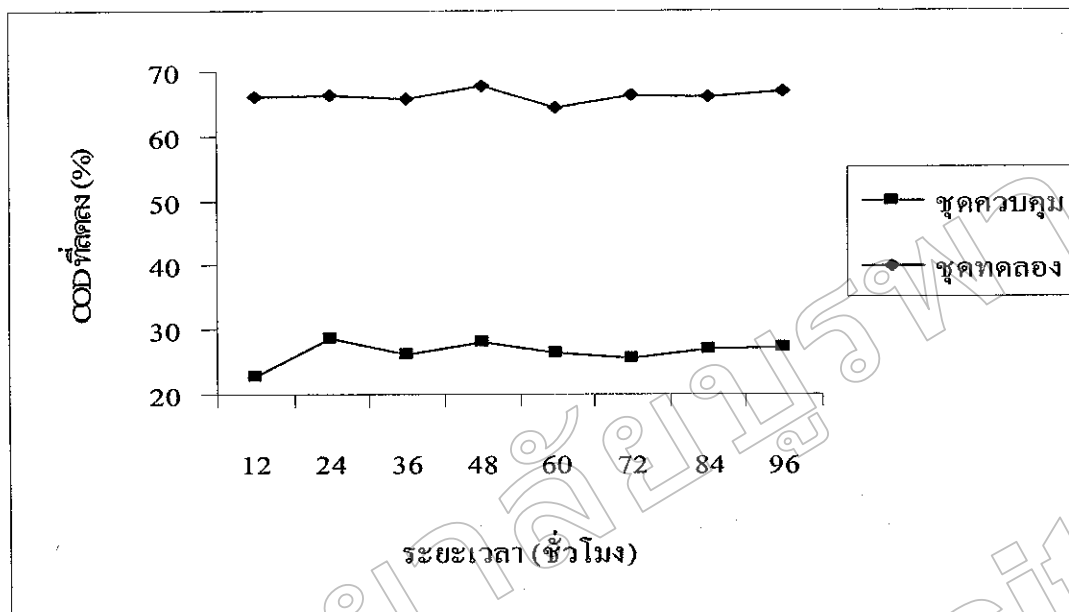


ภาพที่ 4-16 ชุดทดลองระบบบำบัดน้ำเสียแบบต่อเนื่อง โดยมีภาชนะสำหรับใส่น้ำเสียที่จะเข้าและออกจากโหลที่บรรจุน้ำเสีย ซึ่งมีการนำน้ำเสียเข้าและออกจากระบบโดยใช้ Peristaltic Pump และมีการควบคุมปริมาณอากาศที่ 2 vvm โดยใช้ Rotameter ซึ่งทำการทดลอง 2 ชั่วโมง โดยแต่ละโหลเป็น 1 ชั่วโมงของการทดลอง

จากการนำยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 มาเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ไม่ได้นึ่งฆ่าเชื้อ ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย มีการให้อากาศ ซึ่งผลการทดลองในชุดควบคุมและชุดทดลองแบบต่อเนื่อง มีดังนี้

1.3.1 ซีโอดี

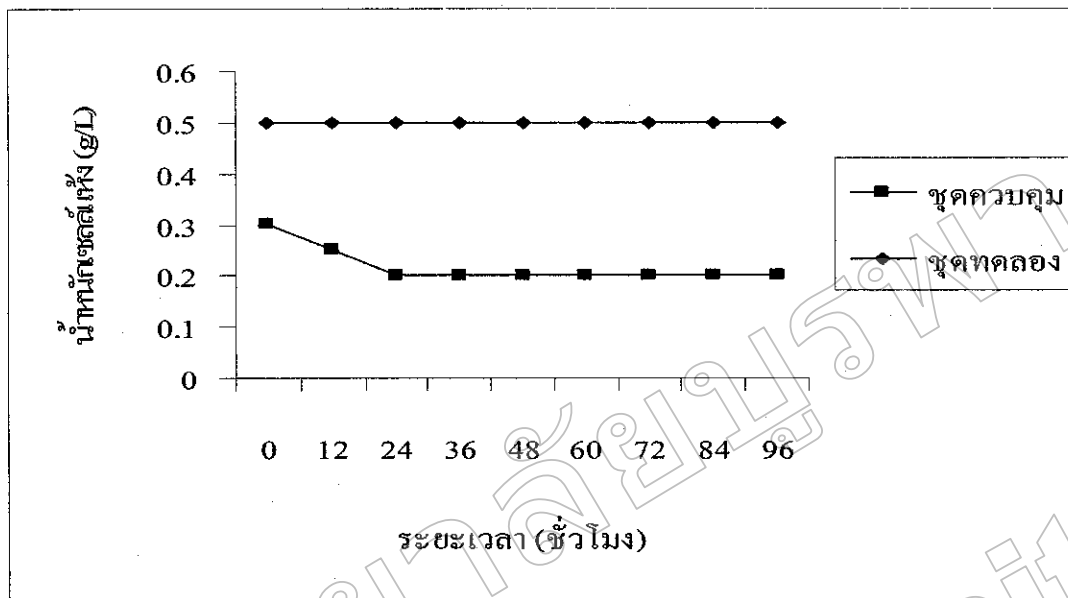
พบว่า ซีโอดีของชุดควบคุมแบบต่อเนื่องลดลงระหว่าง 22.7-28.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชุดทดลองแบบต่อเนื่องที่เติมยีสต์หีส *C. utilis* CBS 1517 สามารถลดค่าซีโอดีได้ 66-66.95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งชุดทดลองแบบต่อเนื่องสามารถลดค่าซีโอดีได้ดีกว่า (ภาพที่ 4-17) โดยแบบต่อเนื่องสามารถอยู่ในสภาวะคงที่ได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 คือ สามารถลดค่าซีโอดีได้ค่อนข้างคงที่ คือ 66.7 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 4-17 ซีโอดีที่ลดลงของน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องเมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศ 2 vvm ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

1.3.2 น้ำหนักเซลล์แห้ง

พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งของชุดควบคุมแบบต่อเนื่องจะมีน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 0.2-0.3 กรัมต่อลิตร ส่วนชุดทดลองแบบต่อเนื่องจะมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.5 กรัมต่อลิตร ดังภาพที่ 4-18

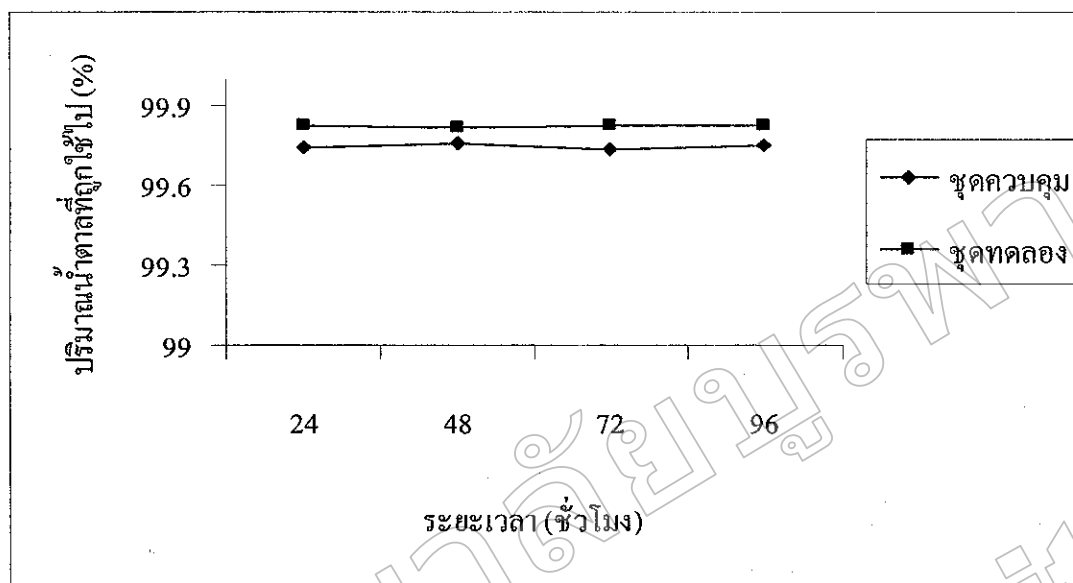


ภาพที่ 4-18 น้ำหนักคาร์โบไฮเดรตในน้ำเลี้ยงจากโรงงานผลไม้กระป๋องเมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS

1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเลี้ยงจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศ 2 vvm ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

1.3.3 น้ำตาลรีดิซ

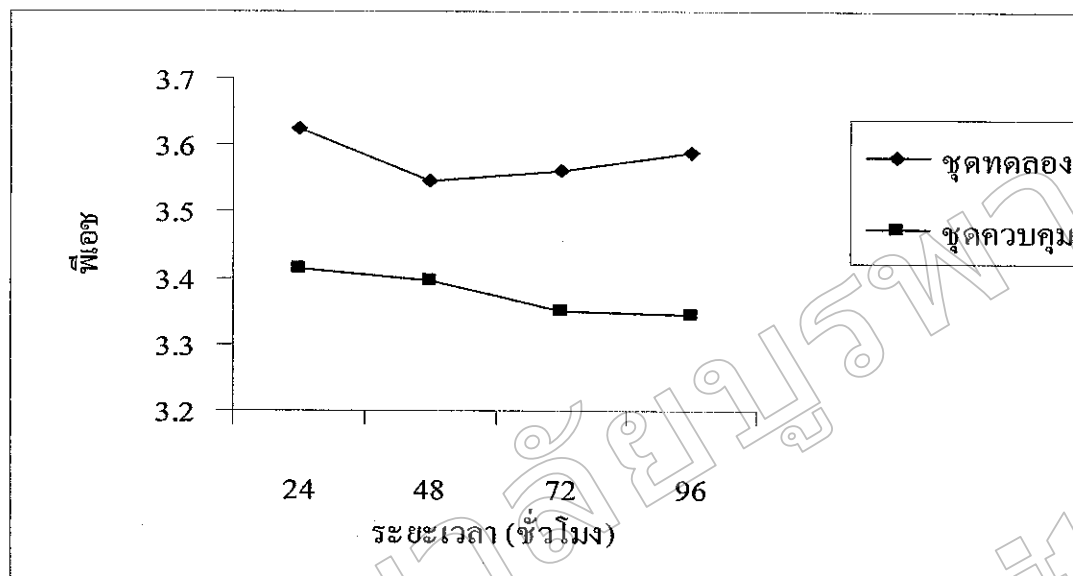
มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นในน้ำเลี้ยง 1.72 กรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่า มีการใช้ปริมาณน้ำตาลในชุดควบคุมแบบต่อเนื่องจะอยู่ระหว่าง 99.74-99.76 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแบบต่อเนื่องจะมีการใช้ปริมาณน้ำตาลระหว่าง 99.87-99.88 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4-19



ภาพที่ 4-19 น้ำตาลที่ถูกใช้ไปในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องเมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศ 2 vvm ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

1.3.4 พีเอช

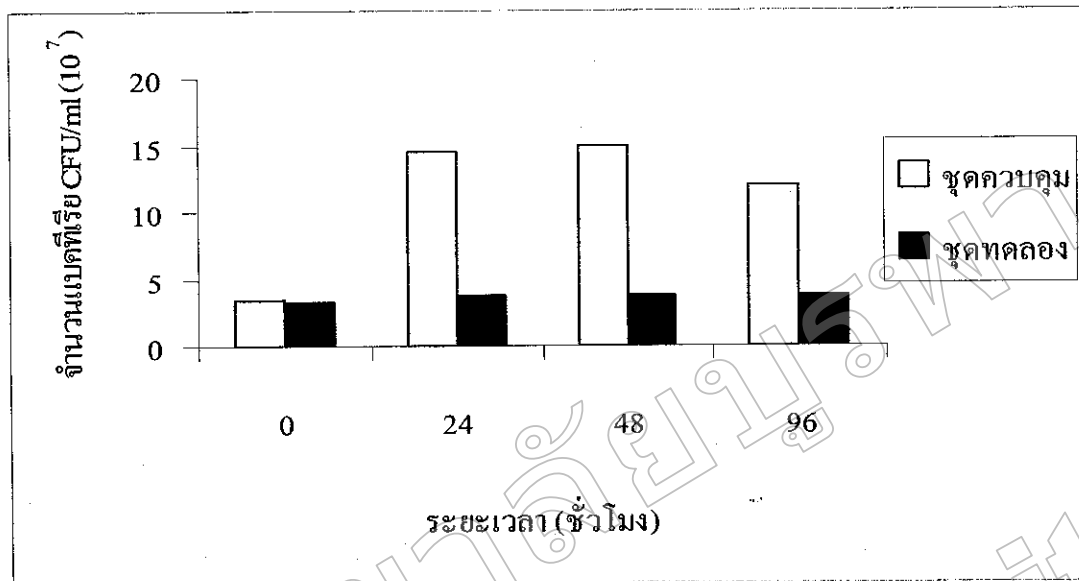
พีเอชของชุดควบคุมแบบต่อเนื่อง มีพีเอชอยู่ระหว่าง 3.34-3.41 ซึ่งพีเอชมีการเปลี่ยนแปลงในแต่ละวันเพียงเล็กน้อย ส่วนแบบต่อเนื่องจะมีพีเอชอยู่ระหว่าง 3.54-3.62 ดังภาพที่ 4-20



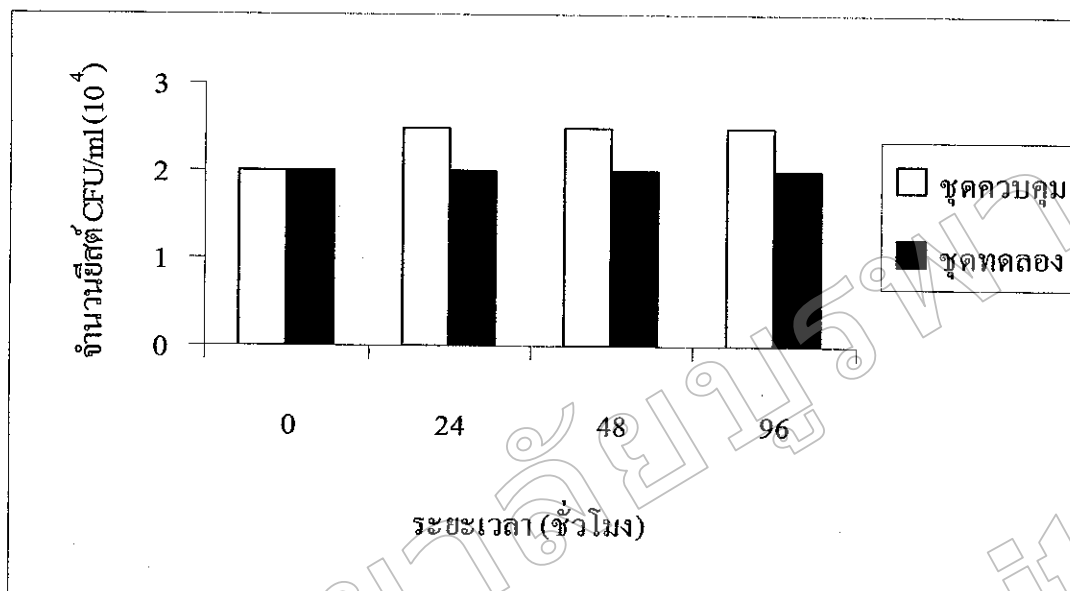
ภาพที่ 4-20 พีเอชของน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องเมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศ 2 vvm ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

1.3.5 จุลินทรีย์ที่พบในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋อง

จากการนับจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำเสียที่นำมาทำการทดลอง พบว่า มีแบคทีเรียอยู่ 2 ชนิดเช่นเดียวกับการทดลองแบบเบ็ดเสร็จ คือ *B. sphæricus* และ *A. viridans* 2 และได้ทำการนับจำนวนจุลินทรีย์ในระหว่างทำการทดลองในชั่วโมงที่ 0, 24 ชั่วโมงก่อนนำน้ำเข้า 48 และ 96 หลังนำน้ำเข้าระบบ ในชุดควบคุมแบบต่อเนื่องมีแบคทีเรียในชั่วโมงที่ 0, 24, 48 และ 96 จำนวน 3.5×10^7 , 14.5×10^7 , 15×10^7 และ 12×10^7 CFU/ml ส่วนในชุดทดลองแบบต่อเนื่องมีแบคทีเรียในชั่วโมงที่ 0, 24 ชั่วโมงก่อนนำน้ำเข้า 48 และ 96 หลังนำน้ำเข้าระบบ จำนวน 3.3×10^7 , 3.7×10^7 , 3.8×10^7 และ 3.7×10^7 CFU/ml ดังภาพที่ 4-21 และในการนับจำนวนจุลินทรีย์ในอาหาร PDA ของน้ำเสีย พบยีสต์ลักษณะเช่นเดียวกับการทดลองแบบเบ็ดเสร็จ ซึ่งชุดควบคุมมียีสต์ในชั่วโมงที่ 0, 24 ชั่วโมงก่อนนำน้ำเข้า 48 และ 96 หลังนำน้ำเข้าระบบ จำนวน 2×10^4 , 2.5×10^4 , 2.5×10^4 และ 2.5×10^4 CFU/ml ส่วนในชุดทดลองแบบต่อเนื่องมียีสต์ชนิดนี้ 2×10^4 , 2×10^4 , 2×10^4 และ 2×10^4 CFU/ml ดังภาพที่ 4-22 และมีโคโลนีของ *C. utilis* CBS 1517 ในชุดทดลองจำนวน 1.9×10^7 , 3×10^7 , 3.1×10^7 และ 3.1×10^7 CFU/ml



ภาพที่ 4-21 จำนวนแบคทีเรียที่พบในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องเมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศที่ 2 vvm ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง



ภาพที่ 4-22 จำนวนยีสต์ลักษณะ โคโลนีกลม สีส้มแดง ที่พบในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋อง เมื่อเติมยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 (ชุดทดลอง) และไม่เติมยีสต์ (ชุดควบคุม) และเพาะเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลไม้กระป๋องที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 และเติมยูเรีย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ซึ่งมีการให้อากาศที่ 2 vvm ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง

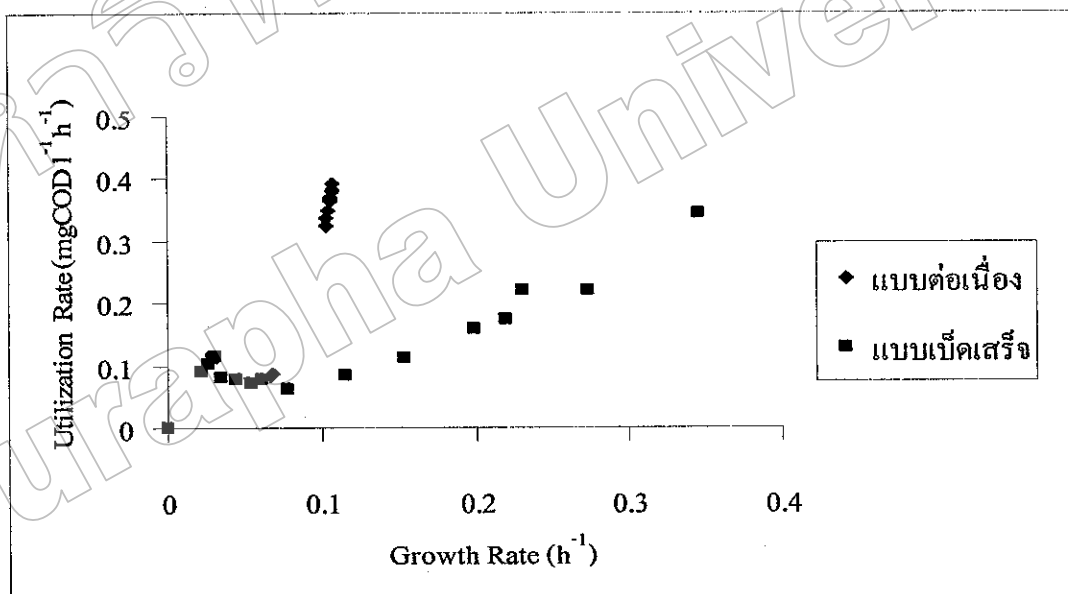
จากการเปรียบเทียบความแตกต่างของชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จและชุดทดลองแบบต่อเนื่องโดยใช้ Independent-Samples T-Test พบว่า

1. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การลดลงของซีไอดีในแต่ละวันในชุดทดลองทั้งสองแบบพบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยค่าเฉลี่ยของชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ค่าซีไอดีที่ลดลงคือ 27.7 ± 7.96 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชุดทดลองแบบต่อเนื่องมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ค่าซีไอดีที่ลดลงคือ 66.88 ± 0.70 เปอร์เซ็นต์
2. น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยในแต่ละชุดทดลอง พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เนื่องจากค่าเฉลี่ยของชุดทดลองแบบต่อเนื่องและชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จ คือ 0.5 ± 0.00 และ 0.64 ± 0.18 กรัมต่อลิตร
3. พีเอชเฉลี่ย พบว่าทั้งสองชุดทดลองแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยพีเอชเฉลี่ยของชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จและชุดทดลองแบบต่อเนื่อง คือ 5.74 ± 1.96 และ 3.58 ± 0.03
4. เปอร์เซ็นต์ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไป พบว่า ทั้งสองชุดทดลองมีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จและชุดทดลองแบบต่อเนื่องมีปริมาณเปอร์เซ็นต์การใช้น้ำตาล คือ 99.90 ± 0.04 และ 99.82 ± 0.01 เปอร์เซ็นต์

น้ำเสียของชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จและแบบต่อเนื่องหลังสิ้นสุดทำการทดลองมีค่าซีโอดีเท่ากับ 404 ± 1.42 มิลลิกรัมต่อลิตร และ $1,248 \pm 0.35$ มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่าซีโอดีของมาตรฐานน้ำทิ้งที่กรมควบคุมมลพิษกำหนดไว้ที่ 120-400 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงควรมีการนำน้ำเสียไปบำบัดจนน้ำเสียมีคุณภาพตามมาตรฐานน้ำทิ้ง

การเปรียบเทียบอัตราการใช้สารอาหาร

จากการทดลองเลี้ยงยีสต์ *C. utilis* CBS 1517 ในระบบบำบัดจำลองทั้งแบบเบ็ดเสร็จและแบบต่อเนื่อง ได้นำข้อมูลจากการทดลองมาหาอัตราเจริญจำเพาะ และอัตราการใช้สารอาหาร พบว่า อัตราการใช้สารอาหารของชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จอยู่ระหว่าง $0-0.34 \text{ g COD l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ส่วนชุดทดลองแบบต่อเนื่องมีอัตราการใช้สารอาหารอยู่ระหว่าง $0.087-0.392 \text{ g COD l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ จากการทดลองพบว่า อัตราการเจริญจำเพาะของชุดทดลองแบบต่อเนื่องค่อนข้างคงที่ เช่นเดียวกับอัตราการใช้สารอาหาร ก็มีค่าใกล้เคียงกัน ดังภาพที่ 4-23



ภาพที่ 4-23 อัตราการใช้สารอาหารของชุดทดลองแบบเบ็ดเสร็จและชุดทดลองแบบต่อเนื่อง