บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ลักษณะสมบัติของน้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง

น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำจากกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรมปลากระป๋องที่มีไขมันและน้ำมันแขวนลอยเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง โดยทำการเก็บตัวอย่างแบบจ้วงจากน้ำที่ถูกแยกไขมันและน้ำมันลอยออกภายหลังผ่านถังดักไขมัน (Grease trap) ก่อนจะเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียของบริษัทไทยยูเนียน โฟรเซ็นซีฟู้ดส์ โปรดักส์ จำกัด ดังแสดงในรูปที่ 4.1

รูปที่ 4.1 จุดเก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อใช้ในการทดลอง

เมื่อทำการวิเคราะห์ลักษณะสมบัติต่างๆ ของน้ำเสียทางกายภาพและทางเคมี ได้แก่ อุณหภูมิ พีเอช ค่าซีโอดี ปริมาณของแข็งแขวนลอย ปริมาณไขมันและน้ำมัน ปริมาณโปรตีน ปริมาณคาร์บอนทั้งหมด และพารามิเตอร์ต่างๆ พบว่าได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.1 โดยตัวอย่างน้ำเสียมีค่าอุณหภูมิเฉลี่ยเท่ากับ 29 °ซ เมื่อทำการตรวจวัด ณ สถานที่จริง มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.7 ค่าความสกปรกในรูปซีโอดีเท่ากับ 3,680 มก./ล. ซึ่งประกอบไปด้วยองค์ประกอบที่เป็นไขมันและน้ำมันในปริมาณสูงถึง 2,822 มก./ล. แต่มีค่าปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนต่ำเพียง 143 มก./ล. และสำหรับปริมาณของแข็งทั้งหมดพบว่ามีค่าสูงเท่ากับ 5,940 มก./ล. โดยเป็นของแข็งในรูปละลายน้ำเพียง 522 มก./ล.

ตารางที่ 4.1 ลักษณะสมบัติของน้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง

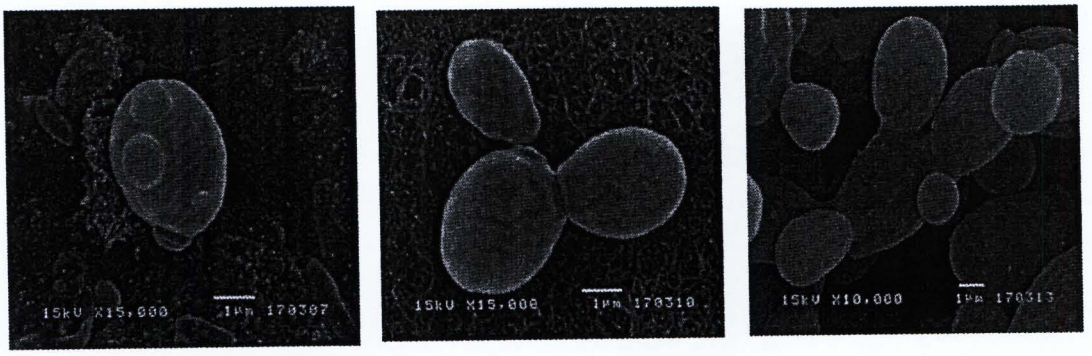
พารามิเตอร์	ปริมาณ	หน่วย
พีเอช (pH)	5.7	-
อุณหภูมิ (Temperature)	29	°ซ
ซีโอดี (COD)	3,680 ± 25*	มก./ล.
ไขมันและน้ำมัน (FOGs)	2,822 ± 93*	มก./ล.
สารอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (TOC)	927	มก./ล.
โปรตีน	714 ± 4*	มก./ล.
สารอินทรีย์ไนโตรเจน (TKN)	143 ± 2*	มก./ล.
ของแข็งทั้งหมด (TS)	5,940 ± 3*	มก./ล.
ของแข็งแขวนลอย (SS)	522 ± 1*	มก./ล.

(* เป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานจากการวิเคราะห์น้ำเสีย 1 ตัวอย่าง จำนวน 3 ครั้ง)

4.2 จุลินทรีย์กลุ่มยีสต์

4.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จุลินทรีย์กลุ่มยีสต์ที่ใช้ในการทดลองเป็นยีสต์สายพันธุ์บริสุทธิ์ (Pure culture) ที่ได้จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ มหาวิทยาลัยโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น (IAM culture collection, Institute of Molecular and Cellular Bioscience, The University of Tokyo, Japan) โดยคัดเลือก 3 สายพันธุ์มาใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Candida maltosa* (IAM 12247T) *Candida tropicalis* (IAM 14385T) และ *Yarrowia lipolytica* (IAM 12188) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อยีสต์ทั้งสามสายพันธุ์ในน้ำเสียเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำมาวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน พบว่ามีลักษณะรูปร่างของเซลล์ที่ไม่แตกต่างกัน โดยมีความคล้ายคลึงกับเซลล์ยีสต์ทั่วๆ ไป ดังแสดงในรูปที่ 4.2 นั่นคือ *Candida maltosa* และ *Candida tropicalis* เซลล์มีลักษณะทรงกลมรียาวคล้ายลูกมะนาวฝรั่ง ส่วน *Yarrowia lipolytica* เซลล์จะมีลักษณะรีและยาวขึ้นกว่าสายพันธุ์อื่นๆ เล็กน้อย ซึ่งรูปร่างของยีสต์เหล่านี้จะเป็นลักษณะเฉพาะที่มีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ โดยอาจมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมภายนอกที่ยีสต์ดำรงชีพอยู่ ได้แก่ สภาวะการเติมอากาศ พีเอช และสารอาหารในระบบ (Gerardo Corzo, 1999) นอกจากนี้ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนยังยืนยันอย่างชัดเจนว่า ยีสต์ทั้งสามสายพันธุ์มีการเพิ่มจำนวนด้วยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ (Budding) ทำให้สังเกตเห็นร่องรอยการหลุดของหน่อใหม่ (Bud scar) จำนวนมากที่พื้นผิวโดยรอบเซลล์



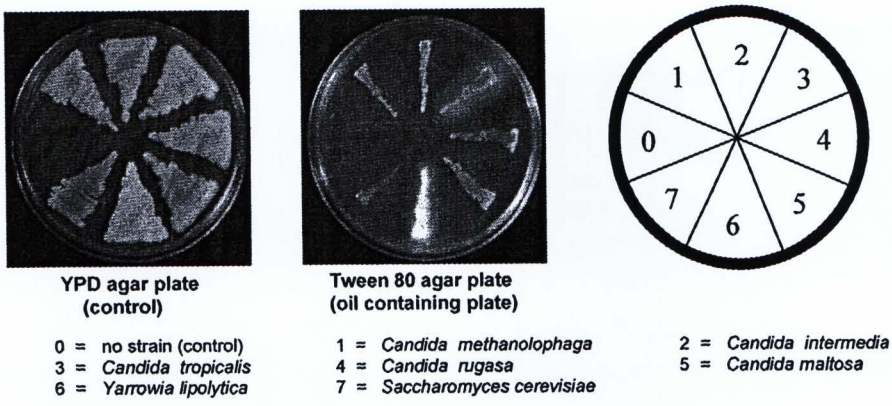
Candida maltosa *Candida tropicalis* *Yarrowia lipolytica*

รูปที่ 4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ 3 สายพันธุ์จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

4.2.2 ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสของยีสต์

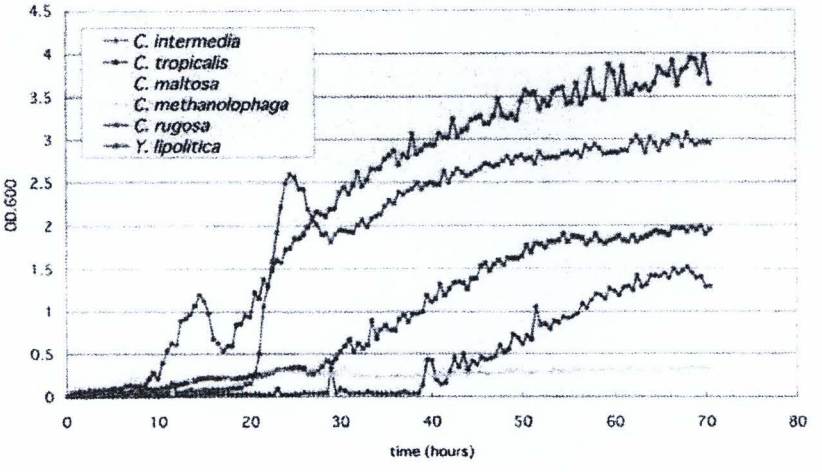
ยีสต์พันธุ์บริสุทธิ์ 3 สายพันธุ์ที่คัดเลือกมาใช้ในการทดลองนี้เป็นสายพันธุ์ต่างๆ ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ โดยผ่านการทดสอบขั้นปฐมภูมิแล้วว่าสามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้จริงในแหล่งอาหารที่มีน้ำมันและไขมันเป็นองค์ประกอบ (Pungrasmi, 2006) ซึ่งในระหว่างการเจริญเติบโตยีสต์เหล่านี้จะนำน้ำมันและไขมันไปใช้เป็นแหล่งอาหารและแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญเติบโตและการดำรงชีวิต ผลการทดลองดังรูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์ทั้ง 6 สายพันธุ์ที่เลือกนำมาใช้ในการทดสอบสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติม Tween 80 (ไขมันในกลุ่มเอสเทอร์ของ Polyoxyethylene sorbitol) เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน โดยสามารถตรวจพบบริเวณขุ่นรอบการเจริญของ *Yarrowia lipolytica* และ *Candida tropicalis* ภายหลังการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 3 วัน จึงเป็นการยืนยันว่ายีสต์ทั้งสองสามารถผลิตและสังเคราะห์เอนไซม์ไลเปสต่อ Tween 80 โดยมีการปลดปล่อยออกสู่อาหารเลี้ยงเชื้อได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Fatima และคณะ (2000) ที่ศึกษาการผลิตเอนไซม์ไลเปสของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ในแหล่งอาหารที่เป็นน้ำมันและไขมัน พบว่าสามารถเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี และในปี 1990 Corzo และคณะได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไลเปสของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* พบว่า ที่พีเอชเท่ากับ 5 และอุณหภูมิ 37 °ซ เป็นสภาวะที่ยีสต์สายพันธุ์นี้สร้างและปลดปล่อยไลเปสออกมาย่อยสลายไขมันและน้ำมันได้ดี นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอีกหลายฉบับที่ระบุว่ายีสต์หลายกลุ่ม ได้แก่ *Candida deformans* (Muderwa และ Ratamahenina, 1985) และ *Candida rugosa* (Rao และคณะ, 1993) สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสและปลดปล่อยออกจากเซลล์ได้

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



รูปที่ 4.3 ผลการทดสอบเอนไซม์ไลเปสขั้นปฐมภูมิบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง ที่มีการเติมน้ำมันเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน

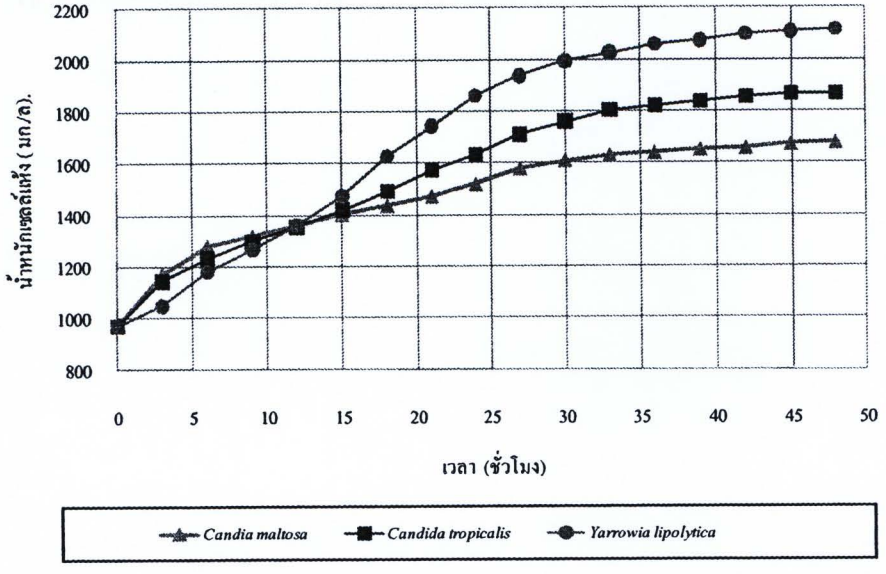
เมื่อทำการศึกษาลักษณะการเจริญของยีสต์ทดสอบ 6 สายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน (ที่ความเข้มข้น 2%) และควบคุมอุณหภูมิที่ 30°ซ อัตราการเขย่า 30 รอบ/นาที โดยทำการตรวจวัดอัตราการเจริญจากความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เกิดขึ้นทุก 20 นาทีที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรด้วยเครื่องวัดอัตโนมัติ (Advantec TN-1506 Bio-photorecorder, Japan) พบว่าได้เส้นกราฟดังรูปที่ 4.4 ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ายีสต์ทุกสายพันธุ์มีอัตราการเจริญอย่างรวดเร็ว เส้นกราฟของการเจริญพุ่งสูงขึ้นในลักษณะที่เป็นทวีคูณ (Exponential) ยกเว้น *Candida intermedia* และ *Candida methanolophaga* แสดงให้เห็นว่าน้ำมันถั่วเหลืองสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานเพื่อการเจริญสำหรับยีสต์เหล่านี้ได้ และเมื่อทำการเปรียบเทียบกันทั้ง 6 สายพันธุ์พบว่า *Yarrowia lipolytica* เป็นสายพันธุ์ที่สามารถเจริญได้ดีที่สุด รองลงมาด้วย *Candida maltosa* และ *Candida tropicalis* ตามลำดับ โดยเส้นกราฟเริ่มเข้าสู่ระยะคงที่ที่เวลาประมาณ 40 ชั่วโมง จึงพิจารณาเลือกใช้ยีสต์ 3 สายพันธุ์นี้ในการทดลองต่อไป



รูปที่ 4.4 การเปรียบเทียบการเจริญของยีสต์ในอาหารเหลวที่มีการเติมน้ำมันถั่วเหลือง เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน

4.2.3 การเจริญเติบโตของยีสต์ในน้ำเสียที่มีองค์ประกอบของน้ำมันและไขมันสูง

เมื่อทำการถ่ายหัวเชื้อยีสต์ลงในน้ำเสียในปริมาณร้อยละ 10 โดยปริมาตร ที่มีการปรับพีเอชเป็น 5 และเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำทุก 3 ชั่วโมงเพื่อวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์ที่เปลี่ยนแปลง พบว่า ยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตในน้ำเสียได้เป็นอย่างดี จากผลการทดลองจะเห็นว่ายีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* มีน้ำหนักเซลล์เพิ่มขึ้นมากที่สุดคือ 1,146.67 มก./ล. รองลงมาคือสายพันธุ์ *Candida tropicalis* มีน้ำหนักเซลล์เพิ่มขึ้น 896.67 มก./ล. และสายพันธุ์ที่มีน้ำหนักเซลล์เพิ่มขึ้นน้อยสุดคือ *Candida maltosa* มีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นเพียง 710 มก./ล. โดยกราฟการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในน้ำเสียที่มีองค์ประกอบของน้ำมันและไขมันสูง แสดงดังรูปที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าในช่วงแรกยีสต์ทั้งสามสายพันธุ์มีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์ไม่แตกต่างกัน มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเซลล์ในลักษณะที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วโดยมีช่วงระยะปรับตัว (Lag phase) สั้นมากหรือแทบจะไม่มีเลย จนกระทั่งเข้าสู่ชั่วโมงที่ 15 ของการเพาะเลี้ยงจะเริ่มสังเกตเห็นความแตกต่างของอัตราการเพิ่มจำนวนของยีสต์ทั้งสามในน้ำเสียได้อย่างชัดเจน โดยพบว่า *Yarrowia lipolytica* มีอัตราการเพิ่มจำนวนในน้ำเสียสูงกว่า *Candida tropicalis* และ *Candida maltosa* ตามลำดับ จึงส่งผลให้น้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นแตกต่างกันดังกล่าวข้างต้น แต่เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 30 ชั่วโมง จะเห็นว่าน้ำหนักเซลล์เริ่มมีค่าคงที่ เนื่องจากในชุดการทดลองนี้เป็นการทำการทดลองแบบแบทช์ (Batch) คือ สารอาหารจะถูกเติมลงในระบบเพียงครั้งเดียวในช่วงเริ่มต้น ดังนั้นเมื่อเวลาผ่านไปจนสารอาหารจะถูกยีสต์ใช้ในการเจริญจนใกล้หมด การเจริญเติบโตจึงเริ่มเข้าสู่สภาวะคงที่ และหากทำการทดลองต่อไปจะทำให้เซลล์ยีสต์เริ่มตายลงในที่สุด



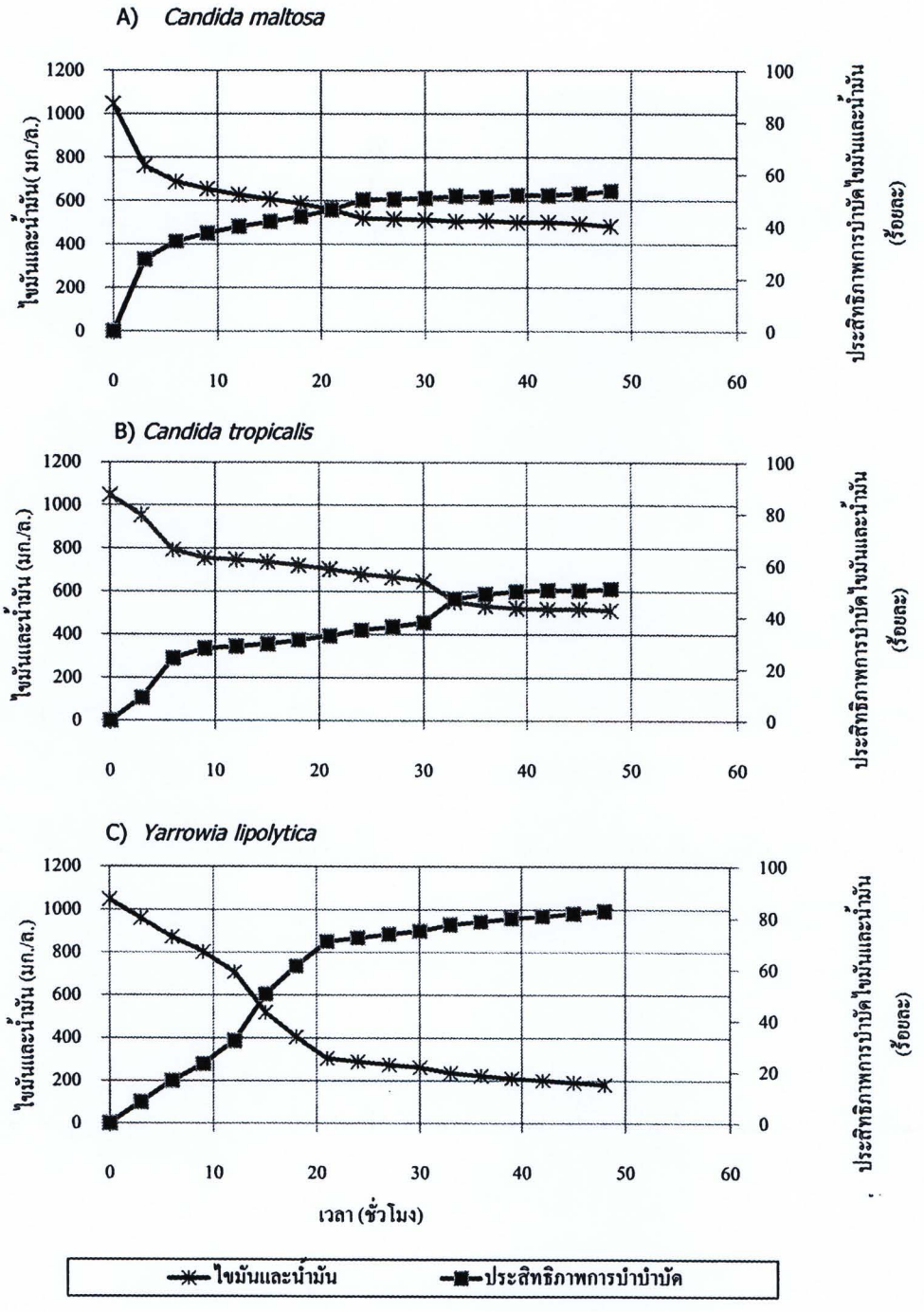
รูปที่ 4. 5 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของยีสต์ในน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ

จากการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักเซลล์เมื่อมีการถ่ายหัวเชื้อยีสต์ลงในน้ำเสียแสดงให้เห็นว่ายีสต์เหล่านั้นมีความสามารถในการนำสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสียไปใช้ในกระบวนการสร้างพลังงานภายในเซลล์ โดยสารอินทรีย์หลักที่พบในน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ ไขมันและน้ำมันและโปรตีน สารอินทรีย์เหล่านี้มีความจำเป็นเพื่อนำไปใช้ในการสร้างเซลล์ โดยยีสต์จะมีกระบวนการในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันให้กลายเป็นกรดไขมันอิสระด้วยเอนไซม์ไลเปสที่สร้างขึ้น โดยเมื่อไขมันขนาดใหญ่ถูกย่อยสลายให้เล็กลงจนสามารถดูดซึมเข้าสู่เซลล์ได้แล้ว ไขมันอิสระเหล่านี้จะถูกนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อผลิตเป็นพลังงานภายในเซลล์ของยีสต์ ซึ่งพลังงานที่เกิดขึ้นจะสามารถนำไปใช้ในกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์ได้ โดยทำให้เกิดความเจริญเติบโตและขยายขนาดของเซลล์ให้ใหญ่ขึ้น ซึ่งกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้จะมีความสำคัญในการช่วยลดมลสารในน้ำเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพ

4.3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ

4.3.1 ประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมัน

ภายหลังการถ่ายหัวเชื้อยีสต์ลงในน้ำเสีย และพบว่ายีสต์สามารถเจริญเติบโตในน้ำเสียได้ โดยสภาวะที่ใช้ในการทดลองเป็นสภาวะที่ควบคุมเหมาะสม คือ ปรับพีเอชเป็น 5 เติมธาตุอาหารที่จำเป็นให้อยู่ในสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 1 : 6 ด้วยแอมโมเนียมคลอไรด์ (Zheng, 2005) และเติมร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักของโซเดียมโพรไพโอเนตเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรีย เมื่อทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณไขมันและน้ำมันในน้ำเสียจากการเก็บตัวอย่างน้ำทุกๆ 3 ชั่วโมง พบว่ายีสต์สายพันธุ์ *Candida maltosa* *Candida tropicalis* และ *Yarrowia lipolytica* สามารถบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียได้ โดยเมื่อคำนวณเป็นประสิทธิภาพการบำบัดด้วยการวิเคราะห์ปริมาณไขมันและน้ำมันที่คงเหลือในน้ำเสีย พบว่าได้ผลดังรูป 4.6 คือ คิดเป็นร้อยละ 53.74 51.06 และ 82.74 ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง จากรูปจะเห็นได้ว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างยีสต์สามสายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* จะมีประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดไขมันและน้ำมัน ซึ่งการทดลองดังกล่าวให้ผลใกล้เคียงกับ Noppadol (1990) ที่รายงานว่ายีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* สามารถบำบัดไขมันและน้ำมันได้ถึงร้อยละ 90.4 โดย Zheng (2005) รายงานว่ายีสต์มีประสิทธิภาพในการบำบัดไขมันและน้ำมันได้มากกว่าร้อยละ 90 นอกจากนี้ข้อมูลรายงานจากการศึกษาอื่นๆ ที่ผ่านมายืนยันว่ายีสต์มีประสิทธิภาพในการบำบัดไขมันและน้ำมันได้เป็นอย่างดี

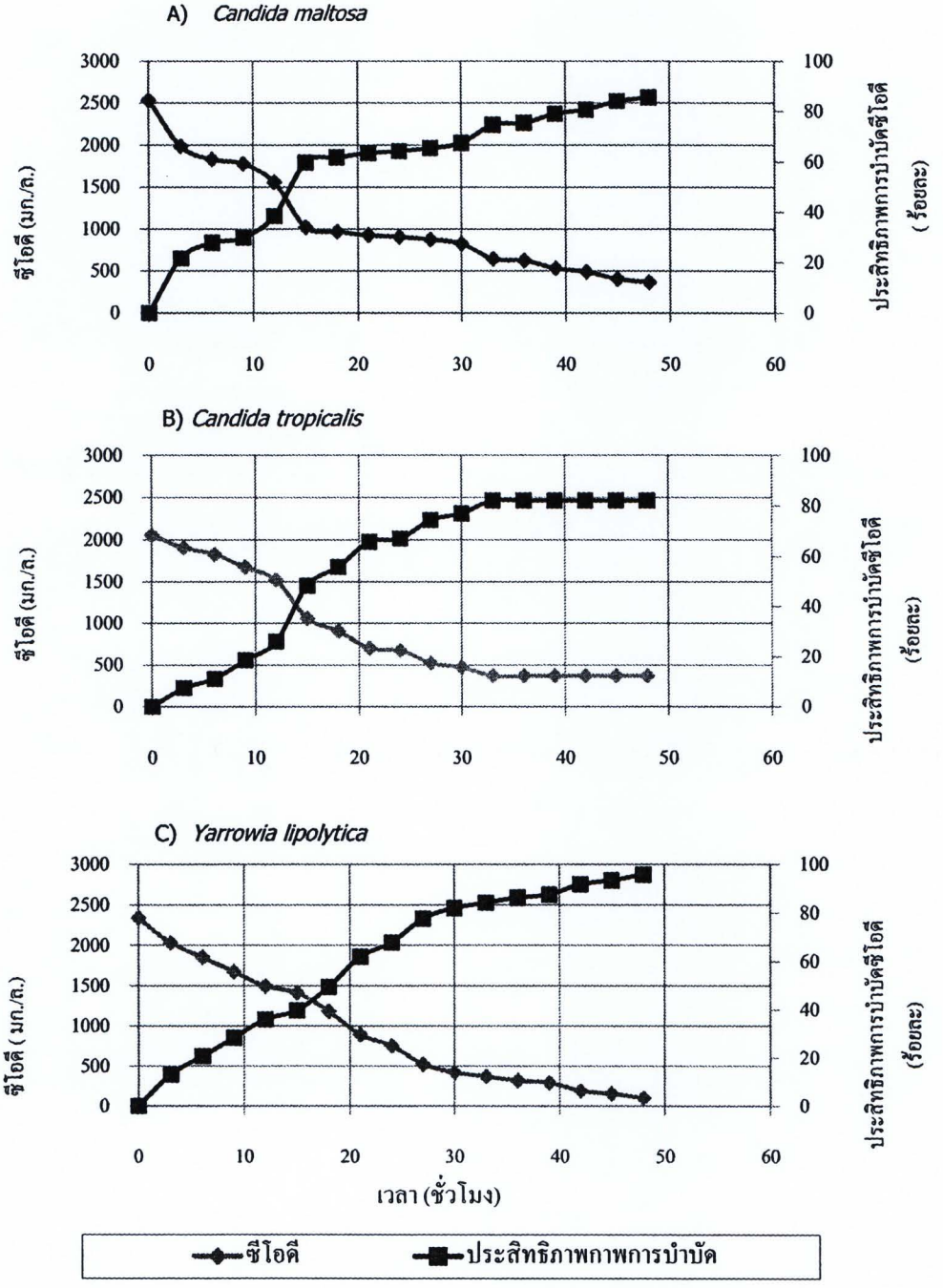


รูปที่ 4.6 ประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียของยีสต์ 3 สายพันธุ์

4.3.2 ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดีของน้ำเสียภายหลังทำการถ่ายหัวเชื้อยีสต์ลงไปและเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่เหมาะสมด้วยการเก็บตัวอย่างน้ำมาทำการวิเคราะห์ทุกๆ 3 ชั่วโมง พบว่า ยีสต์ทั้งสามสายพันธุ์สามารถนำสารอินทรีย์ในน้ำเสียไปใช้ในการเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี โดยเมื่อทำการแยกชีวมวลของยีสต์ออกจากน้ำเสียและนำส่วนน้ำใสไปวิเคราะห์ค่าซีโอดี สายพันธุ์

Candida maltosa, Candida tropicalis และ *Yarrowia lipolytica* สามารถบำบัดค่าซีโอดีลงได้ถึงร้อยละ 85.56 82.08 และ 95.73 ตามลำดับ ภายในระยะเวลาเพียง 48 ชม. จึงมีผลให้มลสารต่างๆที่ละลายอยู่ในน้ำเสียมีปริมาณลดลงอย่างมากและรวดเร็ว โดยประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีดังกล่าวแสดงดังกราฟรูปที่ 4.7 นั่นคือ ยีสต์ทั้งสามสายพันธุ์มีประสิทธิภาพสูงในการบำบัดน้ำเสีย โดยเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีในช่วงเวลาเดียวกัน พบว่า *Yarrowia lipolytica* มีประสิทธิภาพสูงกว่า และ *Candida tropicalis* ตามลำดับ

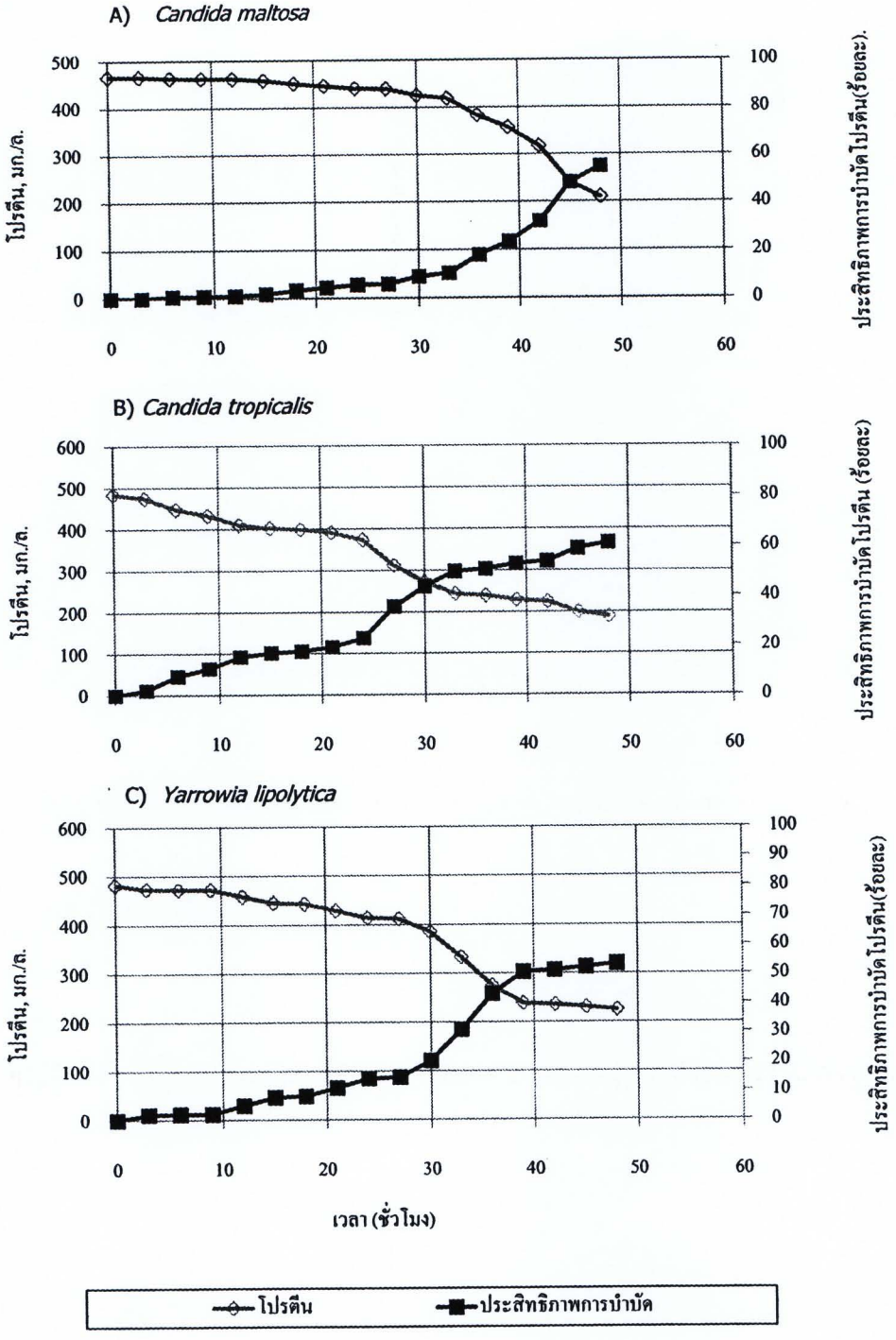


รูปที่ 4.7 ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีในน้ำเสียของยีสต์ของยีสต์ 3 สายพันธุ์

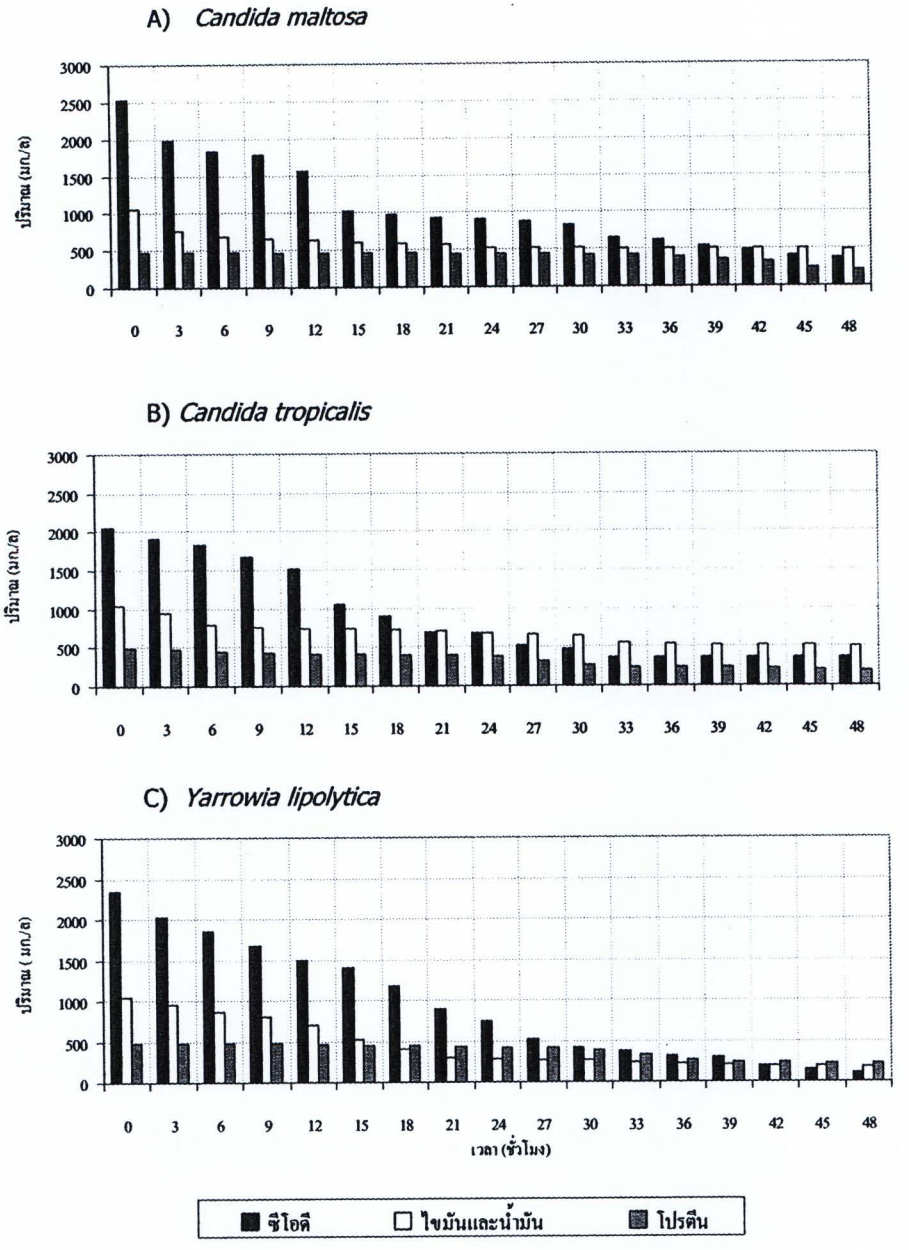
4.3.3 ประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีน

ยีสต์ 3 สายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Candida maltosa, Candida tropicalis* และ *Yarrowia lipolytica* สามารถบำบัดโปรตีนในน้ำเสียได้ร้อยละ 54.88 61.04 และ 53.28 ตามลำดับ ซึ่งโปรตีนถือว่าเป็นสารอาหารหลักที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ โดยยีสต์จะย่อยสลายโปรตีนและดูดซึมเพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน มีรายงานว่า *Candida tropicalis* S001 สามารถเติบโตได้ในน้ำเสียจากโรงฆ่าสัตว์ที่มีองค์ประกอบของไขมันและโปรตีนสูง ซึ่งเป็นการช่วยลดความสกปรกในรูปไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย ส่วนโปรตีนจะถูกใช้และเปลี่ยนให้อยู่ในรูปองค์ประกอบของเซลล์ ดังนั้นชีวมวลของเซลล์ยีสต์ที่เกิดขึ้นจึงมีความเหมาะสมในการนำไปใช้เพื่อเป็นแหล่งอาหารเสริมประเภทโปรตีนสำหรับสัตว์ (Rydin, 1990) สำหรับประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีนของยีสต์สามสายพันธุ์ในการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.8 พบว่า สายพันธุ์ *Candida tropicalis* สามารถย่อยสลายโปรตีนได้ดีที่สุดซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น โดย *Candida maltosa* และ *Yarrowia lipolytica* สามารถบำบัดโปรตีนในน้ำเสียได้ใกล้เคียงกัน

จากแนวโน้มประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี น้ำมันและไขมัน และโปรตีนในน้ำเสียของยีสต์ 3 สายพันธุ์ ดังรูปที่ 4.6-4.8 ที่ผ่านมา พบว่าทั้งสายพันธุ์ *Candida maltosa, Candida tropicalis* และ *Yarrowia lipolytica* สามารถย่อยสลายองค์ประกอบความสกปรกทั้งสามรูปแบบในน้ำเสียได้เป็นอย่างดี โดยจะมีการลดลงของสารอินทรีย์อย่างต่อเนื่องและเริ่มคงที่เนื่องจากสารอินทรีย์ถูกใช้ไปจนหมด และอาจคงเหลือเฉพาะส่วนที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Non-biodegradable organic matter) เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบผลการบำบัดพารามิเตอร์ทั้งสามของยีสต์สามสายพันธุ์ พบว่าได้ผลดังรูปที่ 4.9 นั่นคือ ยีสต์ทุกตัวมีรูปแบบการบำบัดซีโอดี น้ำมันและไขมัน และโปรตีนในน้ำเสียในลักษณะเดียวกัน ทุกพารามิเตอร์จะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 20 ชั่วโมงแรก ค่าซีโอดีจะถูกบำบัดได้มากที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันและไขมัน และโปรตีน ตามลำดับ จะเห็นได้ว่ายีสต์สายพันธุ์ *Candida maltosa* และ *Candida tropicalis* บำบัดซีโอดีได้ดี แต่การบำบัดสารอินทรีย์ในรูปไขมันและน้ำมัน และโปรตีนยังคงมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับ *Yarrowia lipolytica* โดยสายพันธุ์ *Candida tropicalis* สามารบำบัดโปรตีนได้ดีที่สุด ส่วน *Yarrowia lipolytica* พบว่าให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดสารอินทรีย์ทั้งสามพารามิเตอร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถบำบัดน้ำมันและไขมันได้จนมีค่าคงเหลือต่ำที่สุดเพียง 184 มก./ล. ในการบำบัดน้ำเสียได้ได้ตามมาตรฐานนั้น ตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรมได้กำหนดให้ค่าซีโอดีของน้ำเสียที่จะปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมได้ต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 120 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงต้องมีการออกแบบระบบบำบัดที่มีความเหมาะสมต่อไปซึ่งจะได้กล่าวในหัวข้อต่อไป



รูปที่ 4.8 ประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีนในน้ำเสียของยีสต์



รูปที่ 4.9 การบำบัดซีโอดี น้ำมันและไขมัน และโปรตีนในน้ำเสียของยีสต์ 3 สายพันธุ์

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันสูง ของยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida maltosa, Candida tropicalis* และ *Yarrowia lipolytica* พบว่าได้ผลดังตารางที่ 4.2 คือ โดยแต่ละสายพันธุ์มีอัตราการใช้น้ำมัน (Oil Uptake Rate ; OUR) เท่ากับ 0.33 0.28 และ 0.75 กก. น้ำมัน ต่อ กก.ชีวมวล ต่อวัน ตามลำดับ นั่นคือ *Yarrowia lipolytica* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด และมีอัตราการใช้น้ำมันสูงสุด รองลงมาคือ *Candida maltosa* และ *Candida tropicalis* ซึ่งต้องอาศัยระยะเวลาช่วงหนึ่งเพื่อปรับตัวให้คุ้นเคยกับน้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่ายีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถใช้สารอินทรีย์และองค์ประกอบต่างๆ ในน้ำ

เสียที่มีไขมันและน้ำมันสูงเพื่อการเจริญเติบโต เป็นผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณชีวมวลและเซลล์มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น

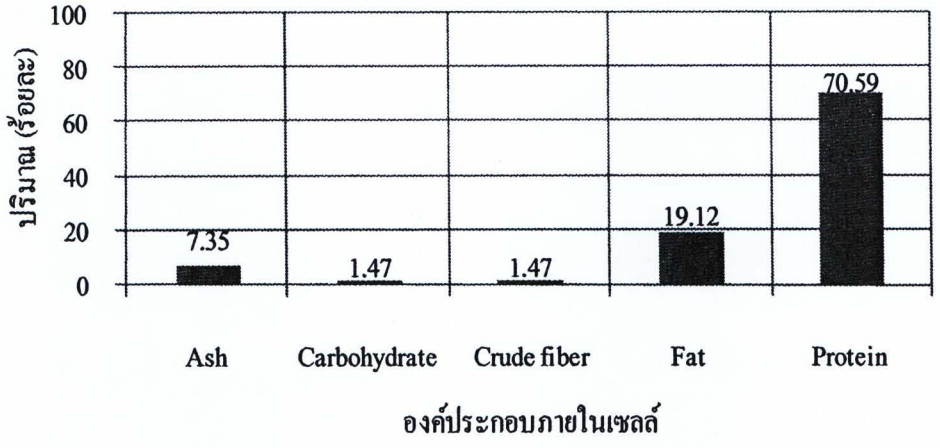
ตารางที่ 4.2 อัตราการใช้น้ำมันของยีสต์ 3 สายพันธุ์

พารามิเตอร์	สายพันธุ์ยีสต์		
	C. maltosa	*C. tropicalis*	*Y. lipolytica*
อัตราการใช้น้ำมัน (กก.น้ำมัน / กก.ชีวมวล /วัน)	0.33	0.28	0.75

สำหรับการคัดเลือกยีสต์ที่มีความเหมาะสมในการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันสูงในงานวิจัยนี้นั้น จะพิจารณาจากสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียได้สูงที่สุดและให้ผลผลิตเป็นปริมาณชีวมวลที่เพิ่มมากขึ้นด้วย เนื่องจากมีวัตถุประสงค์ในการนำเซลล์ที่ได้ไปใช้ประโยชน์เพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนอาหารเสริมของสัตว์ ซึ่งจากผลการทดลองทั้งหมดดังกล่าวข้างต้นพบว่า สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* มีความสามารถในการบำบัดสารอินทรีย์ในน้ำเสียได้ดีที่สุดทั้งในรูปซีโอดีและไขมันและน้ำมัน และมีอัตราการเพิ่มปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุดด้วย จึงคัดเลือกยีสต์สายพันธุ์นี้เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

4.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบของชีวมวลของยีสต์

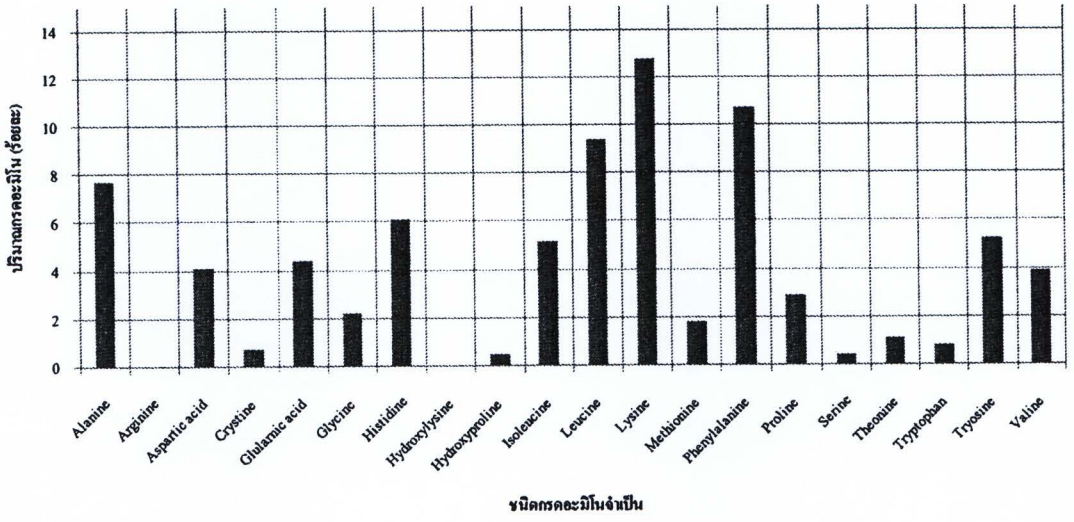
เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* พบว่า ได้ผลดังรูปที่ 4.10 คือ ประกอบไปด้วย โปรตีน ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต และไฟเบอร์ ในปริมาณจากมากไปน้อยถึงร้อยละ 70.59 19.12 7.35 1.47 และ 1.47 ตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ ที่มีรายงานไว้พบว่า มีปริมาณโปรตีนและไขมันสูงกว่า *Candida utilis* OZ993 อย่างเห็นได้ชัด คือ สายพันธุ์ดังกล่าวภายในเซลล์ประกอบไปด้วยโปรตีนและไขมันเพียงร้อยละ 26 และ 9 ตามลำดับ แต่มีคาร์โบไฮเดรตสูงถึงร้อยละ 26 (Zheng, 2005) นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีนและไขมันที่พบใน *Yarrowia lipolytica* มีค่าสูงกว่าที่รายงานโดย Nigam (1998) และ Choi และ Park (2003) สำหรับสายพันธุ์ *Candida utilis* Y900 และ *Candida utilis* อีกด้วย โดยเมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบวิตามินภายในชีวมวลเพิ่มเติมพบว่ายังประกอบไปด้วย ไรโบเฟลวิน กรดเพนโตอิก และไพริดอกซิน โดยเฉพาะไรโบเฟลวินมีปริมาณสูงถึง 250 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยไรโบเฟลวินนิยมใช้ใช้อุตสาหกรรมยาและอาหาร ส่วนกรดเพนโตอิกมีประโยชน์ในการใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์ (Reed และ Nagodawithana, 1983)



รูปที่ 4.10 องค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica*

จากองค์ประกอบทางเคมีของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ที่ประกอบไปด้วยโปรตีนในปริมาณสูงมาก เมื่อนำมาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบย่อยของโปรตีนในเซลล์แล้วพบว่า ได้ผลดังรูปที่ 4.11 คือ ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนต่างๆ มากมายถึง 18 ชนิดในทั้งหมด 20 ชนิด โดยเรียงลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ ไลซีน เฟนิลอะลานีน ลิวซีน อะลานีน ฮิสติดีน ไธโลซีน ไอโซลิวซีน กรดกลูตามิก กรดแอสพาติก วาลีน โพลีน กลัยซีน เมไธโอนีน ธีโอนีน ทริปโตเฟน ซิสติน ไฮดรอกซีโพรลีน และซีรีน โดยกรดอะมิโน 2 ชนิดที่พบในปริมาณน้อยมาก คือ อาจีนีนและไฮดรอกซีไลซีน ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้พบว่าประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential amino acids) เพื่อเป็นองค์ประกอบในอาหารสัตว์อย่างครบถ้วน โดยคิดเป็นปริมาณกรดอะมิโนรวมสูงถึง 7.99 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งสูงกว่าปริมาณรวมตามมาตรฐานอาหารสัตว์จากองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ที่มีค่าเท่ากับ 7.23 กรัมต่อ 100 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง แต่เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับอาหารสัตว์อื่นๆ ที่เป็นแหล่งโปรตีนโดยตรง ได้แก่ ถั่วเหลือง เนื้อปลา และไข่ ที่มีรายงานว่ามีกรดอะมิโนปริมาณรวมเท่ากับ 16.8 26.2 และ 49.4 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ (Litchfield, 1979 ; Boze และคณะ 1992) พบว่าชีวมวลของยีสต์ที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณกรดอะมิโนต่ำกว่าแหล่งอาหารเสริมที่มีราคาสูงเหล่านี้มาก แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปัจจัยในด้านราคาประกอบกับความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ในการนำชีวมวลเหลือใช้จากการบำบัดน้ำเสียไปใช้ให้เกิดประโยชน์ พบว่า ชีวมวลของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ที่เลี้ยงในน้ำเสียไขมันและน้ำมันสูงมีปริมาณกรดอะมิโนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่สามารถนำไปเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนอาหารเสริมของสัตว์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งในปี 1990 Anna ได้รายงานว่าในการผลิตอาหารสัตว์จำเป็นต้องมีการเติมกรดอะมิโนบางชนิด เช่น ไลซีน เมไธโอนีน และทริปโตเฟนเพื่อทดแทนแหล่งโปรตีนจากพืช นอกจากนี้ Scrimshaw และ Young (1979) รายงานว่าโปรตีนจากพืชมักขาดกรดอะมิโนดังกล่าว

โดยเมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนทั้งสามชนิดในชีวมวลของ *Yarrowia lipolytica* พบว่า มีไลซีน เมไธโอนีน และทริบโตเฟนเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ปริมาณเท่ากับ 1.28 0.181 0.083 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ



รูปที่ 4.11 ปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนในยีสต์ *Yarrowia lipolytica*

เมื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นจากชีวมวลของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* กับยีสต์สายพันธุ์อื่นๆ และเปรียบเทียบกับมาตรฐานอาหารสัตว์จากองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ข้อมูลจากตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่ายีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ที่ใช้ในการทดลองมีชนิดของกรดอะมิโนจำเป็นเป็นองค์ประกอบใกล้เคียงกับยีสต์สายพันธุ์เดียวกันที่ทำการทดลองในน้ำเสียที่เป็นไขมันและน้ำมันโดย Noppadol (1980) แต่มีปริมาณแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด อาจเนื่องมาจากยีสต์สายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่นำมาจากแหล่งเก็บรวมรวมจุลินทรีย์ ไม่ใช่สายพันธุ์ที่ทำการคัดแยกได้จากน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเช่นงานวิจัยดังกล่าว และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นกับยีสต์สายพันธุ์อื่นที่ทดลองเลี้ยงในน้ำเสียประเภทเดียวกัน พบว่า *Yarrowia lipolytica* ที่ใช้ในการทดลองมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิด ได้แก่ ไลซีน วาลีน ฟีนิลอะลานีน และลิวซีน ในปริมาณที่สูงกว่า *Candida utilis* ที่รายงานโดย Zheng (2005) และ Nigam (1998) และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นกับถั่วเหลืองพบว่า มีทั้งชนิดและสัดส่วนปริมาณที่ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยจากการเปรียบเทียบกับมาตรฐานอาหารเสริมของสัตว์ที่กำหนดโดยองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติพบว่า ชีวมวลที่ได้จากยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนจำเป็นต่างๆ อย่างครบถ้วนทั้งชนิดและ

ปริมาณ จัดเป็นแหล่งอาหารประเภทโปรตีนที่มีคุณภาพเหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังเป็นแนวทางที่เหมาะสมในการใช้ประโยชน์จากของเสียได้เป็นอย่างดีตรงตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นจากชีวมวลของยีสต์กับถั่วเหลืองและมาตรฐานอาหารเสริมสำหรับสัตว์องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ

Amino acid	แหล่งโปรตีน (ร้อยละของโปรตีนทั้งหมด)					
	C. utilis[a] OZ993	*C. utilis*[b] Y900	*Y. lipolytica*[c]	*Y. lipolytica*[d]	ถั่วเหลือง[e]	FAO Guideline[f]
Lysine	7.8	7.7	12.763	16.36	6.6	4.2
Threonine	4.7	4.6	1.11	11.5	4.3	2.8
Valine	4.0	4.7	12.64	12.64	5.0	4.2
Methionine	1.0	1.0	1.86	2.09	1.3	2.2
Isoleucine	4.1	4.0	5.17	9.64	4.9	4.2
Leucine	7.9	6.2	9.36	14.27	8	4.8
Phenylalanine	3.4	3.4	10.72	9.41	-	2.8
Histidine	1.5	1.6	6.07	4.91	-	-
Arginine	4.4	6.4	-	15.23	-	-
Tryptophan	ND.	ND.	0.83	4.33	-	-

[a] ข้อมูลจาก Zheng (2005)

[b] ข้อมูลจาก Nigam (1998)

[c] ข้อมูลจากงานวิจัยนี้

[d] ข้อมูลจาก Noppadol (1980)

[e] ข้อมูลจาก Lo และ Moreau (1986)

[f] ข้อมูลจากมาตรฐานอาหารเสริมสำหรับสัตว์ขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ

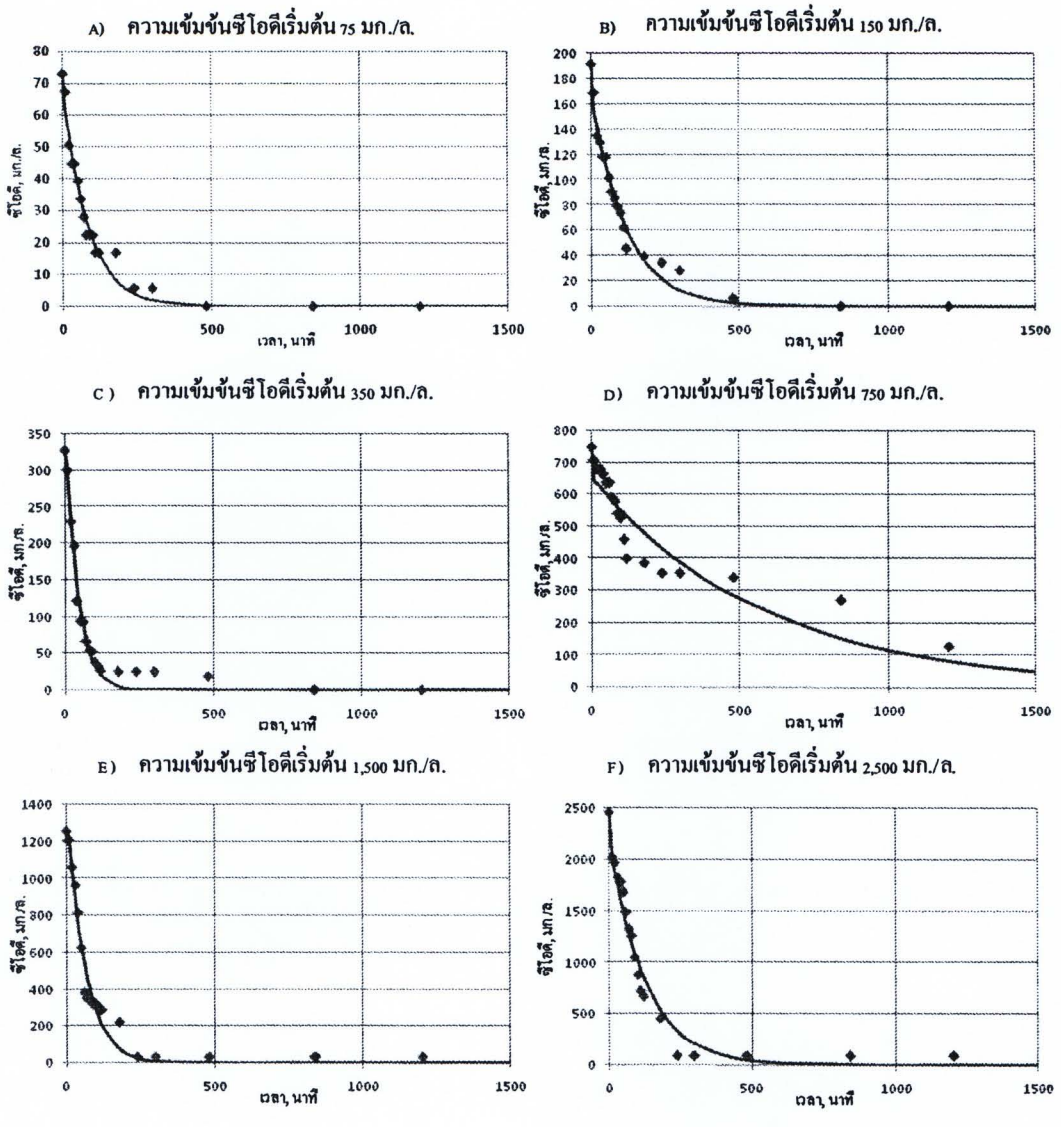
4.6 การวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์

4.6.1 การหาอัตราการบำบัดน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica*

การทดลองในส่วนนี้เป็นการศึกษาอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย โดยทำการกำหนดความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นที่แตกต่างกันจำนวน 6 ชุด ได้แก่ ที่ความเข้มข้น 75 150 350 750 1,250 และ 2,500 มก./ล. ตามลำดับ การเตรียมตัวอย่างในขั้นตอนนี้ใช้วิธีการเจือจางตัวอย่างน้ำเสียให้ได้ตามที่ต้องการ และเตรียมหัวเชื้อยีสต์ที่มีความเข้มข้น 750 1,500 3,500 7,500 12,500 และ 25,000 มก./ล. นั่นคือมีความเข้มข้นประมาณ 10 เท่าของความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นต่อชุดการทดลอง โดยการใช้หัวเชื้อยีสต์ที่มีความเข้มข้นสูงในการทดลองนี้เนื่องจากต้องการลดระยะเวลาในช่วงแรกของการเจริญเติบโต (Lag phase) และพิจารณาเฉพาะค่าอัตราการย่อยสลายของสารอินทรีย์ที่มีความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นที่แตกต่างกัน จากนั้นข้อมูลที่ได้จะนำมาวิเคราะห์อัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ลดลงตามเวลาโดยแสดงเป็นกราฟความสัมพันธ์ของซีโอดีที่ละลายน้ำและเวลา ผลการทดลองที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.12 พบว่าตั้งแต่เริ่มต้นถ่ายหัวเชื้อยีสต์ลงในน้ำเสียจนถึงนาทีที่ 60 สารอินทรีย์ลดลงอย่างรวดเร็วจนซีโอดีมีค่าคงที่ที่เวลาประมาณ 70 นาที โดยเมื่อนำข้อมูลจากกราฟส่วนที่เป็นเส้นตรงและมีความชันมากที่สุดมาใช้ในการวิเคราะห์ค่าความชันของกราฟและสมการเส้นตรง ทำให้สามารถทราบความเข้มข้นของซีโอดีเริ่มต้นที่แท้จริงจากสมการเส้นตรงที่ได้ ดังข้อมูลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 อัตราการย่อยสลายสารอาหารจำเพาะของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica*

ชุดการทดลอง	ความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้น (มก./ล.)	อัตราการย่อยสลายสารอาหารจำเพาะ ($ชั่วโมง^{-1}$)
1	68.86	0.047
2	170.4	0.041
3	325.8	0.074
4	672.22	0.018
5	1,299	0.057
6	2,227	0.033



รูปที่ 4.12 ปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย

จากรูปที่ 4.12 เมื่อนำมาวิเคราะห์ความถดถอยไม่เชิงเส้น (Non-linear regression) จะเห็นได้ว่าค่าซีโอดีลดลงเป็นฟังก์ชันเอกโพเนนเชียล ทำให้สามารถหาอัตราการบำบัดที่เกิดขึ้นในแต่ละชุดการทดลองตามสมการที่ 4.1 และได้ค่าอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์แสดงดังตารางที่ 4.4 โดยผลการทดลองของชุดการทดลองที่ความเข้มข้นของซีโอดีเริ่มต้นเท่ากับ 750 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความผิดพลาดในการวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงไม่ได้นำข้อมูลจากชุดการทดลองดังกล่าวมาใช้ในการวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์

$$S = bS_0 e^{-(k.)t} + nb \qquad \text{..... (4.1)}$$

เมื่อ

S คือ ซีโอดีทั้งหมด

S_0 คือ ซีโอดีที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ

nb คือ ซีโอดีที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ

k คือ อัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์

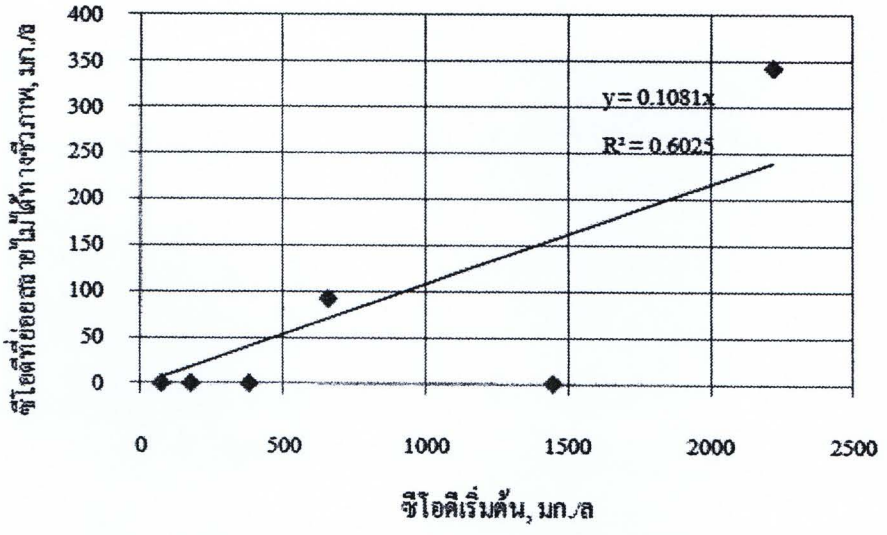
t คือ เวลา

4.6.2 การศึกษาค่าซีโอดีที่ไม่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพ

เมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าซีโอดีเริ่มต้นและค่าซีโอดีที่คงเหลือในระบบ ซึ่งจะเรียกว่า ค่าซีโอดีที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Non- biodegradable COD) โดยสามารถหาได้จากค่าซีโอดีละลายน้ำที่คงเหลือ เมื่อทำการทดลองที่ความเข้มข้นของน้ำเสียเริ่มต้นต่างๆ ตั้งแต่ 75 - 2,500 มก./ล. แสดงดังตารางที่ 4.5 โดยสัดส่วนของค่าซีโอดีที่ไม่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพต่อค่าซีโอดีเริ่มต้นแสดงดังรูปที่ 4.13

ตารางที่ 4.5 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica*

ชุดการทดลอง	ความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้น (มก./ล.)	อัตราการย่อยสลายสารอาหาร ($ชั่วโมง^{-1}$)	ซีโอดีคงเหลือ (มก./ล.)
1	68.86	0.047	0
2	170.4	0.041	0
3	325.8	0.074	0
4	672.22	0.018	92.05
5	1,299	0.057	0
6	2,227	0.033	343.71

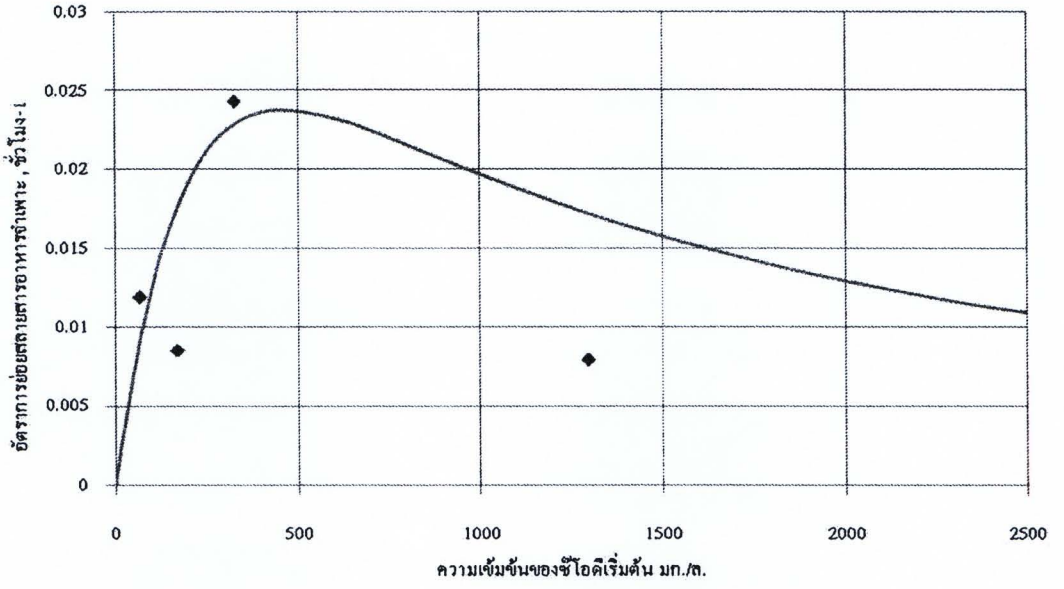


รูปที่ 4.13 องค์ประกอบส่วนที่ย่อยสลายไม่ได้ในน้ำเสีย

จากผลการทดลองค่าซีโอดีที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพนั้นมีสัดส่วนเป็น 0.108 เท่าของค่าซีโอดีละลายน้ำเริ่มต้น จากกราฟจะเห็นได้ว่าค่าซีโอดีที่ย่อยสลายไม่ได้ในน้ำเสียนั้นมีค่าไม่คงที่ตามความเข้มข้นของซีโอดีเริ่มต้น เนื่องจากการเก็บรักษาตัวอย่างน้ำเสียและการเตรียมน้ำเสียก่อนเริ่มทำการทดลองในแต่ละชุดการทดลอง ทำให้ในบางชุดการทดลองไม่พบซีโอดีที่ย่อยสลายไม่ได้ในน้ำเสียหรือพบในปริมาณที่น้อยมาก โดยค่าซีโอดีที่ไม่สามารถย่อยสลายได้นี้อาจมีองค์ประกอบมาจากสารอนินทรีย์หรือสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนซึ่งยากแก่การย่อยสลาย ซึ่งค่าซีโอดีที่ย่อยสลายไม่ได้ทางชีวภาพนั้นมีความสำคัญและจำเป็นต่อการทดลองหาค่าจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายสารทางชีวภาพต่อไป (ธงชัย นิรันดร์วงศ์วาน, 2008)

4.6.3 การวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์

ข้อมูลที่ได้จากรูปที่ 4.12 เมื่อนำไปสร้างกราฟตามทฤษฎีของ Haldane โดยการนำค่าความชันของค่าซีโอดีละลายน้ำช่วงที่ลดลงของแต่ละความเข้มข้นหารด้วยปริมาณเชื้อสลัดจ์เริ่มต้น ซึ่งจะได้เป็นค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ จากนั้นนำค่าที่ได้นี้ไปสร้างกราฟเทียบกับค่าซีโอดีละลายน้ำเริ่มต้นของแต่ละความเข้มข้นจะได้กราฟเป็นดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 การวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ในน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบตามทฤษฎีของ Haldane

ในการวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ในงานวิจัยนี้จะใช้สมการของ Haldane เนื่องจากมีความแม่นยำและมีความน่าเชื่อถือในการวิเคราะห์ ซึ่งในการทดลองได้มีการกำหนดให้ใช้ความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์ในตอนเริ่มต้นสูงถึง 10 เท่าของความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นจากข้อมูลของการทดลองในตอนที่ 1 โดยสามารถหาค่ายิลล์ได้เท่ากับ 0.58 มก. เซลล์-ซีโอดี ต่อ มก.ซีโอดี ดังนั้นค่าตัวแปรทางจลนพลศาสตร์สามารถพิจารณาได้จากสมการการหาค่ายิลล์ (Yield) แสดงดังสมการที่ 4.2

$$Y = \frac{\Delta X}{\Delta S} = \frac{dX/dt}{dS/dt} \qquad \text{..... (4.2)}$$

ค่ายิลล์ คือ ปริมาณของชีวมวลที่เกิดขึ้น (X) เทียบกับสารอาหารที่ลดลงต่อเวลา ดังสมการที่ 4.3

$$Y\frac{dS}{dt} = \frac{dX}{dt} \qquad \text{..... (4.3)}$$

$$\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y}\frac{dX}{dt} \qquad \text{..... (4.4)}$$

เมื่อพิจารณาชีวมวลที่เกิดขึ้นจากสารอาหารที่ลดลงไป ได้สมการที่ 4.5

$$\frac{1}{X}\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y.X}\frac{dX}{dt} \qquad \text{..... (4.5)}$$

$$\mu = \frac{1}{X}\frac{dX}{dt} \qquad \text{..... (4.6)}$$

จากสมการของ Haldane's

$$\mu = \frac{1}{X}\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m . S}{K_s + S + \left(\frac{S^2}{Ki}\right)} \qquad \text{..... (4.7)}$$

$$\frac{1}{X}\frac{ds}{dt} = \frac{1}{Y}.\mu = \frac{(k_m).S}{K_S + S + \left(\frac{S^2}{Ki}\right)} \qquad \text{..... (4.8)}$$

$$k_m = \frac{\mu_m}{Y}$$

เมื่อพิจารณาค่าจลนพลศาสตร์ที่ได้จากเส้นกราฟ พบว่าค่าจลนพลศาสตร์จากการใช้ฟังก์ชันแก้สมการของโปรแกรม SPSS Statistic version 17.0 ได้ผลดังนี้คือ k_m = 0.217 ± 0.03 ชั่วโมง$^{-1}$, K_S = 434.797 ± 83 มก./ล. และ K_i = 489.101 ± 72 มก./ล. โดยค่ายิลล์ของการเจริญเติบโตของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ที่ได้จากการทดลองเท่ากับ 0.58 มก.เซลล์ซีโอดี ต่อ มก.ซีโอดี ทำให้ได้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_m) คือ 0.374 ชั่วโมง$^{-1}$ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมาของ Loperena และคณะ (2006) ที่รายงานว่าค่าจลนพลศาสตร์ของจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์ที่คัดแยกได้จากธรรมชาติเมื่อทดลองเลี้ยงในน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบต่อเนื่องมีค่ายิลล์เท่ากับ 0.58 มก.เซลล์-ซีโอดี ต่อ มก.ซีโอดี และมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ(μ_m) = 0.22 ชั่วโมง$^{-1}$ ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าจลนพลศาสตร์ที่ได้จากการทดลองนั้นมีค่าใกล้เคียงกันกับที่รายงานไว้มาก ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าค่าจลนพลศาสตร์นี้สามารถนำไปใช้ในการออกแบบถังปฏิกิริยาที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียได้แก่ ถังกวนสมบูรณ์ (Continuous Stirred Tank Reactor ; CSTR) หรือ ถังปฏิกิริยาแบบไหลตามยาว (Plug Flow Reactor ; PFR) เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมในการนำไปออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียไขมันและน้ำมันเพื่อในการบำบัดน้ำเสียและสามารถใช้ประโยชน์จากชีวมวลที่เกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด