ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
247855

การเปลี่ยนรูปน้ำมันและไขมันในน้ำเสียให้เป็นชีวมวลของยีสต์

นายอิสระ นนธิราช

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2552
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

b00252430

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
247855

การเปลี่ยนรูปน้ำมันและไขมันในน้ำเสียให้เป็นชีวมวลของยีสต์

นายอิสระ นนธิราช

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2552
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4 9 7 0 7 1 2 6 2 1

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาอย่างสูงของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ลักษณ์ พึ่งรัศมี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรัณย์ เตชะเสน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ที่ให้โอกาส แนะนำแนวทาง ตลอดจนให้คำปรึกษาด้านต่างๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งตลอดระยะเวลาการทำวิทยานิพนธ์นี้ ผู้ทำวิทยานิพนธ์ขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์ทั้งสองเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ วงศ์พันธ์ ลิมปเสนีย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มนัสกร ราชากรกิจ และ ดร. บัณฑิต ฝั่งสินธุ์ ที่ได้ให้คำแนะนำและตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์จนถูกต้องและสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุธา ขาวเธียร หัวหน้าภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ที่อนุเคราะห์สถานที่เพื่อใช้ในการทำวิทยานิพนธ์นี้ และขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อมทุกท่าน ที่กรุณาถ่ายทอดความรู้และอบรมสั่งสอนแก่ผู้ทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่การทำปฏิบัติการจุลชีววิทยา และให้ความช่วยเหลือทุกด้านตลอดการศึกษา

ขอขอบพระคุณอาจารย์ รัชนี ไสยประจง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่การทำปฏิบัติการวิเคราะห์ในระหว่างการทำการทดลอง

ขอขอบคุณครูปฏิบัติการทุกท่านที่ให้คำแนะนำต่างๆ แก่ผู้ทำวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องธุรการได้แก่ พี่พิท พี่เป้า พี่พนม และพี่หนึ่ง ที่ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในด้านเอกสารและการติดต่อประสานงานแก่ผู้ทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา

ขอขอบคุณเพื่อนๆ น้องๆ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ร่วมเรียนและทำงานด้วยกันตลอดมา

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้ความสนับสนุนและเป็นแรงผลักดันกำลังใจอย่างดียิ่งแก่ผู้ทำวิทยานิพนธ์ตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญรูป..... ฐ

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4

2.1 น้ำเสียที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ..... 4

2.2 ไขมันและกรดไขมัน..... 4

2.2.1 ไขมัน (Fat)..... 5

2.2.2 กรดไขมัน (fatty acid)..... 5

2.2.3 สภาพทางกายภาพของไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย..... 7

2.2.4 วิธีการกำจัดไขมันและน้ำมันออกจากน้ำเสีย..... 8

2.2.4.1 วิธีการทางกายภาพ (Physical method)..... 8

2.2.4.2 วิธีการทางเคมี (Chemical method)..... 9

2.2.4.3 วิธีการด้านชีวภาพ (Biological method)..... 9

2.3 ชีวมวลของจุลินทรีย์..... 11

2.4 ประเภทของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตชีวมวล..... 13

2.4.1 สาหร่าย..... 13

2.4.2 รา..... 13

2.4.3 แบคทีเรีย..... 14

2.4.4 ยีสต์..... 15

2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับยีสต์..... 15

2.6 วัตถุดิบในการผลิตชีวมวลของยีสต์..... 17

2.6.1 ไฮโดรคาร์บอน..... 17

หน้า

2.6.2 คาร์โบไฮเดรต 17
2.7 การผลิตชีวมวลของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ 18
2.8 โปรตีนเซลล์เดียว 19
2.9 ทฤษฎีที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์..... 21
2.9.1 ทฤษฎีของ Monod..... 21
2.9.2 ทฤษฎีของ Lineweaver-Burk..... 22
2.9.3 ทฤษฎีของ Hanes 23
2.9.4 ทฤษฎีของ Hofstee 24
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 25
2.10.1 การศึกษาการคัดแยกแบคทีเรียที่ใช้ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมัน 25
2.10.2 การศึกษาการผลิตชีวมวลของจุลินทรีย์ 26
2.10.3 การศึกษาการหาค่าจลนพลศาสตร์ของจุลินทรีย์ 28
2.10.4 การทดลองใช้ชีวมวลแทนอาหารสัตว์ 28
บทที่ 3 วิธีการทดลอง 30
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี 30
3.1.1 เครื่องมือ 30
3.1.2 สารเคมี 30
3.2 แผนการทดลอง 31
บทที่ 4 ผลการทดลอง 40
4.1 ลักษณะสมบัติของน้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง 40
4.2 จุลินทรีย์กลุ่มยีสต์ 41
4.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา..... 41
4.2.2 ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสของยีสต์..... 42
4.2.3 การเจริญเติบโตของยีสต์ในน้ำเสียที่มีองค์ประกอบ
ไขมันและน้ำมันสูง..... 44
4.3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ 45
4.3.1 ประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมัน 45
4.3.2 ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี..... 46
4.3.3 ประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีน..... 48
4.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบของชีวมวลของยีสต์ 51

หน้า

4.5 การวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์ 55
4.5.1 การหาอัตราการบำบัดน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* 55
4.5.2 การศึกษาค่าซีโอดีที่ไม่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพ..... 56
4.5.3 การวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์ 58
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 61
5.1 สรุปผลการวิจัย..... 61
5.2 ข้อเสนอแนะ 62
รายการอ้างอิง 63
ภาคผนวก 69
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 98

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ตำแหน่งและจำนวนพันธะคู่ที่มีผลต่อจุดหลอมเหลวของไขมัน	7
2.2	การคาดหมายความต้องการโปรตีนของประชากรโลก	11
2.3	ปริมาณกรดอะมิโนที่ได้จากจากยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ เมื่อเทียบกับมาตรฐานอาหารสัตว์.....	20
3.1	พารามิเตอร์ต่างๆ ทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียที่ทำการวิเคราะห์	33
3.2	ตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในช่วงการทดลองที่ 1	35
3.3	พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ทำการวิเคราะห์ชีวมวลของยีสต์	38
3.4	ความเข้มข้นของซีโอดีเริ่มต้นและหัวเชื้อยีสต์ในการทดลอง 6 ชุด	38
4.1	ลักษณะสมบัติของน้ำเสียโรงงานปลากระป๋อง	42
4.2	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของยีสต์ 3 สายพันธุ์.....	51
4.3	การเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นจากชีวมวลของยีสต์กับถั่วเหลืองและมาตรฐานอาหารเสริมสำหรับสัตว์องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ.....	54
4.4	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของยีสต์*Yarrowia lipolytica*.....	55

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	โครงสร้างทั่วไปของกรดไขมัน.....	6
2.2	ลักษณะทางกายภาพของไขมันและน้ำมันในสภาพที่เป็นอีมัลชัน.....	8
2.3	เบต้าออกซิเดชันของการย่อยสลายกรดไขมันและน้ำมันโดยยีสต์.....	10
2.4	ลักษณะรูปร่างของเซลล์ยีสต์.....	16
2.5	องค์ประกอบของเซลล์ยีสต์.....	16
2.6	อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Monod.....	22
2.7	อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ LineweaverBurk.....	23
2.8	อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Hanes.....	24
2.9	อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Hofstee	25
3.1	แผนผังสรุปการทดลองทั้งหมดของงานวิจัย.....	32
3.2	แผนการทดลองช่วงที่ 1.....	34
3.3	แผนการทดลองช่วงที่ 2.....	37
3.4	แผนการทดลองการหาค่าจลนพลศาสตร์ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย.....	39
4.1	จุดเก็บตัวอย่างน้ำเสียเพื่อใช้ในการทดลอง.....	41
4.2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ 3 สายพันธุ์จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน...	42
4.3	ผลการทดสอบเอนไซม์ไลเปสขั้นปฐมภูมิบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่มีการเติมน้ำมันเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน.....	43
4.4	การเปรียบเทียบการเจริญของยีสต์ในอาหารเหลวที่มีการเติมน้ำมันถั่วเหลืองเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน.....	43
4.5	การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของยีสต์ในน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ.....	44
4.6	ประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียของยีสต์ 3 สายพันธุ์.....	46
4.8	ประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีนในน้ำเสียของยีสต์.....	47
4.9	การบำบัดซีโอดี น้ำมันและไขมัน และโปรตีนในน้ำเสียของยีสต์ 3 สายพันธุ์...	50

CONVERSION OF FAT, OIL AND GREASE IN WASTEWATER TO YEAST BIOMASS

Mr. Ittsara Nonthirach

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Engineering Program in Environmental Engineering

Department of Environmental Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2009

Copyright of Chulalongkorn University

อิสระ นนธิราช : การเปลี่ยนรูปน้ำมันและไขมันในน้ำเสียให้เป็นชีวมวลของยีสต์ (CONVERSION OF FAT, OIL AND GREASE IN WASTEWATER TO YEAST BIOMASS) อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร. วิบูลย์ลักษณ์ พึ่งรัศมี, อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ผศ.ดร.ศรัณย์ เตชะเสน, 99 หน้า.

217855

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียด้วยกระบวนการทางชีววิทยาโดยอาศัยจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์ น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำเสียจริงจากโรงงานอุตสาหกรรมปลากระป๋องซึ่งมีไขมัน น้ำมัน และโปรตีนเป็นองค์ประกอบ มีค่าซีโอดี 3,680 มิลลิกรัมต่อลิตร ไขมันและน้ำมัน 2,822 มิลลิกรัมต่อลิตร โปรตีน 714 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณคาร์บอนทั้งหมด 1,146 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการทดลองเปรียบเทียบการบำบัดด้วยยีสต์ 3 สายพันธุ์ที่ผ่านการทดสอบการผลิตเอนไซม์ไลเปสขั้นปฐมภูมิแล้ว ได้แก่ *Candida maltosa* *Candida tropicalis* และ *Yarrowia lipolytica* โดยการทดลองแบบแบทช์ ที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่ามีประสิทธิภาพในการบำบัดซีโอดีใกล้เคียงกัน คือร้อยละ 85.57 82.09 และ 95.73 ตามลำดับ และประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันเท่ากับร้อยละ 53.74 51.07 และ 82.74 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *Yarrowia lipolytica* เป็นยีสต์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย เมื่อนำชีวมวลของยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวไปวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์พบว่า ชีวมวลที่ได้มีทั้งชนิดและปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นอย่างครบถ้วนในปริมาณสูง และผ่านเกณฑ์ที่กำหนดเมื่อเปรียบเทียบกับค่าตามมาตรฐานอาหารสัตว์ขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) นั่นคือมีลักษณะสมบัติที่สามารถนำไปใช้เป็นอาหารเสริมประเภทโปรตีนสำหรับสัตว์ได้เป็นอย่างดี จากการทดลองเพื่อศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียโดยใช้สมการของ Haldane พบว่า มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_m) เท่ากับ 0.37 ชั่วโมง$^{-1}$ ค่าความเข้มข้นที่ครึ่งหนึ่งของอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์สูงสุด (K_S) เท่ากับ 434 มก./ล. และค่าคงที่จากสภาวะความเป็นพิษของไขมัน (K_i) เท่ากับ 489 มก./ล. ซึ่งค่าคงที่ที่ได้จากการวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์เหล่านี้เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน โดยสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียเพื่อกำจัดไขมันและน้ำมันด้วยจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์ได้

ภาควิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา 2552 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพธ์ร่วม.....

4970712621: MAJOR ENVIRONMENTAL ENGINEERING

KEYWORDS ; FAT, OIL AND GREASE / YEAST BIOMASS / WASTEWATER

ITTSARA NONTHIRACH : CONVERSION OF FAT, OIL AND GREASE IN WASTEWATER TO YEAST BIOMASS. THESIS ADVISOR: ASST., PROF. WIBOONLUK PUNGRUSAMI, Ph.D., THESIS CO – ADVISOR : ASST., PROF SARUN TEJASEN, Ph.D., 99 pp.

217855

The aim of this research was to study biological treatment of fat, oil, and grease in wastewater by yeast. Real wastewater from canned fish industry that has fat, oil, and protein as its component was used in this experiment. The results of wastewater analysis showed COD value of 3,680 mg/L, lipid and oil of 2,822 mg/L, protein of 714 mg/L and total carbon of 1,146 mg/L. Three yeast strains used in this research were pure culture that had been undergone enzyme lipase primary production test as *Candida maltosa, Candida tropicalis* and *Yarrowia lipolytica*. After cultivation in wastewater at room temperature with rotational speed at 200 rpm for 48 hours, the COD removal efficiency was found to be 85.57, 82.09 and 95.73 percent for *Candida maltosa, Candida tropicalis* and *Yarrowia lipolytica* respectively, and the removal efficiency of oil and fat equaled to 53.74, 51.07 and 82.74 percent, respectively. Consequently, it could be concluded that *Yarrowia lipolytica* had the highest capability in fat and oil removal from oily wastewater. Moreover, *Yarrowia lipolytica* biomass contained all the essential amino acids which were well balanced and surpassed well with the Food Agricultural Organization (FAO) guideline. Its high content of the essential amino acids suggested that the yeast protein would be suitable as the protein supplement to increase the protein quality of animal feed. The kinetics of organic utilization using Haldane's equation was calculated. The maximum specific growth rate (μ_m), half - saturation coefficient (K_S) and inhibition constant (K_i) were 0.37 hr^{-1}, 434 mg/l and 489 mg/l, respectively. These values are comparable with those that have been reported by all review literatures, suggesting that those kinetic values may be suitable for oily wastewater treatment plant design.

Department : Environmental Engineering Student's Signature Ittsara

Field of Study : Environmental Engineering Advisor's Signature Wiboonluk P.

Academic Year : 2009 Co-Advisor's Signature Sarun T.

รูปที่		หน้า
4.10	องค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica*.....	52
4.11	ปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนในยีสต์ *Yarrowia lipolytica*	53
4.12	ปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย.....	56
4.13	องค์ประกอบส่วนที่ย่อยสลายไม่ได้ในน้ำเสีย.....	58
4.14	การวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ในน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบตามทฤษฎีของ Haldane	59