# การเปลี่ยนรูปน้ำมันและไขมันในน้ำเสียให้เป็นชีวมวลของยีสต์

นายอิสระ นนธิราช

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2552
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

Mr. Ittsara Nonthirach

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

| | |
|---|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | การเปลี่ยนรูปน้ำมันและไขมันในน้ำเสียให้เป็นชีวมวลของยีสต์ |
| โดย | นายอิสระ นนธิราช |
| สาขาวิชา | วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ลักษณ์ พึ่งรัศมี |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศรัณย์ เตชะเสน |

---

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร. บุญสม เลิศหิรัญวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ วงศ์พันธ์ ลิมปเสนีย์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ลักษณ์ พึ่งรัศมี)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรัณย์ เตชะเสน)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มนัสกร ราชากรกิจ)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ดร. บัณฑิต ฝั่งสินธุ์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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.

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 ($\mu_m$) 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 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

## 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.

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 ($\mu_m$), 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.....

# 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

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# 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 |


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# 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 |

| 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 |


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ไขมันและน้ำมันที่มาจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร โรงฆ่าสัตว์ และห้องแช่เย็นอาหาร เป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการบำบัดน้ำเสีย โดยจะปิดกั้นการผ่านของแสงอาทิตย์ลงสู่ใต้น้ำทำให้พืชน้ำไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ และขวางกั้นการแพร่กระจายของออกซิเจนจากอากาศลงสู่น้ำ ทำให้น้ำเกิดการเน่าเสียและส่งกลิ่นเหม็น การบำบัดไขมันในน้ำเสียนั้นสามารถดำเนินการได้หลายวิธี ทั้งวิธีทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ซึ่งวิธีที่ได้ผลมากที่สุดและราคาถูกที่สุด ได้แก่ วิธีการทางชีวภาพ โดยในปัจจุบันมีผู้สนใจศึกษาเกี่ยวกับการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันสูง ตลอดจนหาแนวทางการเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดอย่างแพร่หลาย รวมทั้งศึกษาประโยชน์ในการนำผลผลิตที่เกิดจากการบำบัดไปใช้เพื่อก่อให้เกิดความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์มากที่สุดด้วย สำหรับการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียด้วยกระบวนการทางกายภาพ นับเป็นวิธีการขั้นต้นที่ทำได้ง่าย สะดวก และได้รับความนิยมมาก โดยอาศัยหลักการความแตกต่างของความหนาแน่นของอนุภาคของไขมันและน้ำมันในการแยกตัวออกจากน้ำเสีย ตัวอย่างเช่น ถังดักไขมัน (Grease trap) และกระบวนการตะกอนลอย (Dissolved Air Floatation ; DAF) เป็นต้น การบำบัดโดยกระบวนการนี้มีข้อดีคือ ค่าใช้จ่ายในการบำบัดต่ำแต่ประสิทธิภาพในการบำบัดจะยังไม่ดีพอ ทำให้น้ำที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวนั้นต้องผ่านการบำบัดในขั้นตอนอื่นอีกเพื่อให้ได้คุณภาพน้ำทิ้งตามมาตรฐาน โดยของเสียที่เกิดขึ้นจะต้องแยกนำไปกำจัดหรือมีแนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ในขั้นต่อไป ส่วนการบำบัดไขมันและน้ำมันด้วยกระบวนการทางเคมีนั้นเป็นการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในสภาวะที่เป็นกรดและความดันสูง จึงมีประสิทธิภาพสูงในการบำบัดน้ำเสีย แต่จะเกิดสีที่น่ารังเกียจของน้ำทิ้งหลังการบำบัดและเกิดสภาพความเป็นกรดของน้ำ ต้องมีการปรับปรุงคุณภาพน้ำเพื่อให้มีความเหมาะสมก่อนที่จะปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงถือได้ว่ากระบวนการบำบัดทางเคมีนี้มีข้อดีที่ประสิทธิภาพการบำบัดสูง แต่ต้นทุนในการดำเนินการจะสูงกว่ากระบวนการอื่นๆ มาก และสำหรับกระบวนการสุดท้ายในการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันและน้ำมันด้วยวิธีการทางชีวภาพจัดเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพ โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันให้เปลี่ยนรูปเป็นกรดไขมันด้วยเอนไซม์ไลเปส (Lipase) และดูดซึมกลับเข้าภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เพื่อเป็นแหล่งอาหารและพลังงานในการเจริญเติบโต ในปัจจุบันได้มีการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์หลายชนิดทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ สาหร่าย และเชื้อราในการย่อย

สลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย โดยผลพลอยได้ (By products) ภายหลังการบำบัดจะแตกต่างกันตามชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการบำบัด เช่น ชีวมวลของจุลินทรีย์ และก๊าซชีวภาพ เป็นต้น โดยไขมันและน้ำมันที่ลดลงจากการนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์นั้นจะมีผลทำให้ค่าความสกปรกของน้ำเสียลดลง จึงส่งผลให้เกิดการบำบัดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งข้อดีของกระบวนการบำบัดแบบนี้คือ มีต้นทุนในดำเนินการต่ำและประสิทธิภาพในการบำบัดสูง แต่ข้อเสียคือ ต้องมีแนวทางและวิธีการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่เหมาะสมตลอดจนต้องมีการดูแลรักษาระบบบำบัดเป็นอย่างดี

สำหรับงานวิจัยนี้มุ่งสนใจแนวทางการแปรรูปไขมันและน้ำมันในน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหารให้อยู่ในรูปชีวมวลของยีสต์ โดยมีแนวความคิดที่จะใช้ชีวมวลที่ได้ในการเป็นแหล่งอาหารเสริมประเภทโปรตีนและวิตามินของสัตว์เพื่อทดแทนแหล่งอาหารเสริมอื่นๆ ที่มีราคาสูง ซึ่งกระบวนการดังกล่าวหากบรรลุวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้จะเป็นการลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์ควบคู่ไปกับการบำบัดน้ำเสียประเภทไขมันและน้ำมันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการใช้จุลินทรีย์กลุ่มยีสต์ในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหารที่มีไขมันและน้ำมันสูง

1.2.2 เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในเชิงองค์ประกอบของชีวมวลของยีสต์เพื่อนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ในการเป็นอาหารเสริมของสัตว์

1.2.3 เพื่อศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของยีสต์ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสียและการเปลี่ยนรูปเป็นชีวมวล

1.2.4 เพื่อศึกษาแนวทางการสร้างถังปฏิกรณ์ในการผลิตชีวมวลของยีสต์และการศึกษาแบบจำลองทางคอมพิวเตอร์เพื่อนำไปประยุกต์ใช้งานจริง

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ โดยทำการทดลองเลี้ยงเชื้อยีสต์ในขวดเขย่า ทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง ณ ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยในการศึกษาได้กำหนดขอบเขตของการวิจัยไว้ดังนี้

1.3.1 น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำเสียจริงที่มีองค์ประกอบของน้ำมัน ไขมัน และโปรตีนในปริมาณสูง โดยเก็บตัวอย่างจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารประเภทโรงงานปลากระป๋อง ณ บริเวณจุดปล่อยน้ำเสียหลังออกจากถังดักไขมัน

1.3.2 ยีสต์ทดสอบที่ใช้ในการทดลองเป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่ได้จากแหล่งเก็บรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ (Culture collection) ของมหาวิทยาลัยโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น

1.3.3 การวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ปฏิบัติตามวิธีมาตรฐานที่ระบุใน Standards Method for Examination of Water and Wastewater, APHA (1992)

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้สายพันธุ์ยีสต์ที่มีความเหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหาร

1.4.2 ได้ชีวมวลของยีสต์ที่สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ในทางเกษตรกรรม เช่นการใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับการเลี้ยงสัตว์

1.4.3 ได้ค่าจลนพลศาสตร์ของยีสต์ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสียเพื่อเป็นข้อมูลในการออกแบบถังปฏิกรณ์ทางชีวภาพ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้งานจริงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 2

# เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 น้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ

น้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบจะก่อให้เกิดปัญหามลภาวะเช่นเดียวกับน้ำเสียจากแหล่งอื่นๆ โดยจะก่อให้เกิดปัญหาอย่างมากในโรงงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหารและอุตสาหกรรมการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มาจากพืชหรือสัตว์ เช่น โรงงานฆ่าสัตว์ โรงงานนมและเนย โรงงานอาหารแช่แข็ง โรงงานอาหารกระป๋อง และโรงงานน้ำมันพืช เป็นต้น ไขมันและน้ำมันที่เกิดจากกระบวนการผลิตจะถูกรวบรวมมายังบ่อรวมน้ำเสีย ขณะเดียวกันไขมันส่วนหนึ่งที่ตกค้างจะเกิดการสะสมตามท่อส่งน้ำเสีย ทำให้ท่อน้ำเสียอุดตันและเป็นปัญหาในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย ปัจจุบันโรงงานอุตสาหกรรมส่วนใหญ่จำเป็นต้องสร้างบ่อดักไขมันแยกจากบ่อรวมน้ำเสียในระบบแอกติเวดเต็ดสลัดจ์ ซึ่งบ่อดักไขมันจะมีระบบแยกไขมันออกจากน้ำเสียโดยอาศัยหลักความแตกต่างของความหนาแน่นระหว่างน้ำและไขมัน ไขมันจึงลอยมาสะสมเป็นแผ่นบริเวณผิวน้ำและถูกแยกหรือกวาดออกเพื่อนำไปทิ้งได้ แต่อย่างไรก็ดีวิธีการดังกล่าวยังมีประสิทธิภาพต่ำในการกำจัดไขมันที่อยู่ในรูปแขวนลอยซึ่งเจือปนอยู่ในน้ำเสีย ดังนั้นจึงมีการศึกษาเพื่อหาแนวทางการนำหลักการทางชีวภาพมาใช้ในการกำจัดไขมันเหล่านี้เพื่อให้ได้ระบบที่มีความเหมาะสม มีประสิทธิภาพสูงสุด และก่อให้เกิดประโยชน์ทั้งทางด้านเศรษฐศาสตร์และการบำบัดของเสียด้วย

## 2.2 ไขมันและกรดไขมัน

ไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย หมายถึง ไขมัน น้ำมัน ขี้ผึ้ง น้ำมันสบู่จากแร่ธรรมชาติ (Mineral soap oils) และสารพวกที่ไม่ระเหย (Non volatile) อื่นๆ ที่ละลายน้ำและสามารถสกัดได้ด้วยเฮกเซน ในน้ำเสียชุมชนจะมีไขมันและน้ำมันเป็นส่วนประกอบประมาณร้อยละ 10 ของสารอินทรีย์ทั้งหมด โดยมีน้ำมัน ไขมัน ขี้ผึ้ง และกรดไขมันที่มาจากน้ำมันพืช น้ำมันสัตว์ เนย และเนยเทียมเป็นสารหลัก ไขมันและน้ำมันเหล่านี้จะต้องทำการกำจัดออกก่อนที่น้ำเสียจะเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียในขั้นตอนต่อไป โดยน้ำทิ้งภายหลังการบำบัดที่จะปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้จะต้องเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานที่กฎหมายกำหนด นั่นคือไม่เกิน 20 มก./ล. สำหรับอาคารประเภท ก ข ค ง และไม่เกิน 100 มก./ล. สำหรับอาคารประเภท จ (ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์

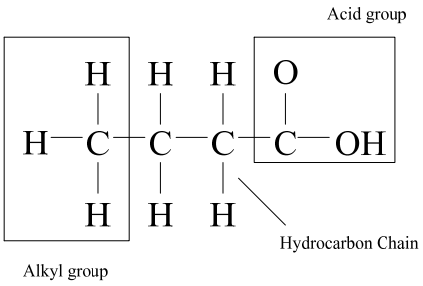
เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2537) และค่ามาตรฐานน้ำทิ้งสำหรับโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรมจะกำหนดเกณฑ์สูงสุดสำหรับไขมันและน้ำมันอยู่ในช่วง 5 - 15 มก./ล. โดยใช้กับประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม (ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2539) ดังตารางแสดงรายละเอียดในภาคผนวก ก.

### 2.2.1 ไขมัน (Fat)

ไขมันเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับกลีเซอรอล เกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซอรอลทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันกับกรดไขมัน หนึ่ง สอง หรือ สามหมู่ ถ้าหมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซอรอลเกิดเอสเทอร์กับกรดไขมันหนึ่งหมู่ เรียกว่า โมโนกลีเซอไรด์ (Monoglyceride) สองหมู่เรียกว่า ไดกลีเซอไรด์ (Diglyceride) และสามหมู่เรียกว่า ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) โดยถ้าไดกลีเซอไรด์หรือไตรกลีเซอไรด์ที่เกิดขึ้นประกอบด้วยกรดไขมันต่างชนิดกันจะเรียกว่า กลีเซอไรด์ผสม (Mixed glyceride) ซึ่งไขมันที่มีสถานะธรรมชาติทั่วไปจะมีโครงสร้างประเภทนี้ ไขมันอาจมีสถานะเป็นของแข็งหรือของเหลวที่อุณหภูมิปกติก็ได้ขึ้นอยู่กับจุดหลอมเหลวของไขมันนั้นๆ ไขมันที่มีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้องนั้นเรียกว่า น้ำมัน (Oils) เช่น น้ำมันมะกอก (Olive oil) และน้ำมันเมล็ดฝ้าย (Cotton seed oil) เป็นต้น (White, 1968) ส่วนไขมันที่มีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิเดียวกันจะเรียกว่า ไขมัน (Fat) โดยโรงงานทำสบู่ได้จำแนกไขมันออกเป็น 2 ประเภทเมื่อทำการวัดอุณหภูมิ ณ จุดที่ไขมันเริ่มแข็งตัว ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 38 องศาเซลเซียส เรียกว่า ไขมันสัตว์ (Tallow) ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 38 องศาเซลเซียส เรียกว่า ไขมันชนิดข้น (Grease) โดยไขมันแต่ละชนิดที่มีจุดหลอมเหลวเท่ากันอาจมีปริมาณกรดไขมันอิสระ สี ความชื้น และสารที่ทำปฏิกิริยากับด่างในปริมาณต่างกัน (พันทิพา พงษ์เพียงจันทร์, 2539)

### 2.2.2 กรดไขมัน (Fatty acid)

กรดไขมันเป็นส่วนประกอบสำคัญของไขมัน โดยทั่วไปจะมีจำนวนคาร์บอนเป็นเลขคู่ตั้งแต่ 4 - 22 อะตอม ไขมันจากสัตว์และพืชจะประกอบด้วยกรดไขมันแตกต่างกัน มีจำนวนคาร์บอนแตกต่างกันหลายชนิด โมเลกุลของกรดไขมันประกอบด้วยสองส่วน คือ ส่วนที่มีขั้วละลายได้ในน้ำ (Hydrophilic group) ได้แก่ หมู่คาร์บอกซิล (-COOH) และส่วนไม่มีขั้วไม่ละลายน้ำ (Hydrophobic group) ได้แก่หมู่อัลคิล (-R) ดังนั้นกรดไขมันจึงมีสูตรทั่วไป คือ R-COOH แสดงดังรูปที่ 2.1




รูปที่ 2.1 โครงสร้างทั่วไปของกรดไขมัน
(ที่มา : British Nutrition Foundation)

สำหรับลักษณะของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบของไขมันพืชและสัตว์ ได้แก่

1) เป็นกรดไขมันที่มีส่วนประกอบเป็นหมู่คาร์บอกซิล 1 หมู่ (Monocarboxylic acid) ส่วนที่เป็นไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon residue) มีโครงสร้างเป็นสายยาวแตกกิ่งหรือเป็นวงแหวน
2) จำนวนคาร์บอนโมเลกุลของกรดไขมันที่พบในธรรมชาติ ส่วนใหญ่มีคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่
3) เป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว

กรดไขมันแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1) กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) คือกรดไขมันที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนเป็นพันธะเดี่ยว ไม่สามารถรับไฮโดรเจนได้อีก กรดไขมันอิ่มตัวทั่วไปมีสูตรคือ $C_nH_{2n}O_2$ เช่น กรดสเตียริก และกรดปาลมิติก เป็นต้น
2) กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) คือกรดไขมันที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนเป็นพันธะคู่ 1 พันธะหรือมากกว่า กรดไขมันประเภทนี้จึงสามารถรับไฮโดรเจนได้อีกและกลายเป็นกรดไขมันอิ่มตัวได้ เช่น กรดปาล์มิโตเลอิก กรดโอเลอิก และกรดลิโลเลนิก เป็นต้น

ไขมันจะประกอบด้วยกรดไขมันหลายชนิดที่มีส่วนประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางฟิสิกส์แตกต่างกัน โดยกรดไขมันที่ปรากฏตามธรรมชาติส่วนใหญ่ประกอบด้วยจำนวนคาร์บอนอะตอมเลขคู่ ถ้าโมเลกุลใหญ่ขึ้นจากการที่มีสายยาวขึ้นจะทำให้จุดหลอมเหลวสูงขึ้น ซึ่งตำแหน่งและจำนวนพันธะคู่มีผลต่อจุดหลอมเหลว ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตำแหน่งและจำนวนพันธะคู่ที่มีผลต่อจุดหลอมเหลวของไขมัน

| จำนวนคาร์บอนอะตอม | กรดไขมัน | จุดหลอมเหลว (องศาเซลเซียส) | แหล่งไขมัน |
|---|---|---|---|
| 4 | บิวทีริก (Butyric) | -5.3 | ไขมันนม |
| 6 | คาร์โพรอิก (Carpoic) | -3.2 | ไขมันนม |
| 8 | คาร์พรีอิก (Carpryic) | 16.5 | ไขมันนมและน้ำมันเมล็ดปาล์ม |
| 10 | คาร์พริก (Carpric) | 31.6 | น้ำนมแกะและน้ำนมแพะ |
| 12 | ลูริก (Lauric) | 44.8 | น้ำมันมะพร้าว |
| 14 | มายริสติก (Myristic) | 54.4 | น้ำมันปาล์มและน้ำมันมะพร้าว |
| 16 | ปาล์มิติก (Palmitic) | 69.2 | ไขมันสัตว์ |
| 18 | สเตียริก (Stearic) | 70.1 | ไขมันสัตว์ |
| 20 | อะแรชชิดิก (Arachidic) | 76.1 | ไขมันสัตว์บางชนิด |
| 22 | เบเฮนิก (Behenic) | 80.0 | น้ำมันจากเมล็ดพืช |
| 24 | ลิกโนเซอริก (Lignoceric) | 84.2 | น้ำมันจากเมล็ดพืช |
| 26 | เซอโรติก (Cerotic) | 87.8 | ไขมันพืช |
| 28 | มอนตานิก (Montanic) | 90.9 | ไขมันพืช |
| 30 | เมลิสสิก (Melissic) | 93.6 | ไขมันพืช |

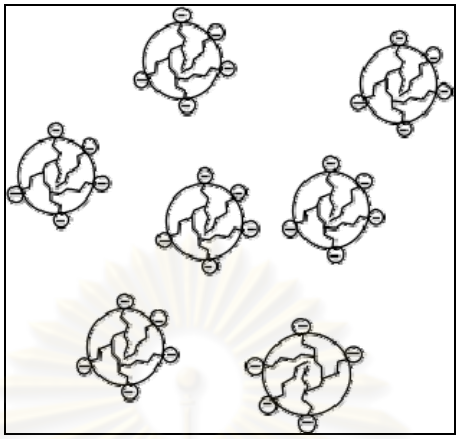
ที่มา : Johnson และ Peterson (1974)

### 2.2.3 สภาพทางกายภาพของไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย

โดยไขมันและน้ำมันจะปะปนอยู่ในน้ำเสียในรูปต่างๆ คือ

1) สารแขวนลอย (Suspended fat or oil) มีเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคประมาณ $10^{-3}$ ซม. บางครั้งจะเรียกว่า Catchable fat ซึ่งแยกส่วนออกจากน้ำได้อย่างชัดเจน โดยลอยอยู่บริเวณผิวหน้าน้ำ
2) อีมัลชัน (Emulsified fat or oil) หมายถึง ไขมันที่อยู่ใน Heterogeneous system คืออนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ $10^{-5}$ ซม. ที่กระจายอยู่ในน้ำ โดยลักษณะของไขมันที่เป็นอีมัลชันนั้นประกอบไปด้วย 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ไม่มีขั้วซึ่งมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) จะหันเข้าหากัน และส่วนมีขั้วซึ่งชอบน้ำ (Hydrophilic) จะหันออกสู่ด้านนอกและมีประจุลบอยู่รอบๆ อนุภาค แสดงดังรูปที่ 2.2 ไขมันในรูปนี้จะละลายน้ำได้บางส่วน

3) สารละลาย (Dissolved fat or oil) เป็นพวกกรดไขมันซึ่งประกอบด้วย Oleophilic hydrocarbon chain และ Hydrophilic head group ทำให้ละลายอยู่ในน้ำได้



รูปที่ 2.2 ลักษณะทางกายภาพของไขมันและน้ำมันในสภาพที่เป็นอีมัลชัน
(ที่มา : Chemical Diagram)

โดยส่วนใหญ่แล้วรูปแบบของไขมันและน้ำมันที่พบทั่วไปตามธรรมชาติจะอยู่ในสภาพของสารแขวนลอยเนื่องจากธรรมชาติของไขมันและน้ำมันมีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำ หากมีการเติมอิมัลซิฟายเออร์ซึ่งเป็นสารในกลุ่มที่ช่วยลดแรงตึงผิวเช่น น้ำยาล้างจาน ผงซักฟอก จะทำให้ไขมันและน้ำมันอยู่ในรูปของสารที่เป็นอิมัลชันซึ่งบำบัดได้ยากขึ้น โดยรูปแบบของไขมันและน้ำมันต่างๆ ที่พบนี้จะมีความสำคัญต่อการเลือกแนวทางการบำบัดที่เหมาะสม การกำจัดไขมันและน้ำมันด้วยวิธีการต่างๆ ดังจะได้กล่าวในหัวข้อต่อไป

### 2.2.4 วิธีการกำจัดไขมันและน้ำมันออกจากน้ำเสีย

การกำจัดไขมันและน้ำมันโดยการแยกออกจากน้ำเสียนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ วิธีการทางกายภาพ วิธีการทางเคมี และวิธีการทางชีวภาพ ซึ่งการที่จะเลือกวิธีใดนั้นขึ้นกับองค์ประกอบหลายๆ ประการ เช่น ปริมาณ สภาพ และชนิดของไขมันและน้ำมัน เป็นต้น

#### 2.2.4.1 วิธีการทางกายภาพ (Physical method)

เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมใช้กันมากและแพร่หลาย เนื่องจากทำได้รวดเร็ว ค่าใช้จ่ายในการดำเนินการต่ำและกระบวนการไม่ซับซ้อน แต่ทั้งนี้จะขึ้นกับคุณสมบัติทางด้านกายภาพของไขมันและน้ำมันซึ่งแตกต่างกันไปตามแหล่งกำเนิดและขนาดโมเลกุล โดยไขมันชนิดที่มีโมเลกุลใหญ่ระยะเวลาเก็บกักน้อยจะสามารถแยกชั้นได้รวดเร็ว อาจใช้ถังดักไขมัน

และน้ำมันในการกำจัด แต่ถ้าอยู่ในรูปโมเลกุลขนาดเล็ก เช่นคอลลอยด์หรืออีมัลชัน ซึ่งโมเลกุลมีขนาดใกล้เคียงกับโมเลกุลของน้ำหรือเล็กกว่าทำให้แยกออกมาได้ยาก จึงต้องใช้กรรมวิธีอื่น เช่น วิธีการใช้อากาศเป่าลงไปในน้ำเสีย (Air floatation) ซึ่งเป็นวิธีทางกายภาพอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ได้กับไขมันและน้ำมันทุกชนิด โดยเฉพาะที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและความหนาแน่นน้อย การเป่าอากาศลงไปในน้ำเสียจะเป็นการแยกน้ำมันออกจากน้ำโดยอัดอากาศให้เป็นฟองขนาดเล็กๆ ฟองเหล่านี้จะเป็นตัวช่วยยก พา และแยกโมเลกุลของไขมันและน้ำมันออกจากน้ำเสีย (วิทยา อยู่สุข, 2537)

**2.2.4.2 วิธีการทางเคมี (Chemical method)**

สามารถทำได้โดยการเติมสารเคมี เช่น คลอรีน ในถังตกตะกอนแรกหรือถังเติมอากาศโดยมีความเข้มข้นทั่วไป 2 - 5 มก./ล. แต่วิธีนี้มักไม่ค่อยได้รับความนิยมเพราะจะก่อให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในระบบ และยังไม่เหมาะกับระบบบำบัดน้ำเสียแบบเลี้ยงตะกอนเพราะสารเคมีจะไปทำลายจุลินทรีย์ในระบบ

**2.2.4.3 วิธีการทางชีวภาพ (Biological method)**

เป็นการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมัน เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการเจริญเติบโต โดยวิธีการนี้สามารถทำได้ 2 วิธีคือ

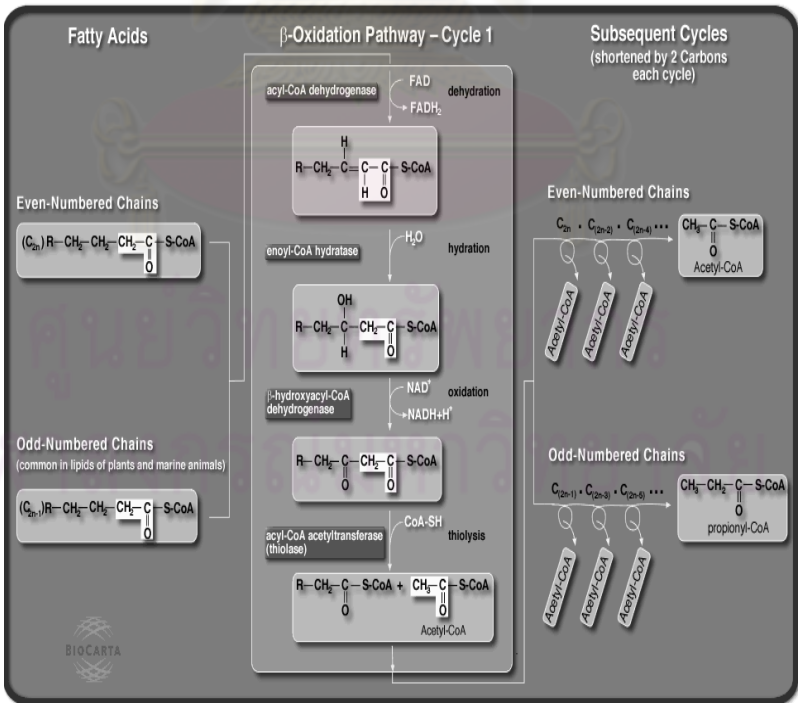
*1) การสลายโดยวิธีธรรมชาติ (Biodegradation)* เป็นกระบวนการที่ใช้จุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติ เช่น ยีสต์ รา แอคทิโนมัยซิส และแบคทีเรีย ช่วยในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันและนำเอาไปใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึมของตัวมันเอง ซึ่งกระบวนการนี้จะเป็นไปอย่างช้าๆ และใช้เวลานานกว่าจะกำจัดหมดได้ แต่จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยหรือแทบไม่เกิดเลย (สมรัตน์ ยินดีพิธ, 2533)

*2) การเร่งธรรมชาติ (Bioremediation)* ทำได้ 2 วิธี ดังนี้

- การเติมธาตุอาหาร (Nutrient enrichment or Fertilization) เช่น การเติมไนโตรเจนและฟอสฟอรัสลงในน้ำที่มีไขมันและน้ำมันเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไขมันและน้ำมันที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติให้มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในการใช้สารอาหารหรือการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยในการทำงานอาจประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิดร่วมกันทำงานก็ได้ จุลินทรีย์บางชนิดจะเริ่มทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ซับซ้อนก่อน จากนั้นจะมีชนิดอื่นๆ มาทำการย่อยสลายส่วนที่เหลือ หรืออาจจะเป็นการนำเอาผลหรือของเสียที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ มาทำการย่อยสลายต่อจนเป็นสารที่ไม่สามารถย่อยสลายต่อไปได้อีก

- การเติมเชื้อจุลินทรีย์ (Seeding) เป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไขมันและน้ำมันให้มากขึ้น โดยใช้จุลินทรีย์ที่เติมลงไปแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ เชื้อที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติและผ่านการคัดเลือกแยกออกมา กับเชื้อที่ได้รับการปรับปรุงสายพันธุ์แล้ว (จิราภรณ์ สุขุมาวาสี, 2536)

สำหรับกลไกการย่อยสลายไขมันและน้ำมันของจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์นั้น จะเริ่มจากการผลิตเอนไซม์ไลเปสภายในเซลล์และขับออกมาภายนอกเพื่อให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับไขมันน้ำมัน โดยหากการย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ กลีเซอรอล และกรดไขมัน ซึ่งกรดไขมันที่เกิดขึ้นจะถูกใช้โดยจุลินทรีย์และนำเข้าสู่กระบวนการย่อยสลายภายในเซลล์ผ่านวิถีเบต้า-ออกซิเดชัน (β-oxidation) จนกระทั่งได้อะซิทิลโคเอ (Acetyl CoA) ที่สามารถเข้าสู่วัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิกแอซิด (Tricarboxylic acid cycle) และถูกย่อยสลายต่อได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ส่วนกลีเซอรอลจะถูกเติมหมู่ฟอสเฟตและออกซิไดส์เป็นไดไฮดรอกซีอะซีโตนฟอสเฟต (Dihydroxy acetone phosphate) และเปลี่ยนแปลงต่อไปอีกไอโซเมอร์หนึ่งคือ กลีเซอราลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต (Glyceroldehyde-3-phosphate) ซึ่งเป็นตัวกลางของวิถีไกลโคไลซีส ดังนั้นกลีเซอรอลจึงถูกเปลี่ยนเป็นไพรูเวต (Piruvate) และเข้าสู่วัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิกแอซิดได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์เช่นกัน (อาภัสรา ชมิดท์ , 2543 และ Campbell, 1992)




รูปที่ 2.3 วิถีเบต้าออกซิเดชันของการย่อยสลายกรดไขมันและน้ำมันโดยยีสต์
(ที่มา : Biocarta)

**2.3 ชีวมวลของจุลินทรีย์**

จากการเพิ่มขึ้นของประชากรโลกอย่างรวดเร็วนำมาสู่ความสำคัญของปัญหาการขาดแคลนอาหารประเภทโปรตีน จะเห็นได้ว่าในปี ค.ศ. 2000 มีประชากรโลกเพิ่มขึ้นถึง 6.5 พันล้านคน ซึ่งประชากรส่วนใหญ่อยู่ในประเทศที่ยากจนทำให้เกิดความอดอยากขึ้น ในปี ค.ศ. 1985 องค์การอนามัยโลกรายงานว่า ประชากรมากกว่า 1.1 พันล้านคนอดอยากและและขาดแคลนอาหารประเภทโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งประชากรในกลุ่มประเทศโลกที่ 3 ปัจจุบันพบว่ามาตรฐานการผลิตอาหารทั่วโลกอยู่ในระดับที่ต่ำ ควรมีการผลิตเพิ่มขึ้นอีก 1.5 เท่าจึงจะพอเพียงกับความต้องการอาหารของประชากรทั่วโลก และอีก 2.5 เท่าเพื่อให้เพียงพอกับการใช้เป็นอาหารสัตว์ แสดงดังในตารางที่ 2.2 แต่อย่างไรก็ดีพบว่าผลผลิตมวลรวมทั้งหมดส่วนใหญ่มาจากประเทศกำลังพัฒนา (United Nation, 1977 อ้างถึงใน Senez, 1987)

ตารางที่ 2.2 การคาดหมายความต้องการโปรตีนของประชากรโลก

| | **ค.ศ. 1980** | **ค.ศ. 2000** | **ปัจจัยเพิ่มขึ้น** |
|---|---|---|---|
| แนวโน้มจำนวนประชากรโลกทางสถิติ (ล้านคน) | 4,400 | 64,05 | 1.46 |
| ผลผลิตมวลรวม (ดอลลาร์สหรัฐ) | 1,165 | 2,071 | 1.78 |
| ความต้องการโปรตีน | | | |
| - สำหรับมนุษย์ | 48.6 | 78.4 | 1.61 |
| - สำหรับสัตว์ | 43.1 | 106.3 | 2.47 |

ที่มา : United Nations, 1977 (อ้างถึงใน Senez, 1987)

Bhatacharjee (1970) รายงานว่าโปรตีนอาจได้จากชีวมวลของจุลินทรีย์ทั้งสาหร่าย รา แบคทีเรีย และยีสต์ โดยคุณสมบัติและข้อดีของชีวมวลจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตเป็นโปรตีนสามารถรวบรวมได้ ดังนี้

1) เติบโตได้เร็วในอาหารที่มีราคาถูกและเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น
2) เติบโตได้ดีในอาหารที่มีส่วนประกอบง่ายๆ มีความต้องการวิตามินและสารสำหรับการเจริญเติบโต (Growth factor) ต่างๆ น้อย หรือไม่ต้องการเลย
3) คงลักษณะทางพันธุกรรมได้ดี ไม่กลายพันธุ์ง่ายเมื่อเลี้ยงติดต่อกันเป็นเวลานาน
4) การแยกและเก็บเกี่ยวเซลล์ทดแทนสามารถทำได้โดยวิธีการเหวี่ยงตกตะกอน หรือตกตะกอนเพื่อนำไปใช้ประโยชน์

5) มีความต้านทานต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ
6) ทราบคุณสมบัติทางพันธุกรรม สรีรวิทยา และสามารถปรับปรุงทางด้านพันธุกรรมได้
7) ใช้แหล่งพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ
8) หลังจากผ่านกระบวนการเพาะเลี้ยงแล้ว มีวัสดุเหลือทิ้งน้อยหรือไม่มีเลย
9) ไม่เป็นพิษ
10) ให้ปริมาณโปรตีนสูง โดยเฉพาะโปรตีนต้องมีกรดอะมิโนที่มีคุณค่า
11) เก็บรักษาได้ง่าย เช่น การทำให้แห้ง

ถึงแม้ว่าการผลิตโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์จะเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่มีข้อดีหลายประการ แต่การผลิตโปรตีนด้วยวิธีนี้จะต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ ในการผลิตสูงมาก รวมทั้งต้องมีบุคลากรในการผลิตและการควบคุม ตลอดจนอุปกรณ์ที่ใช้มีราคาสูง ดังนั้นในการผลิตโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์จึงต้องมีการศึกษาในแง่เศรษฐศาสตร์ควบคู่ไปด้วยเช่นเดียวกับการลงทุนอื่นๆ โดยถ้าพิจาณาถึงผลระยะยาวจะเห็นได้ว่าการผลิตโปรตีนจากมวลชีวภาพของจุลินทรีย์จะได้ผลตอบแทนที่คุ้มค่า แต่ต้องดำเนินการโดยใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสม (ดวงพร คันธโชติ, 2530)

ในการผลิตโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์ต้องการเซลล์ที่มีองค์ประกอบของโปรตีนสูง ส่วนคาร์โบไฮเดรต กรดนิวคลิอิค และไขมันต้องมีปริมาณที่ต่ำ เพื่อให้สามารถแข่งขันกับโปรตีนจากพืชหรือปลาป่นได้ มีกลิ่นรสดี และที่สำคัญต้องมีกรดอะมิโนที่จำเป็นได้แก่ ไลซีน เมไธโอนีน และทริปโตเฟน ในปริมาณสูง โดยส่วนประกอบทางเคมีของเซลล์เหล่านี้นอกจากจะขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์แล้ว โดยทั่วไปจะขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะในการเติบโตด้วย ตัวอย่างเช่น สัดส่วนของโปรตีนต่อไขมันจะเป็นผลจากสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ้าไนโตรเจนน้อยจะเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโต ไขมันจึงสะสมอยู่ภายในเซลล์ ซึ่งโดยทั่วไปโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์มักขาดกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจากการเปรียบเทียบพบว่าแบคทีเรียมีแนวโน้มผลิตเมไธโอนีนได้มากกว่ายีสต์ แต่ยีสต์มีไลซีนมากกว่าโปรตีนในข้าวสาลี จึงมีการเติมกรดอะมิโนจำเป็นบ้างในการผลิตชีวมวลของจุลินทรีย์บางชนิด สำหรับวิตามินพบว่าส่วนใหญ่ที่ได้จากจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์คือ วิตามินบี ยกเว้น บี 12 ที่ได้จากแบคทีเรีย (Scrimshaw และ Young, 1979)

## 2.4 ประเภทของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตชีวมวล

### 2.4.1 สาหร่าย

สาหร่ายดำรงชีวิตโดยใช้พลังงานในการรีดิวซ์สารอนินทรีย์ให้เป็นสารอินทรีย์ ข้อดีของสาหร่ายคือมีปริมาณโปรตีนสูงถึงประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง เป็นโปรตีนที่มีคุณภาพ อุดมด้วยวิตามินซี และวิตามินบีรวม แต่มีข้อเสียคือ อัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ และถ้าเลี้ยงในถังหมักมักมีปัญหาการให้คาร์บอนไดออกไซด์และแสงแก่สาหร่าย สาหร่ายที่ได้รับความสนใจในการเป็นแหล่งอาหารประเภทโปรตีนได้แก่ *Chlorella sp., Scenedesmus sp., Coelastrum sp., Uronema sp.* และ *Dunaliella sp.* โดยเฉพาะ *Spirulina maxima* ชาวพื้นเมืองแอฟริกาและบางส่วนของเม็กซิโกใช้ผสมอาหารเนื่องจากสาหร่ายสายพันธุ์นี้มีกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ และมีกรดนิวคลิอิกภายในเซลล์ต่ำ (Reed และ Nagodawithana, 1995)

สำหรับราคาในการผลิต เช่น การผลิตสาหร่าย *Chlorella sp.* มีการศึกษาพบว่าราคาประมาณ 20 - 50 เซนต์ต่อปอนด์ ซึ่งเป็นราคาที่สูง แต่ถ้าเลี้ยงในน้ำเสียจะมีราคาประมาณ 3 - 6 เซนต์ต่อปอนด์ (Udall และคณะ, 1984) สำหรับประเทศไทยบริษัทสยามแอลจีทำการผลิต *Spirulina sp.* แล้วส่งไปขายยังประเทศญี่ปุ่นเพื่อจำหน่ายเป็นอาหารบำรุงสุขภาพและอาหารเสริมในอาหารสัตว์ ส่วนการเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียเป็นการกำจัดความสกปรกในน้ำเสียโดยได้เซลล์ของสาหร่ายมาเป็นแหล่งอาหารสัตว์ ใช้ทำปุ๋ย หรือใช้หมักแก๊สชีวภาพ (ดวงพร คันธโชติ, 2530)

### 2.4.2 รา

ราที่ใช้เป็นแหล่งอาหารของมนุษย์มานานก็คือ เห็ด ซึ่งเป็นโปรตีนที่มนุษย์สามารถบริโภคได้โดยตรง เช่น *Agaricus campestris* ถูกใช้เป็นอาหารแถวยุโรป ส่วนประเทศจีนนิยมบริโภคเห็ด *Cortinellus berkelyanus* ในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 ประเทศเยอรมันได้เลี้ยงราพวก *Geotrichum candidum* เป็นอาหารเสริมสำหรับมนุษย์ (Goldberg, 1985) การใช้ราในการผลิตโปรตีนจำเป็นต้องเสริมด้วยเมไธโอนีน กรดกลูตามิก วิตามินบี 2 และวิตามินบี 12 ทั้งนี้เพราะรามีกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ มีกรดนิวคลีอิกและวิตามินบีรวมต่ำ ส่วนข้อดีของราคือราเป็นที่ยอมรับได้ง่าย ตลอดจนมีคุณค่าทางอาหารใกล้เคียงกับยีสต์ แต่อัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่ายีสต์และแบคทีเรีย และมีปัญหาในการเลี้ยงเนื่องจากเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวเส้นใยราจะอยู่ในสภาพเป็นกลุ่มก้อน (Pellet) ทำให้เกิดปัญหาในการให้ออกซิเจนแก่เซลล์

ราที่มีแนวโน้มว่าสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนคือ ราในกลุ่ม Imperfect fungi เพราะว่ามีอัตราการเติบโตดีและสามารถใช้วัสดุต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอนได้ เช่น

มันฝรั่ง ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง กากน้ำตาล เยื่อกระดาษ และของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร ส่วนแหล่งของไนโตรเจนคือเกลืออนินทรีย์ สำหรับ *Fusarium sp.* และ *Rhizopus sp.* เหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนเพราะมีซีสตินและเมไธโอนีนในปริมาณที่สูง โดยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงด้วยถังหมัก 2 ถังจะผลิตเส้นใยแห้งได้ 1.5 - 16.5 ตันต่อถังต่อวัน เมื่อทำการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการกรองจะได้ผลผลิตประมาณ 0.55 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมอาหาร และมีโปรตีนร้อยละ 52 - 57 จึงเหมาะสำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์ (Singh และคณะ, 1991)

### 2.4.3 แบคทีเรีย

ปัจจุบันการใช้แบคทีเรียเป็นแหล่งอาหารโปรตีนเป็นที่น่าสนใจมากขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียมีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น คือ 20 - 30 นาที ขณะที่ยีสต์หรือรามีอัตราการเจริญเติบโตถึง 2 - 3 ชั่วโมง และ 4 - 16 ชั่วโมงตามลำดับ มีปริมาณโปรตีนที่สูง ซึ่งโปรตีนในแบคทีเรียแต่ละชนิดมีปริมาณแตกต่างกันตั้งแต่ร้อยละ 47 - 87 ขณะที่โปรตีนจากสาหร่าย รา และยีสต์มีประมาณร้อยละ 40 40 และ 50 ตามลำดับ แบคทีเรียมีกรดอะมิโนจำเป็นคือ เมไธโอนีน ทริปโตเฟน และซิสติน การปรับปรุงสายพันธุ์ของแบคทีเรียทำได้ง่ายเพื่อนำมาใช้ทางอุตสาหกรรม แต่มีข้อเสียคือมีกรดนิวคลีอิกภายในเซลล์ค่อนข้างสูงคือร้อยละ 10 - 16 (ดวงพร คันธโชติ, 2530) แบคทีเรียที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีนในระดับอุตสาหกรรมที่พบมากใช้เมธานอลเป็นสารอาหาร เช่น บริษัท Imperial Chemical Industries ทำการผลิต *Methylophilus methylotrophus* โดยผลิตแบบต่อเนื่องได้ผลผลิต 30 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อลิตร (Reed และ Nagodawithana, 1985)

### 2.4.4 ยีสต์

ยีสต์มีความเหมาะสมที่สุดในบรรดาจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีนและใช้กันแพร่หลายมาตั้งแต่สมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 เนื่องจากปัญหาขาดแคลนแหล่งอาหารโปรตีน ยีสต์ที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายคือ *Candida utilis, Rhodotorula gracilis, Saccharomyces cerevisiae Saccharomyces carlsbergenesis, Candida tropicalis* และ *Trichosporon pullulans* โดยทั่วไปเซลล์ยีสต์ประกอบด้วยโปรตีน 45 - 50 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง คาร์โบไฮเดรต 22 - 23 เปอร์เซนต์ ไขมันประมาณร้อยละ 2 - 3 และเกลือแร่ประมาณร้อยละ 6 - 8 โดยส่วนมากเป็นโพแทสเซียมและฟอสฟอรัส อาจพบแคลเซียม แมกนีเซียม ซิลิคอน เหล็ก และตะกั่วบ้างเล็กน้อย (Boze และคณะ, 1992) โดยคุณค่าทางอาหารของเซลล์ยีสต์ยังขึ้นกับชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนหลายชนิด และพบว่ากรดอะมิโนในยีสต์แต่ละชนิดแตกต่างกัน นอกจากนั้นเซลล์ยีสต์ยังประกอบด้วยวิตามินต่างๆ เช่น ไธอะมีน ไรโบเฟลวิน กรดนิโคตินิก กรดแพนโตเธนิก ไพริดอกซิน และไบโอติน เป็นต้น

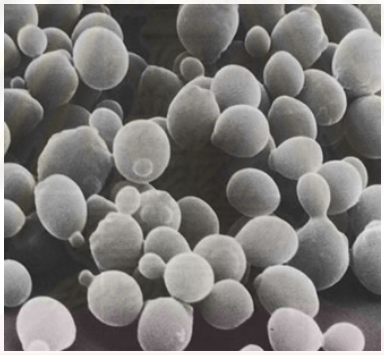
**2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับยีสต์** (สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ, 2549)

ยีสต์ คือ จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มนุษย์รู้จักและนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางเป็นเวลานานมาแล้ว ถึงกับมีผู้กล่าวไว้ว่ายีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดแรกที่มนุษย์นำมาใช้ประโยชน์ โดยนำมาใช้ในการผลิตเบียร์ชนิดหนึ่งที่เรียกว่า Boozah เมื่อประมาณ 6,000 ปีก่อนคริสต์ศักราช ปัจจุบันได้มีการนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในหลายๆ ด้าน ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและเภสัชกรรม การแพทย์ การเกษตร และสิ่งแวดล้อม การใช้ประโยชน์ของเซลล์ยีสต์ในอุตสาหกรรมอาหารจึงนับว่ามีบทบาทที่สำคัญเป็นอย่างมากและสามารถสร้างมูลค่าเพิ่มให้เซลล์ยีสต์ได้อย่างคุ้มค่า ตัวอย่างเช่น การผลิตยีสต์สกัด (Yeast Extract หรือ Autolysed Yeast Extract หรือ Yeast Autolysate) สำหรับใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสคล้ายเนื้อสัตว์ สารให้กลิ่น และสารเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ โดยยีสต์สกัดที่ได้นี้ถือว่าเป็นสารธรรมชาติที่สามารถใช้ผสมในอาหาร ซึ่งได้รับการตรวจสอบจากองค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration ; FDA) และยังเป็นที่ยอมรับโดยทั่วกันว่าปลอดภัย (GRAS ; General Recognized as Safe) นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ (อาทิ เบียร์ ไวน์ และวิสกี้) การผลิตเอทานอลสำหรับใช้เป็นสารเคมีและเชื้อเพลิง หรือแม้กระทั่งการผลิตเซลล์ยีสต์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเบเกอรี สำหรับประเทศไทยพบว่ามีการใช้ประโยชน์จากยีสต์เพื่อการผลิตอาหารซึ่งถือว่าเป็นภูมิปัญญาระดับท้องถิ่น เช่น การทำข้าวหมาก สาโท หรือกระแช่ เป็นต้น

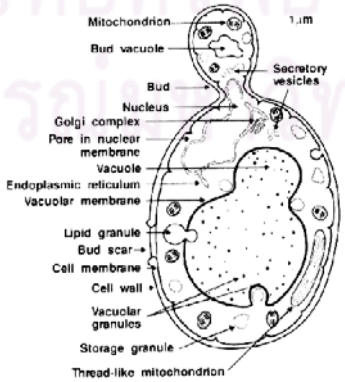
ยีสต์จัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มของราชนิดหนึ่งที่มีการดำรงชีวิตเป็นเซลล์แบบเดี่ยว มีหลายรูปร่าง เช่น รูปร่างกลม ทรงรี สามเหลี่ยม รูปร่างคล้ายผลมะนาวแถบประเทศตะวันตก (Lemon) และรูปร่างยาว เป็นต้น ยีสต์จะมีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศโดยวิธีการแตกหน่อ (Budding) หรือแบบอาศัยเพศโดยวิธีการสร้างสปอร์ชนิดแอสโคสปอร์ (Ascospore) หรือแบสิดิโอสปอร์ (Basidiospore) ยีสต์ส่วนใหญ่จะมีการใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงานและเป็นแหล่งคาร์บอน มนุษย์รู้จักนำยีสต์มาใช้ประโยชน์มากในกระบวนการหมัก (Fermentation) อย่างแพร่หลาย โดยเซลล์ยีสต์จะมีการเจริญเติบโตและแพร่ขยายจำนวนอย่างรวดเร็วภายใต้สภาวะต่างๆ เช่น อาหาร อุณหภูมิ และปัจจัยแวดล้อมในกระบวนการหมักที่เหมาะสม ด้วยการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และแอลกอฮอล์ เซลล์ยีสต์สามารถพบได้มากมายในธรรมชาติ เช่น ในน้ำ ดิน พืช หรือแม้กระทั่งในอากาศ นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์บางชนิดจะอยู่รวมกับแมลงหรือในกระเพาะของสัตว์บางชนิด แหล่งที่มักพบเชื้อยีสต์เจริญปะปนอยู่บ่อยๆ คือ แหล่งที่มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลสูง เช่น น้ำผลไม้ น้ำผึ้ง และผลไม้ที่มีรสหวาน นอกจากนี้ยังสามารถพบยีสต์เจริญได้ในเมล็ดธัญพืช หญ้าฟาง หรือแม้กระทั่งอาหารสัตว์ การปนเปื้อนของเชื้อยีสต์ในอาหารเหล่านี้อาจจะก่อให้เกิดสาเหตุการเน่าเสียของอาหารอีกด้วย

อย่างไรก็ตามมียีสต์หลายสายพันธุ์ที่ได้ทำการพิสูจน์และศึกษาค้นคว้าวิจัยว่ามีประโยชน์ต่อมนุษย์ แต่ยีสต์ที่นำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรมมีเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้น เช่น *Saccharomyces, Candida* และ *Yarrowia* เป็นต้น

ลักษณะทั่วไปของเซลล์ยีสต์มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว ซึ่งมีรูปร่างเป็นไข่ค่อนข้างกลม ไม่มีสี ทั้งนี้หากอายุของเซลล์ยีสต์ยังไม่มากจะพบเซลล์ที่กำลังแตกหน่อ แสดงดังรูปที่ 2.4 โดยจะมีความกว้างของเซลล์ประมาณ 2.5 - 10.5 ไมครอน และมีความยาวประมาณ 4.5 - 21 ไมครอน ซึ่งเซลล์ยีสต์ 1 เซลล์จะมีปริมาตรประมาณ 40 ลูกบาศก์ไมครอน มีน้ำหนักแห้งโดยเฉลี่ยประมาณ $1 \times 10^{-10}$ กรัม อย่างไรก็ตามขนาดของเซลล์ยีสต์ยังขึ้นอยู่กับการเจริญเติบโตอีกด้วย โดยทั่วไปเราสามารถแบ่งส่วนประกอบของเซลล์ยีสต์ออกเป็นส่วนหลักๆ ได้แก่ ส่วนที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มเซลล์และเป็นโครงสร้างเซลล์กับส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์ คือ นิวเคลียสและไซโตพลาสซึม ที่ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน วิตามิน แร่ธาตุชนิดต่างๆ และกรดนิวคลีอิคเป็นองค์ประกอบ แสดงดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.4 ลักษณะรูปร่างของเซลล์ยีสต์
(ที่มา : สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ, 2549)




รูปที่ 2.5 เซลล์ยีสต์และองค์ประกอบต่างๆ ภายใน
(ที่มา : สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ , 2549)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 2.6 วัตถุดิบในการผลิตชีวมวลของยีสต์

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตชีวมวลของยีสต์ควรเป็นแหล่งอาหารและพลังงานที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของยีสต์ โดยพบว่าวัตถุดิบที่ได้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรม ซึ่งมีปริมาณมากและก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานที่สำคัญสำหรับยีสต์ได้ เนื่องจากวัสดุเหลือใช้ส่วนใหญ่เหล่านี้มีองค์ประกอบของสารอินทรีย์สูง โดยเป็นที่ยอมรับของนักเทคโนโลยีชีวภาพว่าการแปรรูปสารอินทรีย์และอื่นๆ ในวัสดุเหลือใช้ที่มีประโยชน์และมีราคาถูกโดยใช้จุลินทรีย์เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งการแปรรูปเป็นเซลล์จุลินทรีย์ที่มีโปรตีนและคุณค่าทางอาหารอื่นๆ สูง ซึ่งเหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์หรืออาหารเสริมให้สัตว์ (Goldberg, 1995) สำหรับวัสดุเหลือใช้ทางธรรมชาติมีหลายประเภทที่นำมาใช้ในการผลิตชีวมวลของยีสต์ได้ ส่วนใหญ่เป็นวัสดุประเภทคาร์โบไฮเดรตที่สามารถแยกออกเป็นแซคคาไรด์ (Saccaride) และโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) ควรมีสารอาหารที่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์โดยอยู่ในรูปที่ง่ายต่อการนำไปใช้ พบว่าวัตถุดิบเหลือใช้ประเภทโพลีแซคคาไรด์ต้องผ่านกระบวนการปรับปรุง (Pre-treatment) ก่อนนำไปใช้ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น โดย Gaden (1974) ได้แบ่งวัตถุดิบในการผลิตชีวมวลของยีสต์ออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ ไฮโดรคาร์บอน และคาร์โบไฮเดรต

#### 2.6.1 ไฮโดรคาร์บอน

มีทั้งที่อยู่ในสภาพเป็นของเหลว เช่น เมทานอล เอทานอล พาราฟิน และไฮโดรคาร์บอนในสถานภาพก๊าซ เช่น มีเทน บิวเทน โพรเพน และอีเทน เป็นต้น จุดเริ่มต้นของการใช้สารประกอบนี้ได้มีการสนใจใช้สารประกอบอัลเคนของปิโตรเลียมเป็นวัตถุดิบ เพราะว่ามีปริมาณมาก ราคาถูก ความบริสุทธิ์สูง แต่ในช่วงนั้นอยู่ในภาวะวิกฤตน้ำมันทำให้ความสนใจในการนำสารพวกนี้มาเป็นวัตถุดิบในการผลิตชีวมวลเปลี่ยนไป สำหรับยีสต์ที่นำมาใช้ในการผลิตชีวมวลโดยใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งอาหาร ได้แก่ *Candida utilis, Candida tropicalis* และ *Candida lipolytica* โดยได้มีการศึกษาความเป็นพิษของชีวมวลของยีสต์เมื่อใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งอาหาร พบว่าองค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์มีสารพวกโลหะหนักรวมทั้งสารโพลีไซคลิก (Polycyclic) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งสะสมอยู่ทำให้สารไฮรโดรคาร์บอนไม่ได้รับความนิยมในการผลิตชีวมวลของยีสต์

#### 2.6.2 คาร์โบไฮเดรต

ได้แก่ น้ำตาล แป้ง เซลลูโลส รวมทั้งของเหลือใช้ทางเกษตรและอุตสาหกรรม พบว่านิยมนำกากน้ำตาลและน้ำเสียจากโรงงานทำกระดาษมาเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงยีสต์ (Synder, 1970) สำหรับกากน้ำตาลเป็นของเหลือจากโรงงานน้ำตาล โดยเป็นส่วนที่ไม่ตกผลึกของน้ำอ้อยเมื่อ

นำไปเคี่ยวทำน้ำตาล ซึ่งกากน้ำตาลที่นิยมใช้ในการผลิตชีวมวลของยีสต์มี 2 ประเภท คือ กากน้ำตาลจากอ้อยและกากน้ำตาลจากหัวบีท นิยมนำมาเป็นแหล่งอาหารในการเลี้ยงยีสต์ *Candida utilis* สำหรับผลิตโปรตีนจากชีวมวลของยีสต์ และ *Saccharomyces cerevisiae* สำหรับใช้เป็นแหล่งอาหารในการผลิตเอทานอลและยีสต์อบขนม (Bakery yeast) ส่วนน้ำเสียจากโรงงานทำกระดาษมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบร้อยละ 15 - 22 ซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลเฮกโซส ซึ่งนิยมนำมาใช้เลี้ยงยีสต์ *Candida utilis* และโดยเฉพาะในยุโรปนิยมเลี้ยงยีสต์ *Candida tropicalis* เพื่อใช้ประโยชน์ในการเป็นอาหารทดแทนประเภทโปรตีน เพื่อแก้ปัญหาเรื่องการขาดแคลนอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

### 2.7 การผลิตชีวมวลของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ

โดยกระบวนการผลิตจำเป็นต้องอาศัยสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมได้แก่ สภาวะในการเลี้ยงเชื้อ ลักษณะทางสรีรวิทยาของยีสต์ ปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปส และปัจจัยต่างๆ ทางกายภาพของระบบหมัก ไขมันที่ใช้เป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับควรอยู่ในรูปของเหลว (Aqueous phase) ซึ่งจะทำให้ยีสต์สัมผัสกับไขมันได้ทั่วถึง โดยหากอยู่ในรูปของแข็งจะยากต่อการย่อยสลายและกำจัด ดังนั้นไขมันที่อยู่ในรูปของแข็งจึงไม่นิยมในการนำมาใช้ผลิตชีวมวลของยีสต์ (Koh และคณะ, 1983) โดย Hottinger และคณะ (1974) รายงานว่าการเลี้ยงเชื้อในขวดเขย่าที่อัตราเขย่าสูงๆ ทำให้ไขมันแพร่กระจายในน้ำทิ้งได้ดี โดยควรใช้น้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณที่น้อยเมื่อเทียบกับปริมาตรขวดเขย่าและสัดส่วนความเข้มข้นของไขมันที่เหมาะสม ในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจต้องมีการเติมสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งสารลดแรงตึงผิวที่ดีต้องไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ยีสต์ และคงสภาพไม่เปลี่ยนเป็นสารอื่นขณะทำการเลี้ยงเชื้อ นอกจากนั้น Tan และ Gill (1985) ศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomycopsis lipolytica* ที่เลี้ยงแบบแบทช์ในถังหมักขนาด 3 ลิตร โดยใช้ไขมันสัตว์เป็นแหล่งอาหาร พบว่าอัตราการกวนทำให้การย่อยสลายไขมันเร็วขึ้น ที่อัตราการกวน 1,200 รอบต่อนาที ยีสต์มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.32 1/ชั่วโมง เมื่อมีปริมาณไขมันในน้ำทิ้ง 8 กรัม/ลิตร และหากเพิ่มอัตราการกวนเป็น 1,400 รอบต่อนาที หรือเพิ่มความเข้มข้นของไขมันเป็น 20 กรัม/ลิตร ก็ไม่ทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเปลี่ยนแปลงไป

**2.8 โปรตีนเซลล์เดียว (Single cell protein)**

โปรตีนเซลล์เดียว คือ เซลล์จุลินทรีย์ที่ทำให้แห้งเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารมนุษย์และสัตว์ ผลิตมาจากจุลินทรีย์หลายประเภทได้แก่ ยีสต์ แบคทีเรีย รา และสาหร่าย ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละประเภทนั้นจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบของเซลล์ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปพบว่ายีสต์จะมีโปรตีนประมาณร้อยละ 45 - 55 เช่น *Candida utilis* มีโปรตีนร้อยละ 50 - 52 แบคทีเรียจะมีโปรตีนประมาณร้อยละ 50 - 83 เช่น *Methyllomonas clara* มีโปรตีนร้อยละ 70 - 72 ราจะมีโปรตีนประมาณร้อยละ 31 - 35 เช่น *Fusarium graminearum* มีโปรตีนร้อยละ 45 และสาหร่ายจะมีโปรตีนประมาณร้อยละ 47 - 63 เช่น *Chlorella ellpisoildes* มีโปรตีนร้อยละ 55 (Goldberg และ Witliams,1991; Litchfield,1991)

ในการแปรรูปไขมันและน้ำมัน ในน้ำเสียให้อยู่ในรูปชีวมวลของจุลินทรีย์ มีข้อดีหลายประการ โดย Moss และ Smith (1997) เสนอว่าโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญของโลก เนื่องจากเหตุผลหลายประการ ได้แก่

1) มีราคาถูก เนื่องจากใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูกและสามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด รวมทั้งวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมและการเกษตร
2) การเลี้ยงจุลินทรีย์ใช้ระยะเวลาสั้น เนื่องจากจุลินทรีย์มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว โดยถ้าพิจารณาจากค่าการแบ่งตัวในแต่ละช่วงรุ่น (Generation time) จะพบว่าแบคทีเรียมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดประมาณ 0.3 - 2.0 ชั่วโมง รองลงมาคือยีสต์เท่ากับ 1 - 3 ชั่วโมง ส่วนราและสาหร่ายใช้เวลาในการเพิ่มชีวมวลเป็น 2 เท่าประมาณ 4 - 12 ชั่วโมง และ 2 - 6 ชั่วโมง ตามลำดับ
3) ประหยัดเนื้อที่ในการผลิต โดยถ้าเปรียบเทียบกับพืชหรือสัตว์จะพบว่าการผลิตโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์ใช้พื้นที่น้อยกว่ามากในการผลิตเพื่อให้ได้โปรตีนในปริมาณที่เท่ากัน
4) ชีวมวลของจุลินทรีย์มีโปรตีนสูงคือประมาณ 7 - 12 กรัมโปรตีนไนโตรเจนต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีกรดอะมิโนจำเป็นคล้ายสัตว์ โดยโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็น คือ ไลซีน เมไธโอนีน และทริบโตเฟน ซึ่งไม่พบในเซลล์พืช และประการสำคัญคือการสังเคราะห์โปรตีนโดยจุลินทรีย์เกิดขึ้นเร็วกว่าในเซลล์พืชและสัตว์

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมที่สุดในการใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนโดยมีคุณสมบัติดีกว่าจุลินทีย์ประเภทอื่นๆ (Litchfield, 1980; Boze และคณะ, 1992) คือ

1) มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วในอาหารที่มีส่วนประกอบง่ายๆ และมีความต้องการวิตามินหรือธาตุอาหารต่างๆ น้อย
2) เซลล์สามารถคลุกเคล้ากับอาหารได้ดีและแยกเซลล์ออกจากอาหารที่เลี้ยงได้ง่าย เนื่องจากเซลล์มีขนาดใหญ่จึงสามารถแยกออกจากน้ำหมักได้ง่ายโดยการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนหรือปั่นเหวี่ยงตามแรงโน้มถ่วง ซึ่งเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการผลิตได้
3) สามารถต้านต่อการทำลายของไวรัสและเชื้ออื่นๆ ที่ปนเปื้อน เนื่องจากสามารถเติบโตในสภาวะที่เป็นกรดคือพีเอช ประมาณ 3.5 - 5.0 จึงเป็นการป้องกันการปนเปื้อนได้ดี ทำให้สามารถเพาะเลี้ยงยีสต์ได้ทั้งในระบบปลอดเชื้อและระบบที่ไม่ปลอดเชื้อ
4) มีความคงตัวต่อการหมัก สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและผลิตได้ดีในระดับอุตสาหกรรม
5) มีกลิ่นรสที่ดี ไม่เป็นพิษ และสามารถย่อยสลายได้ง่าย
6) องค์ประกอบของเซลล์มีปริมาณสารอาหารต่างๆ ทั้งโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และเกลือแร่ในปริมาณสูงโดย ประกอบด้วยวิตามินและกรดอะมิโนที่สำคัญหลายชนิด แสดงดังในตารางที่ 2.3
7) ยีสต์สามารถปรับปรุงพันธุ์ให้มีคุณสมบัติตามต้องการได้ง่าย
8) ภายหลังผ่านกระบวนการผลิตแล้วมีวัสดุเหลือทิ้งน้อยหรือไม่มีเลย

ตารางที่ 2.3 ปริมาณกรดอะมิโนที่ได้จากยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ เมื่อเทียบกับมาตรฐานอาหารสัตว์ขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ

| สายพันธุ์ | Lysine | Threonine | Methionine | Isoleucine | Leucine | Protein |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | (g. amino acid/16 g. N) | | | | | |
| *C. utilis* | 7.1 | 4.7 | 1.0 | 4.3 | 7.0 | 48.0 |
| *K .fragilis* | 6.9 | 5.8 | 1.9 | 4.0 | 6.1 | 56.2 |
| *C .lipolytica* | 7.8 | 5.4 | 1.6 | 5.3 | 7.8 | 66.0 |
| *S. cerevisiae* | 8.2 | 4.8 | 2.5 | 5.5 | 7.9 | 53.7 |
| **FAO reference** | **4.2** | **2.8** | **2.2** | **4.2** | **4.8** | **-** |

(ที่มา : United Nation, 1980)

เซลล์ยีสต์ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 45 - 55 ของน้ำหนักแห้ง มีส่วนประกอบเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญหลายชนิด มีปริมาณไลซีนสูง และมีคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 30 - 35 ซึ่งประกอบด้วยไกลโคเจนซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของมนุษย์ มีกลูแคนและแมนแนนซึ่งเป็นแหล่งของเส้นใยละลาย (Soluble fiber) มีไนโตรเจนร้อยละ 7.5 - 9 กรดนิวคลีอิคร้อยละ 6 - 12 เถ้าร้อยละ 5 - 9.5 และไขมันร้อยละ 2 - 6 นอกจากนี้ยังประกอบด้วยวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินบีรวมและธาตุอาหารอื่นที่สิ่งมีชีวิตต้องการในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ (Trace element) ดังนั้นจึงทำให้เซลล์ยีสต์เหมาะสมที่จะเป็นอาหารเสริมแก่มนุษย์และเป็นอาหารสัตว์ นั่นคือมีปริมาณธาตุอาหารต่างๆ อย่างครบถ้วนเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานอาหารอาหารสัตว์ขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organism ; FAO) สำหรับข้อบกพร่องของโปรตีนจากยีสต์คือ มีปริมาณเมไทโอนีนและซิสเทอีนต่ำ นอกจากนี้การนำมาเป็นอาหารสำหรับมนุษย์ยังมีข้อจำกัดคือ ยีสต์มีปริมาณกรดนิวคลีอิคสูง เมื่อมนุษย์ได้รับกรดนิวคลีอิคปริมาณมากอาจทำให้ระดับของกรดยูริกในเลือดสูงจนมีการตกผลึกและก่อให้เกิดโรคได้หลายชนิด เช่น เก๊าท์ ไขข้ออักเสบ และนิ่วในทางเดินปัสสาวะ ซึ่งระดับที่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค คือ 2 กรัมต่อวัน ซึ่งคิดเป็นน้ำหนักแห้งของยีสต์ประมาณ 20 - 30 กรัม ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการศึกษาเพื่อลดปริมาณกรดนิวคลีอิคในเซลล์ยีสต์ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การให้ความร้อน การใช้เอนไซม์ และการใช้สารเคมีเป็นต้น (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529; สาวิตรี ลิ่มทอง, 2539)

## 2.9 ทฤษฎีที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์

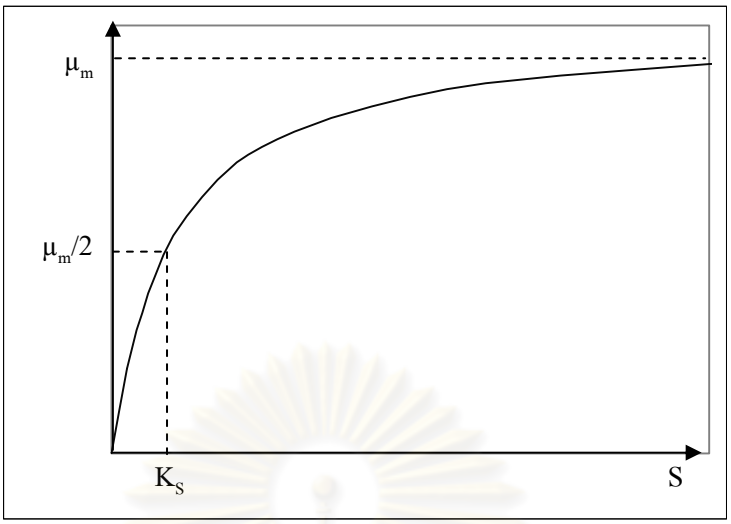
ทฤษฎีที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์โดยใช้กราฟข้อมูลการทดลองมาวิเคราะห์นั้นมี 4 ทฤษฎี ได้แก่

### 2.9.1 ทฤษฎีของ Monod (Grady, Daigger และ Lim, 1999)

สมการของทฤษฎีนี้เป็นสมการที่ได้จากการทดลอง ซึ่งได้รับการยอมรับ และเป็นที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์ โดยจะมีลักษณะดังสมการที่ 2.1

$$\mu = \frac{1}{X} r_{GX} = \frac{\mu_m \cdot S}{K_S + S} \qquad \text{…….. (2.1)}$$

กราฟที่ได้จากสมการที่ (1) จะแสดงดังรูปที่ 2.6 ซึ่งเมื่อประมาณค่าของ $\mu_m$ ในกราฟนี้ ก็จะสามารถหาค่า $K_S$ จากกราฟนี้ได้เช่นกัน



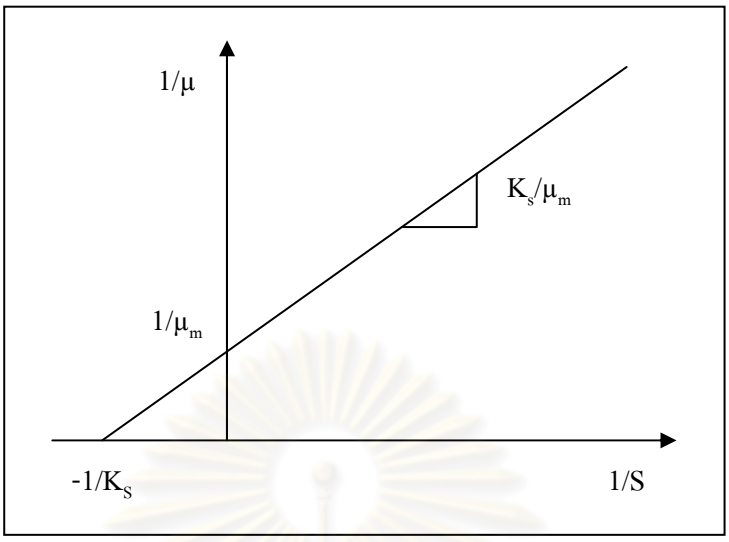

รูปที่ 2.6 อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Monod

**2.9.2 ทฤษฎีของ Lineweaver-Burk** (Grady, Daigger และ Lim, 1999)

ทฤษฎีนี้มาจากการนำสมการของ Monod มาหาส่วนกลับต่อ ซึ่งสมการที่ได้จะเป็นดังสมการที่ 2.2

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_m} + \frac{K_S}{\mu_m} \cdot \left(\frac{1}{S}\right) \qquad \text{…….. (2)}$$

สมการที่ได้นี้จะอยู่ในรูปของสมการเส้นตรง ซึ่งสามารถหาค่าจลนพลศาสตร์ได้จากสมการนี้ โดยการสร้างกราฟของส่วนกลับอัตราการเกิดปฏิกิริยาเทียบกับส่วนกลับความเข้มข้นสารอาหาร ซึ่งจะได้กราฟแสดงดังรูปที่ 2.7 และสามารถหาค่าจลนพลศาสตร์ได้จากจุดตัดที่แกน X และค่าความชันของเส้นกราฟ ข้อเสียของทฤษฎีนี้ก็คือ ข้อมูลที่ได้มีการกระจายตัวที่ไม่ดี โดยไปรวมกลุ่มอยู่แค่สองตำแหน่ง คือ ข้อมูลที่มีความคลาดเคลื่อนต่ำจะรวมตัวอยู่ใกล้กับตำแหน่งจุดตัดแกน Y ของกราฟ เนื่องจากเป็นตำแหน่งที่มีความเข้มข้นของสารอาหารสูงทำให้การทดลองวิเคราะห์ค่าในบริเวณนี้สามารถหาได้ง่าย และมีความถูกต้องสูง ส่วนข้อมูลที่มีความคลาดเคลื่อนสูงจะอยู่ไกลออกไปที่ปลายเส้นกราฟ เนื่องจากเป็นตำแหน่งที่มีความเข้มข้นของสารอาหารต่ำทำให้การทดลองวิเคราะห์ค่าในบริเวณนี้ให้มีความถูกต้องนั้นทำได้ยาก ดังนั้นเส้นกราฟที่สร้างขึ้นจึงคลาดเคลื่อนได้ง่าย และทำให้ความชันของเส้นกราฟคลาดเคลื่อนตามไปด้วย ส่งผลให้ค่าจลนพลศาสตร์ที่ได้เกิดความคลาดเคลื่อนขึ้น



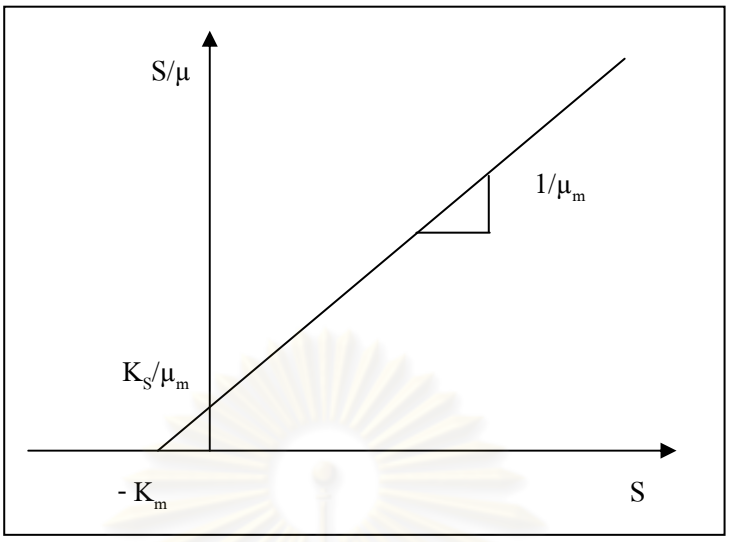

รูปที่ 2.7 อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Lineweaver-Burk

**2.9.3 ทฤษฎีของ Hanes** (Grady, Daigger และ Lim, 1999)

ทฤษฎีนี้มาจากการนำสมการของ Lineweaver-Burk มาปรับแก้ลดความคลาดเคลื่อนของสมการโดยการคูณด้วย S เข้าไปในสมการ ซึ่งจะได้สมการที่ 2.3 ออกมา

$$\frac{S}{\mu} = \frac{1}{\mu_m} \cdot S + \frac{K_S}{\mu_m} \qquad \text{…….. (2.3)}$$

สมการที่ได้นี้จะอยู่ในรูปของสมการเส้นตรงเช่นกัน แต่ให้ค่าที่แม่นยำมากขึ้น อันเนื่องมาจากการกระจายตัวที่ดีของข้อมูลตลอดเส้นกราฟโดยไม่ไปรวมตัวอยู่ที่ตำแหน่งใดตำแหน่งเดียว โดยกราฟที่ได้จากสมการนี้จะมาจากอัตราส่วนของความเข้มข้นสารอาหารต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาเทียบกับความเข้มข้นสารอาหาร ซึ่งกราฟที่ได้จะแสดงดังรูปที่ 2.8 การหาค่าจลนพลศาสตร์จากทฤษฎีนี้หาได้จากจุดตัดแกน Y และค่าความชันของเส้นกราฟ โดยข้อดีของทฤษฎีนี้คือ ข้อมูลที่ได้มีการกระจายตัวที่ดี ทำให้กราฟที่ได้มีความแม่นยำกว่าของ Lineweaver-Burk และได้ค่าความชันที่ถูกต้องกว่า โดยเฉพาะเมื่อใช้คอมพิวเตอร์ในการสร้างกราฟจะให้ข้อมูลที่ดีขึ้นแต่ข้อเสียที่เกิดขึ้นคือ ค่าที่ได้จากจุดตัดแกน Y อยู่ใกล้จุดพิกัด (0,0) มากทำให้อ่านค่าจากกราฟได้ยาก แต่สามารถแก้ไขได้โดยการใช้คอมพิวเตอร์สร้างกราฟและทำการถดถอยเชิงเส้น




รูปที่ 2.8 อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Hanes

**2.9.4 ทฤษฎีของ Hofstee** (Grady, Daigger และ Lim, 1999)

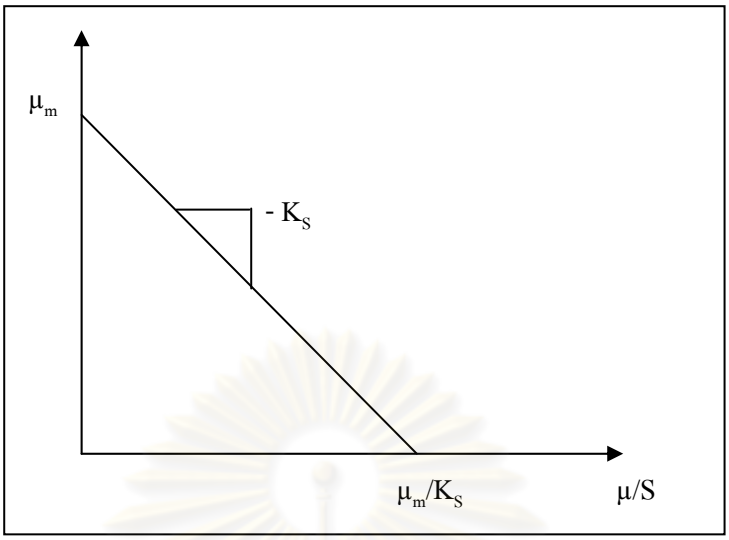
ทฤษฎีนี้มาจากการนำสมการของ Monod มาคูณกับพจน์ $(K_S+S)/S$ ได้ออกมาเป็นสมการที่ 2.4

$$\mu \cdot \left( \frac{K_S + S}{S} \right) = \mu_m \qquad \text{…….. (2.4)}$$

จัดรูปสมการที่ 2.4 ใหม่ได้เป็นสมการที่ 2.5

$$\mu = \mu_m - K_S \cdot \left( \frac{\mu}{S} \right) \qquad \text{…….. (2.5)}$$

สมการที่ได้จะอยู่ในรูปสมการเส้นตรง ซึ่งสามารถสร้างกราฟจากสมการนี้ได้โดยการสร้างกราฟของอัตราการเกิดปฏิกิริยาเทียบกับอัตราส่วนของอัตราการเกิดปฏิกิริยาต่อความเข้มข้นของสารอาหาร กราฟที่ได้จะแสดงดังรูปที่ 2.9 สามารถหาค่าจลนพลศาสตร์ได้จากจุดตัดแกน Y และค่าความชันของเส้นกราฟ โดยข้อดีของทฤษฎีนี้คือ ข้อมูลที่ได้มีการกระจายตัวดี และสามารถสร้างเส้นกราฟได้เองโดยไม่จำเป็นต้องใช้คอมพิวเตอร์ช่วย แต่มีข้อเสียคือ เส้นกราฟที่ได้จะให้ค่าของ $\mu_m$ อยู่ในจุดตัดของทั้งแกน Y และ X ทำให้ใช้คอมพิวเตอร์ทำการถดถอยเชิงเส้นไม่ได้



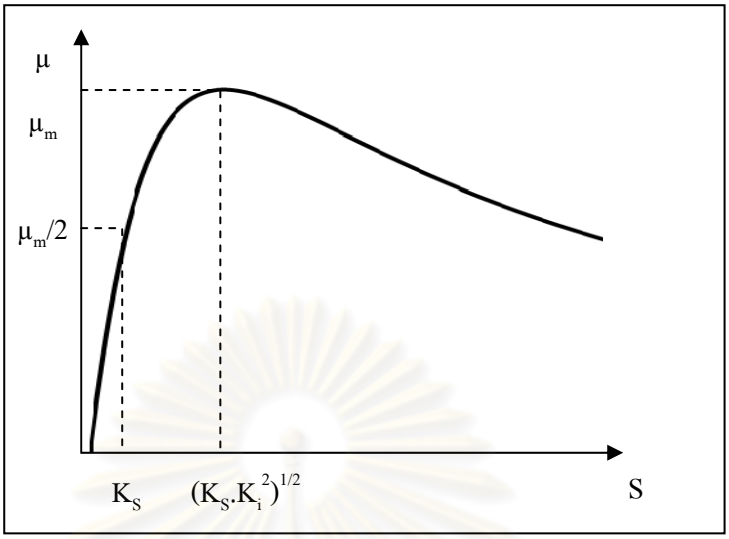

รูปที่ 2.9 อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Hofstee

**2.9.5 ทฤษฎีของ Haldane** (Haldane และ Briggs, 1925)

ทฤษฎีนี้ถูกดัดแปลงมาจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของ Monod โดย Andrew ในปี 1968 โดยศึกษากระบวนการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ในรูปของสารยับยั้งเชิงซ้อน ทฤษฎีนี้ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ($\mu$) กับความเข้มข้นของของสารอาหาร (S) ภายใต้อิทธิพลการยับยั้ง (Inhibition) เกิดภาวะความเป็นพิษของสารอาหารที่ความเข้มข้นสูงทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงในช่วงดังกล่าว โดยสมการของ Haldane แสดงดังสมการที่ 2.6

$$\mu = \frac{\mu_m . S}{K_m + S + \frac{S^2}{K_i}} \qquad \text{…….. (2.6)}$$

จากสมการที่ 2.6 จะแสดงกราฟดังรูปที่ 2.10 จากสมการเมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างสารอาหารและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ จะได้กราฟที่มีเส้นโค้งเพิ่งขึ้นที่ความเข้มของสารอาหารต่ำและลดลงเมื่อสารอาหารมีความเข้มข้นสูงขึ้น




รูปที่ 2.9 อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Haldane

ในงานวิจัยนี้ได้เลือกทฤษฎีที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ คือ ทฤษฎีของ Haldane โดยเป็นสมการที่มีความน่าเชื่อถือและกราฟมีความแม่นยำมากที่สุดกว่าทฤษฎีอื่นๆ ซึ่งจะทำให้การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่าจลนพลศาสตร์ได้โดยง่าย

## 2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### *2.10.1 การศึกษาการคัดแยกจุลินทรีย์ที่ใช้ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมัน*

Norris และ Ribbons (1971) ทำคัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างไลเปสจากคุณสมบัติการสร้าง Pearly layer เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีนมหรือไข่แดงเป็นส่วนประกอบ โดย *Clostridia* และ *Staphylococci* จะย่อยสารประกอบเชิงซ้อนของไขมันที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็นกรดไขมันอิสระ และสามารถทดสอบความจำเพาะในการย่อยสลายกลีเซอรอลไตรบิวทีเรทโดยการนำมาเลี้ยงในอาหารแข็งชนิด Tributyrin Agar

Peppler และ Perlman (1976) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่มีเอนไซม์ย่อยสลายไขมันนั้นสามารถแยกได้จากแหล่งดินทั่วไป โรงงานเนื้อสัตว์ แหล่งบำบัดน้ำเสีย (Sewage treatment plant) จากโรงอาหาร และระบบบำบัดน้ำเสียตามบ้าน (Septic tank) โดยทำการคัดแยกจากดินในบริเวณใกล้เคียงพื้นที่เหล่านี้

Fatima และคณะ (2000) ได้ศึกษาการผลิตเอนไซม์ไลเปสด้วยยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ที่เลี้ยงในระบบต่อเนื่อง พบว่าเซลล์จะเริ่มปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาเมื่อปริมาณคาร์บอนในแหล่งอาหารลดลงเหลือประมาณร้อยละ 50 (น้ำมันปาล์มหรือน้ำตาลกลูโคส) และจะมีความเข้มข้นสูงที่สุดเมื่อเซลล์อยู่ในระยะที่ผ่านพ้นระยะพักตัว (Stationary phase) ไปแล้ว

Takeshi และคณะ (2001) ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสจากดินในบริเวณที่ราบที่ไม่มีต้นไม้ในเขตไซบีเรียน (Siberian tundra) ที่เจริญเติบโตที่ 4 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเหมาะสมกับการไปใช้ในการบำบัดของเสียประเภทไขมันที่สภาวะที่หนาวเย็น และพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของแบคทีเรียได้แก่ 20 องศาเซลเซียสโดยแบคทีเรียนี้มีลักษณะเป็นทรงกลมรีที่ย้อมสีติดแกรมลบ

*2.10.2 การศึกษาการผลิตชีวมวลของจุลินทรีย์*

Han และคณะ (1971) ทำการเพาะเลี้ยง *Cellulomonas sp.* และ *Alcaligenes faecalis* ด้วยชานอ้อยจากโรงงานน้ำตาลเพื่อให้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยชีวมวลที่ได้นั้นมีปริมาณโปรตีนเป็นองค์ประกอบสูงถึงร้อยละ 46.2 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีกรดอะมิโนครบถ้วนเหมาะสำหรับการนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารทดแทนประเภทโปรตีนที่มีประสิทธิภาพ

Tannenbaum และ Wang (1975) ทำการเพาะเลี้ยง *Methylomonas methanolica* โดยใช้มีเทนเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าได้ผลผลิตมากกว่า 0.5 กรัมน้ำหนักเซลล์แห่งต่อกรัมเมทานอล โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในระบบการเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่องเท่ากับ 0.52 ลิตร/ชั่วโมง มีโปรตีนร้อยละ 81 ของน้ำหนักเซลล์แห้งและมีกรดอะมิโนครบถ้วน

Anon (1976) ศึกษาการผลิตชีวมวลของยีสต์จากน้ำเสียที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบโดยอาศัยการอยู่ร่วมกับแบบพึ่งพา (Symbiosis) ระหว่าง *Candida utilis* และ *Endomycosis fibuligera* เนื่องจากในการผลิตชีวมวลของยีสต์จำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์อะไมเลสจาก *Candida utilis* เพื่อย่อยสลายแป้งเป็นกลูโคส สำหรับน้ำเสียที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบจะมีคาร์โบไฮเดรตประมาณร้อยละ 1.5 โดยส่วนใหญ่เป็นน้ำเสียจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่งและธัญพืชโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังและเม็ดสาคู พบว่าให้ผลผลิตชีวมวลของยีสต์ในปริมาณที่สูงและสามารถลดค่าบีโอดีของน้ำเสียลงได้ระดับหนึ่ง

Forage (1978) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของยีสต์ *Candida utilis* ในการผลิตชีวมวลของยีสต์จากน้ำเสียโรงงานผลิตลูกกวาดเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ พบว่า *Candida utilis* สามารถเติบโตได้ดีในน้ำเสีย โดยน้ำเสียโรงงานผลิตลูกกวาดมีสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตอยู่ในระดับสูง มีค่าบีโอดีมากกว่า 10,000 มก./ล. สามารถเป็นแหล่งอาหารเพื่อผลิตชีวมวลที่มีคุณค่าอาหารในระดับสูง ซึ่งยีสต์ที่ได้มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 48.35 และมีวิตามินซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์แทนถั่วเหลือง จึงใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญสำหรับเลี้ยงสัตว์ได้

Chareonsak และคณะ (1980) ผลิตโปรตีนจากชีวมวลของ *Candida utilis* จากน้ำเสียโรงงานสับปะรดกระป๋อง โดยเมื่อศึกษาลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำเสียพบว่าเป็นแหล่งวัตถุดิบที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนจากชีวมวลของยีสต์ น้ำเสียนี้มีน้ำตาลสูงซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ กลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส ทำให้มีค่าซีโอดีสูง แต่มีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่ำมาก (น้อยกว่าร้อยละ 0.005) โดย *Candida utilis* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำเสียที่ผ่านการเจืองจางที่อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 วีวีเอ็ม ค่าพีเอชในช่วง 4.5 - 5.5 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้ผลผลิตชีวมวลเท่ากับ 11. 5 กรัม/ลิตร และลดค่าซีโอดีของน้ำเสียลงได้ร้อยละ 91 เมื่อเปรียบเทียบกับ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ได้ผลผลิตชีวมวลต่ำกว่า 3 กรัม/ ลิตร

Gharsallah (1993) ศึกษาการผลิตชีวมวลของยีสต์จากน้ำเสียโรงงานน้ำมันมะกอก โดยน้ำเสียชนิดนี้มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ 16.8 กรัม/ลิตร และสารอินทรีย์อื่นๆ ประมาณ 10 กรัม /ลิตร เพื่อทำการทดสอบโดยใช้ยีสต์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida krusei, Saccharomyces chevalierie* และ *Saccharomyces rouxii* ในถังหมักขนาด 2 ลิตร ที่อัตราการให้อากาศ 2 วีวีเอ็ม ค่าพีเอชเท่ากับ 5.5 ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า *Saccharomyces rouxii* ให้ผลผลิตชีวมวล 0.45 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ มีโปรตีนภายในเซลล์ 3.35 กรัม / ลิตร และสามารถลดค่าบีโอดีในน้ำเสียได้ 40 - 50 เปอร์เซ็นต์

Zheng และคณะ (2004) ทำการแยกเชื้อยีสต์ 5 สายพันธุ์ได้แก่ *Rhodotorula rubra, Candida utilis*, *Candida boidinii* และ *Trichosporon cutanium* จากดินที่มีการปนเปื้อนไขมันและน้ำมัน และศึกษาการเปลี่ยนรูปน้ำมันในน้ำเสียจากโรงงานน้ำมันสลัดโดยยีสต์ดังกล่าว ผลการศึกษาพบว่า *Candida utilis* มีอัตราการใช้น้ำมันเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนสูงสุด (Oil uptake rate) เท่ากับ 0.96 กก. ต่อ กก. ชีวมวล และมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดเท่ากับ 0.25 ชม.$^{-1}$ โดยอัตราส่วนไนโตรเจนต่อคาร์บอนมีผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพการลดน้ำมัน (Oil reduction efficiency) การผลิตชีวมวล และปริมาณโปรตีนภายในเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าว ซึ่งอัตราส่วนไนโตรเจนต่อคาร์บอนที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 1 : 6 ถึง 1 : 8

*2.10.3 การศึกษาการหาค่าจลนพลศาสตร์ของจุลินทรีย์*

Goudar และคณะ (1998) ศึกษาการประมาณค่าพารามิเตอร์ทางชีวภาพของ *Penicillium chrysogenum* ที่เจริญเติบโตในกลูโคส ด้วยการหมักแบบแบทช์ โดยใช้เทคนิค non-linear regression ในสมการ Contois equation ผลการทดลองพบว่า *Penicillium chrysogenum* มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.103 ชั่วโมง$^{-1}$ $K_c$ = 0.145 มก./ล. และ Y = 0.445

Pungsungvorn (1999) ศึกษาการจลนพลศาสตร์การเติบโตของ *Candida utilis* TISTR 5001 ภายใต้การเพาะเลี้ยงแบบให้อากาศในถังปฏิกิริยาแบบแบทช์และถังปฏิกิริยาแบบฟีดแบทช์ (Fed batch) พบว่าความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมที่สุดคือ 24.42 และ 10 กรัม/ลิตร โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.362 และ 0.343 ชั่วโมง$^{-1}$ แต่ได้ผลผลิตเซลล์จากกลูโคสเท่ากับ 0.475 และ 2.8 กรัม/กรัม ตามลำดับ แต่ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสสูงขึ้นจะได้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและผลผลิตของเซลล์ที่ได้จากกลูโคสลดลง

Loperena และคณะ (2005) ทำการศึกษาคุณสมบัติทางจลนพลศาสตร์ของหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันนมเป็นองค์ประกอบ โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในระบบ (Native inoculum) และหัวเชื้อจุลินทรีย์เชิงพาณิชย์ที่เติมลงไป (Commercial inoculum) เมื่อทำการประมาณค่าทางจลนพลศาสตร์โดยใช้สมการของ Monod และ Haldane ผลการทดลองพบว่าหัวเชื้อจุลินทรีย์เดิมที่อยู่ในระบบจะมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดสูงกว่าหัวเชื้อจุลินทรีย์เชิงพาณิชย์ที่เติมลงไป

*2.12.4 การทดลองใช้ชีวมวลแทนอาหารสัตว์*

Zheng และคณะ (2004) ทำการทดลองแยกเชื้อยีสต์จากดินที่ปนเปื้อนไขมันและน้ำมัน ซึ่งเก็บตัวอย่างดินจากบริเวณใกล้เคียงโรงงานผลิตน้ำมันสลัด หลังจากการทดลองเลี้ยงยีสต์ที่แยกได้ดังกล่าวภายหลังการเจริญเติบโตเต็มที่ และทำการวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ของชีวมวลพบว่าประกอบด้วย โปรตีนร้อยละ 21 ไขมันร้อยละ 9 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 55 นอกจากนี้ยังพบว่ามีกรดอะมิโนครบถ้วนเหมาะแก่การใช้เป็นอาหารสัตว์เมื่อทำการเปรียบเทียบกับมาตรฐานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO guideline)

Obeta (2007) ได้ทำการศึกษาการย่อยสลายของเสียจากเกษตรกรรมด้วยจุลินทรีย์ที่สามารถทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่สูง (Thermophilic aerobic digestion) ได้แก่ *Bacillus coagulan, Bacillus licheniformis* และ *Bacillus stearothermophilus* พบว่าการผลิตชีวมวลของแบคทีเรียกลุ่มนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและอัตราการเติมอากาศ โดย *Bacillus stearothermophilus*

มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดคือ 2.63 ชั่วโมง$^{-1}$ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และอัตราการเติมอากาศ 1 วีวีเอ็ม อัตราผลผลิตสูงที่สุดคือ 0.404 กรัม/กรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส การผลิตโปรตีนสามารถผลิตได้สูงสุดถึงร้อยละ 79 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส โดยปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นจะเพิ่มมากขึ้นตามอุณหภูมิ นอกจากนี้ยังพบว่ากรดอะมิโนทั้งหมดของชีวมวลเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) สามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ได้

จากการศึกษาและรวบรวมผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องให้ข้อมูลที่สามารถระบุได้ว่าจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์มีความเหมาะสมและมีศักยภาพที่จะนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยกลไกที่เกิดขึ้นจะเป็นกระบวนการทางชีวภาพที่เซลล์ยีสต์สร้างและปลดปล่อยเอนไซม์ไลเปสออกมาย่อยสลายไขมันและน้ำมัน โดยเปลี่ยนรูปให้เล็กลงและมีโครงสร้างง่ายๆ ที่เซลล์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ชีวมวลของยีสต์ที่ได้ภายหลังกระบวนการบำบัดน้ำเสียจะเป็นผลพลอยได้ที่สำคัญที่สามารถนำมาใช้ให้เกิดมูลค่าในเชิงเกษตรกรรมและพาณิชย์ได้ นั่นคือ ใช้เป็นอาหารเสริมประเภทโปรตีนสำหรับเลี้ยงสัตว์เพื่อลดต้นทุนอาหารสัตว์ได้เป็นอย่างดี และการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการออกแบบระบบบัดน้ำเสียที่มีประสิทธิภาพในขั้นต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 3

# วิธีการทดลอง

## 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

### 3.1.1 เครื่องมือ

1. เครื่องเขย่า (Shaker)
2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectophotometer)
3. เครื่องปั่นตกตะกอนด้วยแรงเหวี่ยง (Centrifuge)
4. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter)
5. เครื่องชั่งละเอียด (Analytical balance)
6. ตู้อบแห้ง (Hot air oven)
7. ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ (Temperature controlled incubator)
8. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope)
9. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
10. ชุดปั๊มสูญญากาศ
11. ชุดอุปกรณ์การกรอง
12. เครื่องคอมพิวเตอร์และโปรแกรม Microsoft Excel 2003

### 3.1.2 สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) เข้มข้น 0.1 นอร์มัล
2. สารละลายกรดซัลฟุริก ($H_2SO_4$) ผสมซิลเวอร์ซัลเฟต ($Ag_2SO_4$)
3. สารละลายมาตรฐานเฟรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) 0.05 นอร์มัล
4. สารละลายเฟอโรอีนอินดิเคเตอร์ (Ferroin Indicator)
5. เมอร์คูริกซัลเฟต (Mercuric sulfate)
6. เฮกเซน (Hexane)
7. เอทานอล (Ethanol)
8. โซเดียมโพรไพโอเนต (Sodium propionate)

**3.2 แผนการทดลอง**

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการเปลี่ยนองค์ประกอบความสกปรกในรูปไขมันและน้ำมันในน้ำเสียให้อยู่ในรูปชีวมวลของจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์ และศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของยีสต์ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย ตลอดจนนำค่าจลนพลศาสตร์ที่ได้ไปใช้ในการสร้างแบบจำลองทางคอมพิวเตอร์และออกแบบถังปฏิกรณ์ทางชีวภาพที่เหมาะสมเพื่อการนำไปประยุกต์ใช้งานจริง โดยในการทดลองจะดำเนินการจำนวน 3 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง เพื่อเป็นการยืนยันความถูกต้องและลดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น โดยแผนภูมิสรุปขั้นตอนการทดลองทั้งหมดของงานวิจัยนี้แสดงดังรูปที่ 3.1

งานวิจัยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วงดังนี้

**การทดลองช่วงที่ 1 การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันสูง**

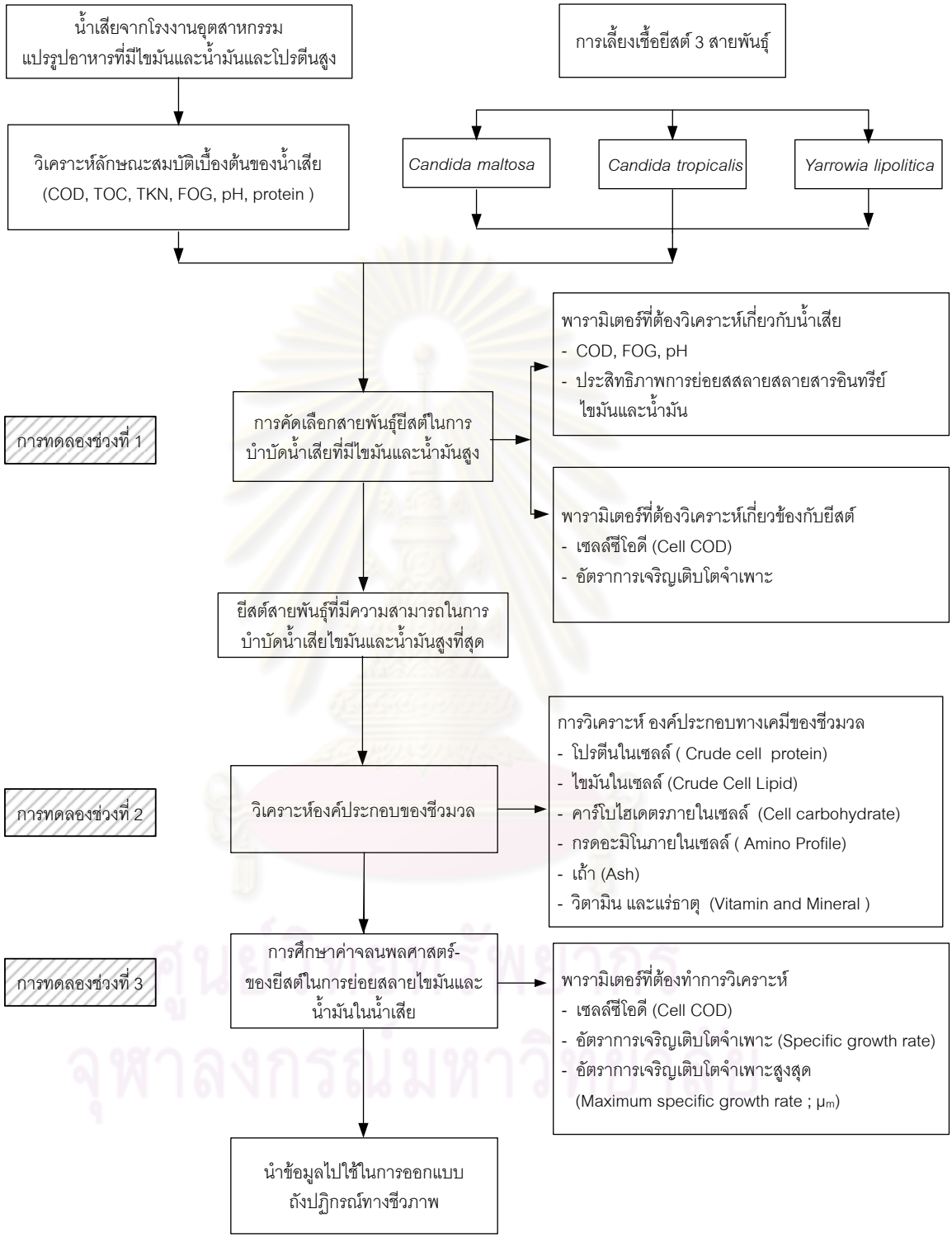
การทดลองช่วงนี้เป็นการเปรียบเทียบความสามารถของยีสต์สายพันธุ์บริสุทธิ์จำนวน 3 สายพันธุ์ ในการลดปริมาณไขมันและน้ำมันในน้ำเสียและเปลี่ยนรูปเป็นชีวมวลของยีสต์

**การทดลองช่วงที่ 2 การวิเคราะห์องค์ประกอบชีวมวลของยีสต์**

หลังจากได้ยีสต์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันสูงจากการทดลองช่วงที่ 1 แล้ว จะทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของชีวมวลของยีสต์นั้น เพื่อศึกษาความเหมาะสมและความเป็นไปได้ในการใช้เป็นแหล่งโปรตีนเสริมในอาหารสัตว์

**การทดลองช่วงที่ 3 การหาค่าจลนพลศาสตร์ของยีสต์ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย**

การทดลองนี้เป็นการเลี้ยงเชื้อยีสต์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันสูงจากการทดลองช่วงที่ 1 ในชุดการทดลองแบบแบทช์ และศึกษาปริมาณซีโอดีที่เปลี่ยนแปลงเปรียบเทียบกับอัตราการเจริญเติบโตของยีสต์ที่เวลาต่างๆ จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณพารามิเตอร์ต่างๆ ทางจลนพลศาสตร์โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่จะนำไปใช้ในการออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพและสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการผลิตชีวมวลของยีสต์




**รูปที่ 3.1 แผนผังสรุปการทดลองทั้งหมดของงานวิจัย**

**การทดลองช่วงที่ 1 การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ในการบำบัดน้ำเสียที่ไขมันและน้ำมันสูง**

การทดลองในช่วงนี้เป็นการเปรียบเทียบความสามารถของยีสต์ทดสอบ 3 สายพันธุ์ซึ่งผ่านการทดสอบคุณสมบัติในการผลิตเอนไซม์ไลเปสขั้นปฐมภูมิแล้วในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย เพื่อคัดเลือกให้ได้สายพันธุ์ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงสุดที่จะใช้ในการทดลอง ระหว่าง *Candida maltosa* (IAM 12247T), *Candida tropicalis* (IAM14385T) และ *Yarrowia lipolytica* (IAM 12188) โดยพิจารณาจากอัตราการใช้สารอินทรีย์และองค์ประกอบในน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันสูงเพื่อการเจริญเติบโต เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโต (Growth rate) ชีวมวล และปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้น (Biomass and protein content) ตลอดจนประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอินทรีย์ ไขมันและน้ำมัน (Fat and oil reduction efficiency) ของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ในชุดการทดลองแบบแบทช์ (Batch) ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยน้ำเสียที่ใช้เป็นน้ำเสียจริงจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีสารอินทรีย์และมีไขมันและน้ำมันสูงซึ่งต้องทำการตรวจวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ทางเคมีเบื้องต้น ได้แก่ อุณหภูมิ พีเอช (pH) ปริมาณไขมันและน้ำมัน (FOG) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (TKN) ปริมาณคาร์บอนทั้งหมด (TOC) ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าซีโอดี (COD) ดังแสดงในตารางที่ 3.1 นำมาปรับค่าพีเอชและปริมาณอาหารที่เหมาะสมกับความต้องการของการเจริญเติบโตของยีสต์ก่อนทำการทดลอง โดยแผนภูมิแสดงแผนการทดลองในช่วงที่ 1 แสดงดังรูปที่ 3.2 และตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาแสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.1 พารามิเตอร์ต่างๆ ทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียที่ทำการวิเคราะห์

| พารามิเตอร์ | วิธีการวิเคราะห์ | หน่วยวัด |
|---|---|---|
| ค่าซีโอดี | Close reflux method | มก./ล. |
| ปริมาณน้ำมันและไขมัน | Soxhlet Ether Extraction method | มก./ล. |
| ค่าพีเอช | pH meter | - |
| ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด | Kjedahl method | มก./ล. |
| ปริมาณคาร์บอนทั้งหมด | TOC analyzer | มก./ล. |
| ปริมาณโปรตีนทั้งหมด | Lowry method | มก./ล. |
| ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด | Sugar reducing method | มก./ล. |

รูปที่ 3.2 แผนการทดลองช่วงที่ 1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.2 ตัวแปรต่างๆ ที่ทำการศึกษาในช่วงการทดลองที่ 1

| **ตัวแปรที่กำหนดให้คงที่** | **ค่าที่ใช้ในการทดลอง** |
|---|---|
| 1. ความเร็วรอบในการเขย่า | 200 รอบต่อนาที |
| 2. ค่าพีเอชของน้ำเสีย | 5 |
| 3. อุณหภูมิ | อุณหภูมิห้อง |
| **ตัวแปรอิสระที่ทำการศึกษา** | **ค่าที่ใช้ในการทดลอง** |
| 1. ยีสต์สายพันธ์บริสุทธิ์ 3 สายพันธุ์ | - *Candida maltosa*<br>- *Candida tropicalis*<br>- *Yarrowia lipolytica* |
| **ตัวแปรตาม** | |
| 1. พารามิเตอร์ต่างๆ ทางเคมีของน้ำเสีย (ซีโอดี ปริมาณไขมันและน้ำมัน และค่าความเป็นกรดด่าง) | |
| 2. ประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอินทรีย์ไขมันและน้ำมัน | |
| 3. พารามิเตอร์ของยีสต์ (เซลล์-ซีโอดี และเซลล์-โปรตีน) | |
| 4. อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์ (วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร) | |
| 5. การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักเซลล์ (น้ำหนักเซลล์แห้ง) | |

***การเตรียมหัวเชื้อยีสต์***

นำเชื้อบริสุทธิ์ของยีสต์ที่เจริญอยู่บนอาหารแข็งลาดเอียงที่ผ่านการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 48 ชม. มาเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอย โดยการเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 2.5 มล. ต่อหลอดอาหารแข็งลาดเอียง ปิเปตเซลล์แขวนลอยปริมาตร 0.3 มล. ลงในอาหารเหลวสูตร YM ปริมาตร 100 มล. ซึ่งบรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มล. เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชม. เมื่อยีสต์เจริญเติบโตดีแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างเซลล์ 2 ครั้งด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และกระจายเชื้อในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.30 - 0.35

***น้ำเสียและการเตรียมน้ำเสีย***

นำน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมปลากระป๋องที่มีองค์ประกอบของไขมัน น้ำมัน และโปรตีนสูง ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างจากบริษัทไทยยูเนียน โฟรเซ็นซีฟู้ดส์ โปรดักส์ จำกัด อำเภอกระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาคร โดยเก็บตัวอย่างน้ำหลังจุดปล่อยออกจากถังดักไขมันก่อนเข้าระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงาน นำมาตั้งทิ้งไว้ให้เกิดการแยกชั้น กำจัดไขมันชั้นลอยซึ่งเป็นฝ้าที่ผิว

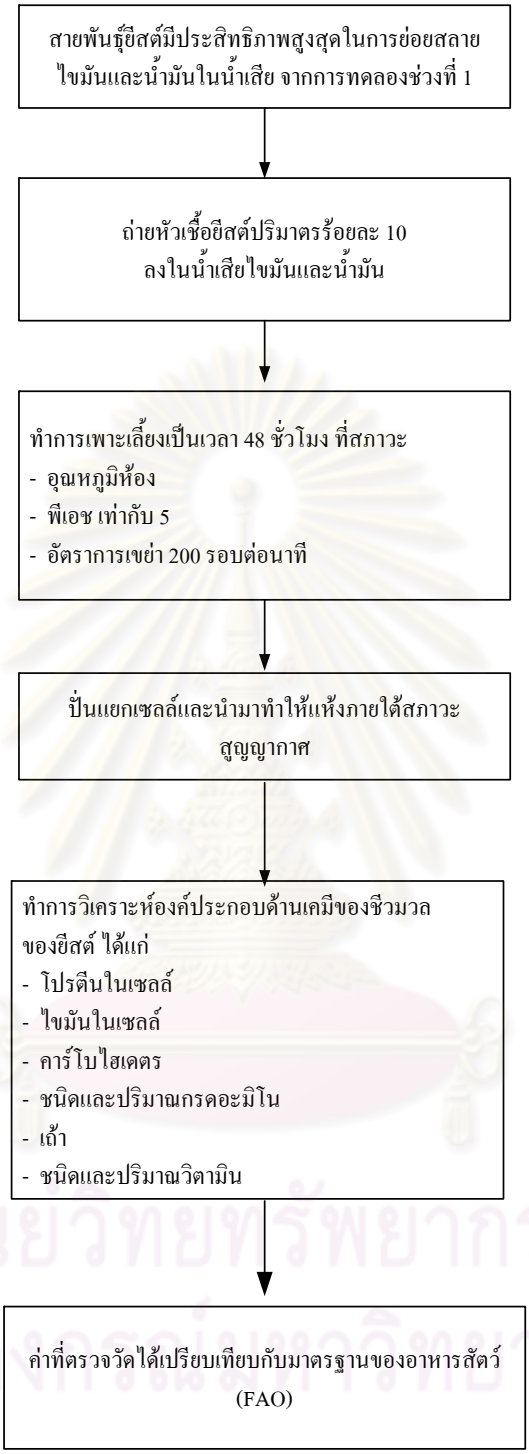
น้ำออก และนำส่วนน้ำใสมาใช้ในการทดลอง โดยเมื่อทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ทางกายภาพและเคมีเบื้องต้นแล้วจะทำการปรับค่าพีเอชให้เป็น 5 และเติมธาตุอาหารที่จำเป็นให้อยู่ในสัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 1 : 6 ด้วยแอมโมเนียมคลอไรด์ ($NH_4Cl$) (Zheng, 2005) และเติมร้อยละ 0.25 โซเดียมโพรไพโอเนตเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรีย

***การทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของยีสต์***

ถ่ายเซลล์แขวนลอยของหัวเชื้อยีสต์ที่เตรียมไว้ปริมาตรร้อยละ 10 ต่อปริมาตร ลงในน้ำเสียที่ผ่านการเตรียมแล้วปริมาตร 500 มล. ในขวดรูปชมพู่ขนาด 2 ลิตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ทำการเก็บตัวอย่างน้ำทุกๆ 3 ชม. ติดต่อกันเป็นเวลา 48 ชม. เพื่อวิเคราะห์ค่าปริมาณไขมันและน้ำมัน (มก./ล.) ปริมาณโปรตีน (มก./ล.) เซลล์-ซีโอดี (Cell-COD) (มก./ล.) และค่าซีโอดี (มก./ล.) จากนั้นนำผลการทดลองที่ได้มาเขียนกราฟการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงสารอาหารต่อเวลา เพื่อวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอินทรีย์ไขมันและน้ำมัน ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์โดยพิจารณาจากประสิทธิภาพสูงสุดในการกำจัดไขมันและน้ำมัน และประสิทธิภาพในการผลิตมวลชีวภาพสูงสุด

**การทดลองช่วงที่ 2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของชีวมวลของยีสต์**

ถ่ายหัวเชื้อยีสต์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันสูงจากการทดลองช่วงที่ 1 ปริมาตรร้อยละ 10 โดยปริมาตร และเติมร้อยละ 0.25 โดยน้ำหนักของโซเดียมโพรไพโอเนตลงในน้ำเสียปริมาตร 300 มล.ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มล. เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชม. ทำการปั่นแยกเซลล์และนำมาทำให้แห้งภายใต้สูญญากาศ ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์ ได้แก่ ปริมาณโปรตีนในเซลล์ ชนิดและปริมาณวิตามิน ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 3.3 และนำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO guideline) เพื่อประเมินความเหมาะสมในการใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์ โดยแผนการทดลองในช่วงนี้แสดงดังรูปที่ 3.3




รูปที่ 3.3 แผนการทดลองช่วงที่ 2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.3 พารามิเตอร์ต่างๆ ที่ทำการวิเคราะห์ชีวมวลของยีสต์

| องค์ประกอบของชีวมวล | วิธีการตรวจวัด |
|---|---|
| โปรตีนในเซลล์ | Kjedahl protein |
| ไขมันในเซลล์ | Lipid chromatography |
| คาร์โบไฮเดรต | Phenol-sulphuric method |
| ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน | Amino acid analyzer |
| เถ้า | Gravimetric method |
| องค์ประกอบธาตุพื้นฐาน | ตามวิธีที่ระบุใน AOAC (1965) |

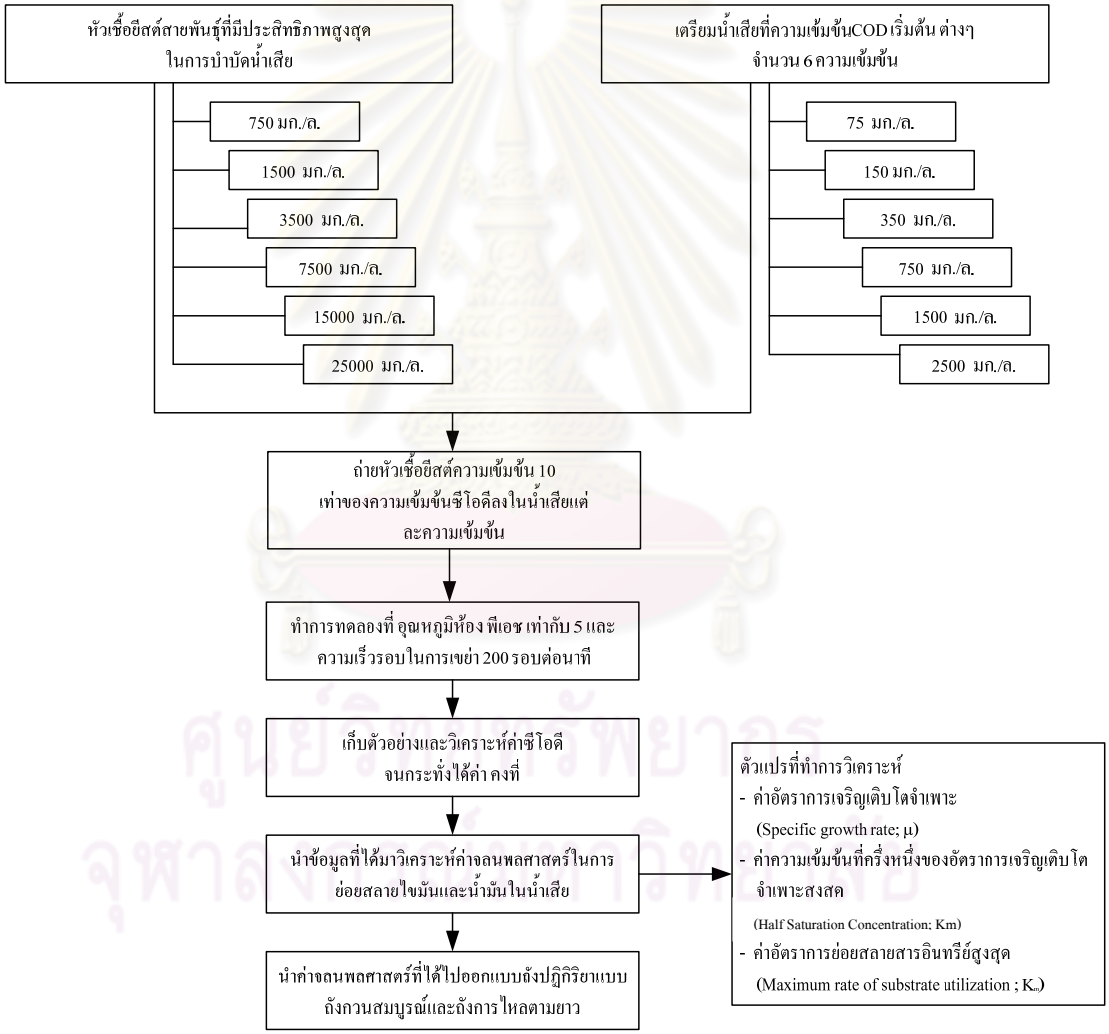
**การทดลองช่วงที่ 3 การหาค่าทางจลนพลศาสตร์ของยีสต์ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย**

เป็นการทดลองเพื่อหาค่าจลนพลศาสตร์ของยีสต์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันจากการทดลองช่วงที่ 1 โดยทำการเลี้ยงเชื้อในชุดการทดลองแบบแบทช์และเริ่มต้นการทดลองโดยพิจารณาความเข้มข้นของซีโอดีของน้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง เตรียมน้ำเสียตามวิธีที่กล่าวข้างต้นและเจือจางให้ได้ทั้งหมด 6 ความเข้มข้น ถ่ายหัวเชื้อยีสต์ลงในน้ำเสียดังกล่าวด้วยความเข้มข้น 10 เท่าของความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้น ดังรายละเอียดในตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ความเข้มข้นของซีโอดีเริ่มต้นและหัวเชื้อยีสต์ในการทดลอง 6 ชุด

| ชุดการทดลองที่ | ความเข้มข้นของซีโอดีเริ่มต้น (มก./ล.) | ความเข้มข้นเซลล์ยีสต์ (มก./ล.) |
|---|---|---|
| 1 | 75 | 750 |
| 2 | 150 | 1,500 |
| 3 | 350 | 3,500 |
| 4 | 750 | 7,500 |
| 5 | 1,500 | 15,000 |
| 6 | 2,500 | 25,000 |

ทำการทดลองที่สภาวะเดียวกันทั้งชุดการทดลองและชุดควบคุม คือที่อุณหภูมิห้อง พีเอช เท่ากับ 5 และความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ค่าซีโอดี จนกระทั่งได้ค่าคงที่ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าตัวแปรต่างๆ ทางจลนพลศาสตร์ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate ; $\mu$) อัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์สูงสุด (Maximum rate of substrate utilization ; $K_m$) และค่าคงที่ความเข้มข้นครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (Half saturation concentration ; $K_s$) เป็นต้น และนำไปประยุกต์ใช้ในการออกแบบถังปฏิกิริยาแบบไหลตามแนวยาว (Plug flow tank) และถังปฏิกิริยาแบบกวนสมบูรณ์ (Completely mixed stirred tank) ตามแผนผังการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.4




รูปที่ 3.4 แผนการทดลองการหาค่าจลนพลศาสตร์ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย

# 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 $^{o}$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

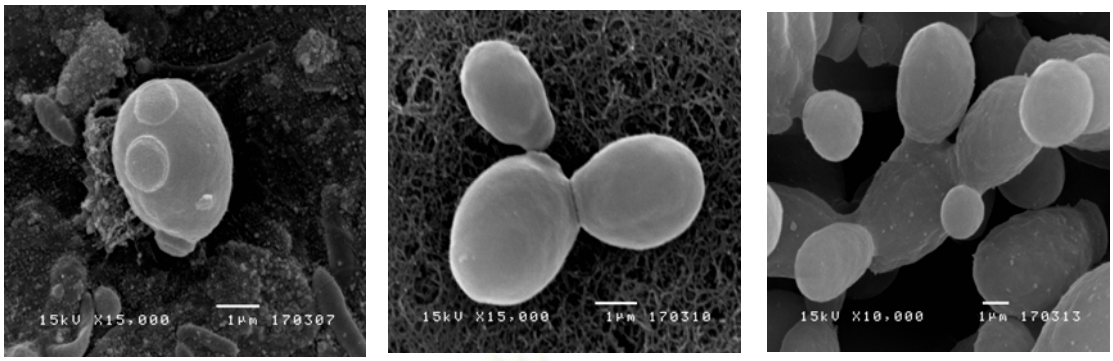
| พารามิเตอร์ | ปริมาณ | หน่วย |
|---|---|---|
| พีเอช (pH) | 5.7 | - |
| อุณหภูมิ (Temperature) | 29 | °ซ |
| ซีโอดี (COD) | 3,680 ± 25* | มก./ล. |
| ไขมันและน้ำมัน (FOGs) | 2,822 ± 93* | มก./ล. |
| สารอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (TOC) | 927 | มก./ล. |
| โปรตีน | 714 ± 4* | มก./ล. |
| สารอินทรีย์ไนโตรเจน (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

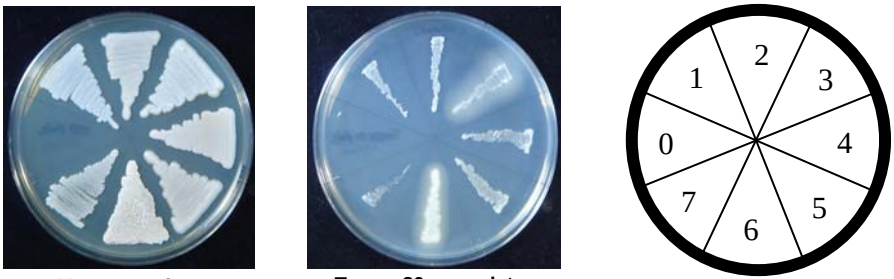



*Candida maltosa* *Candida tropicalis* *Yarrowia lipolytica*

รูปที่ 4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ 3 สายพันธุ์จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน

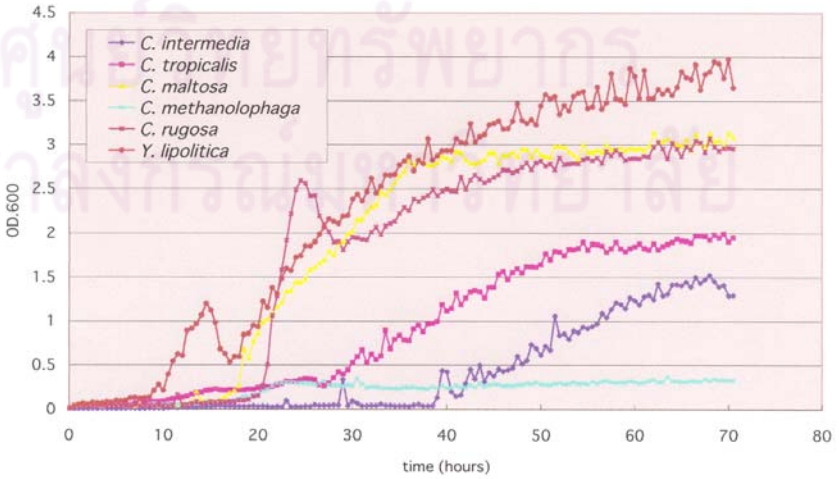
### 4.2.2 ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสของยีสต์

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




รูปที่ 4.3 ผลการทดสอบเอนไซม์ไลเปสขั้นปฐมภูมิบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง
ที่มีการเติมน้ำมันเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน

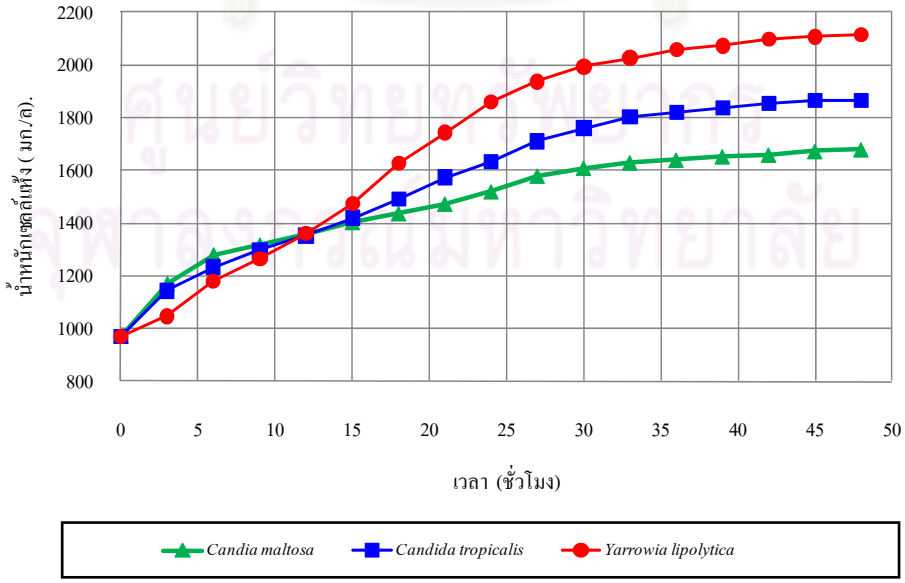
เมื่อทำการศึกษาลักษณะการเจริญของยีสต์ทดสอบ 6 สายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีการใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน (ที่ความเข้มข้น 2%) และควบคุมอุณหภูมิที่ 30°ซ อัตราการเขย่า 30 รอบ/นาที โดยทำการตรวจวัดอัตราการเจริญจากความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เกิดขึ้นทุก 20 นาทีที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรด้วยเครื่องวัดอัตโนมัติ (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



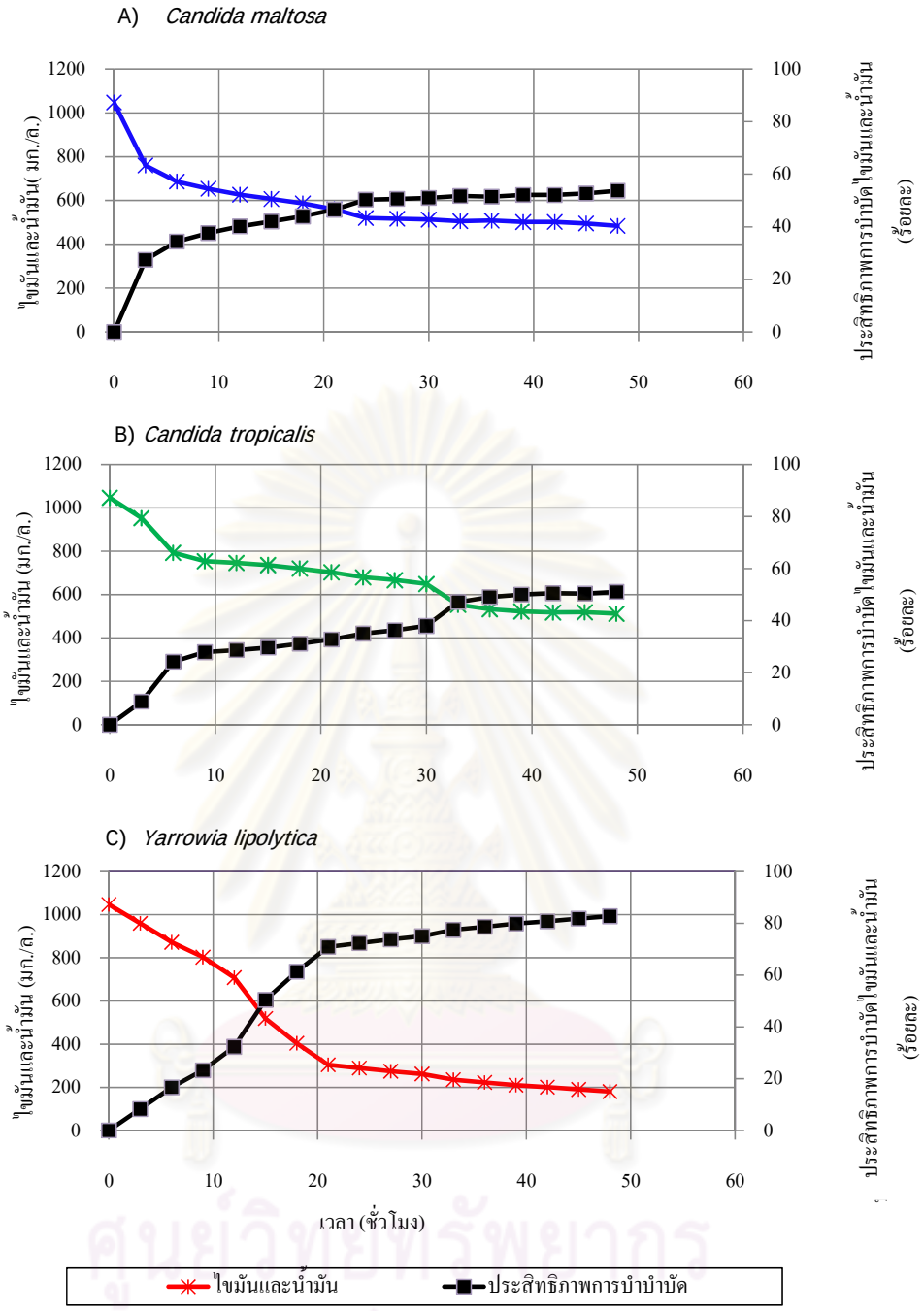

รูปที่ 4. 5 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของยีสต์ในน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ

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

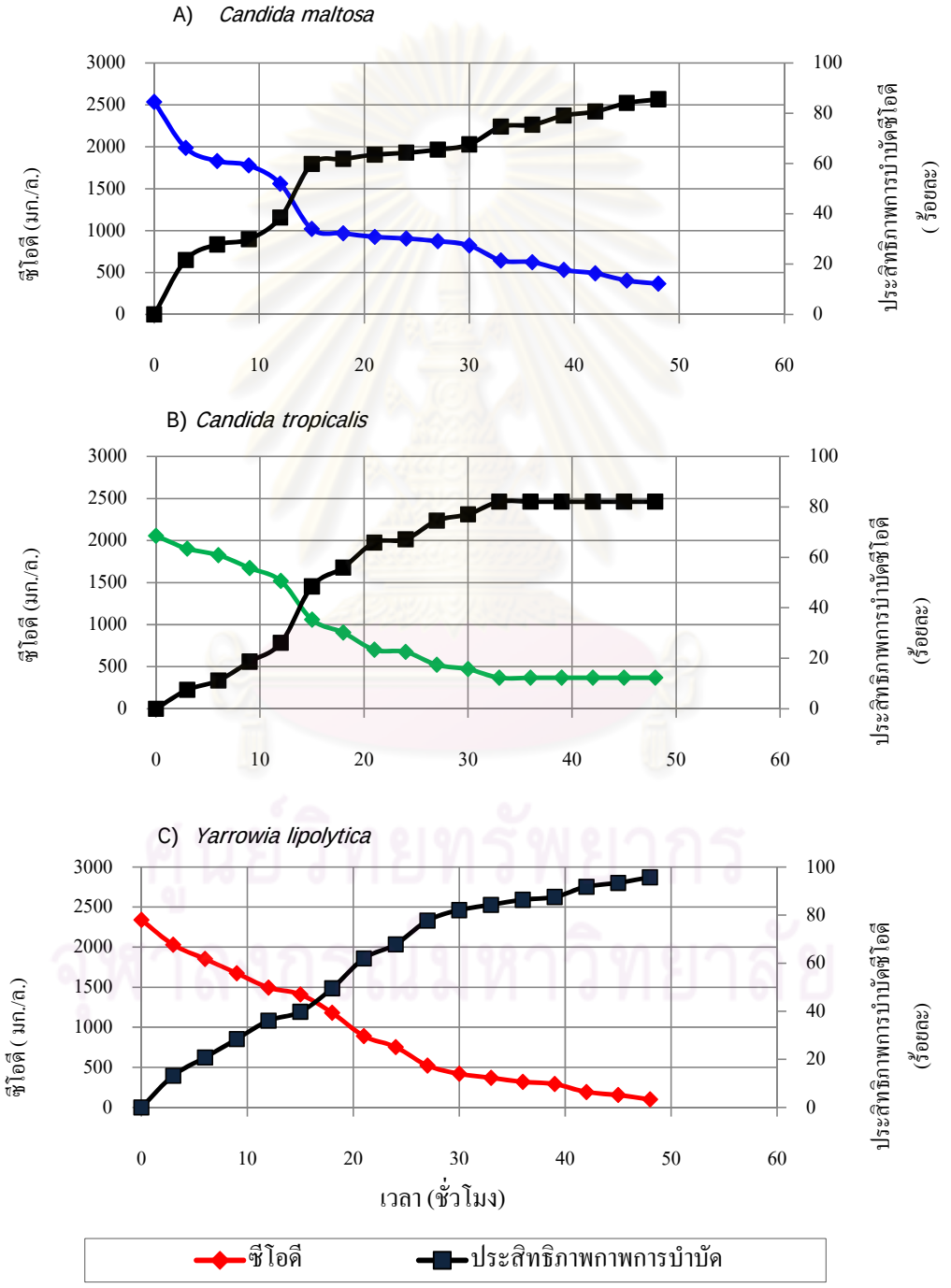



รูปที่ 4.6 ประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียของยีสต์ 3 สายพันธุ์

### 4.3.2 ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี

เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าซีโอดีของน้ำเสียภายหลังทำการถ่ายหัวเชื้อยีสต์ลงไปและเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่เหมาะสมด้วยการเก็บตัวอย่างน้ำมาทำการวิเคราะห์ทุกๆ 3 ชั่วโมง พบว่า ยีสต์ทั้งสามสายพันธุ์สามารถนำสารอินทรีย์ในน้ำเสียไปใช้ในการเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี โดยเมื่อทำการแยกชีวมวลของยีสต์ออกจากน้ำเสียและนำส่วนน้ำใสไปวิเคราะห์ค่าซีโอดี สายพันธุ์

*Candida maltosa, Candida tropicalis* และ *Yarrowia lipolytica* สามารถบำบัดค่าซีโอดีลงได้ถึง ร้อยละ 85.56 82.08 และ 95.73 ตามลำดับ ภายในระยะเวลาเพียง 48 ชม. จึงมีผลให้มลสารต่างๆ ที่ละลายอยู่ในน้ำเสียมีปริมาณลดลงอย่างมากและรวดเร็ว โดยประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี ดังกล่าวแสดงดังกราฟรูปที่ 4.7 นั่นคือ ยีสต์ทั้งสามสายพันธุ์มีประสิทธิภาพสูงในการบำบัดน้ำเสีย โดยเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีในช่วงเวลาเดียวกัน พบว่า *Yarrowia lipolytica* มีประสิทธิภาพสูงกว่า และ *Candida tropicalis* ตามลำดับ

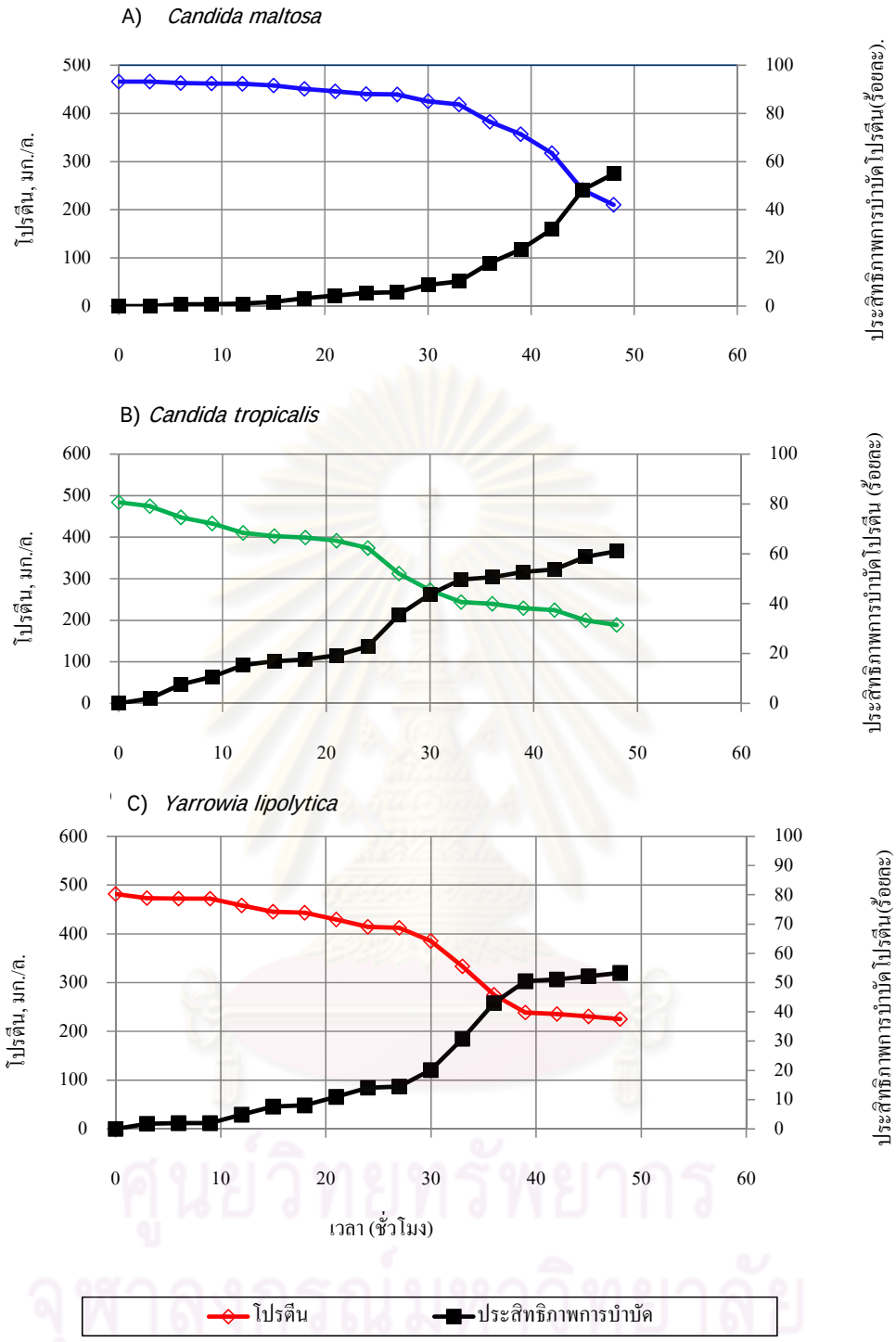



รูปที่ 4.7 ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีในน้ำเสียของยีสต์ของยีสต์ 3 สายพันธุ์

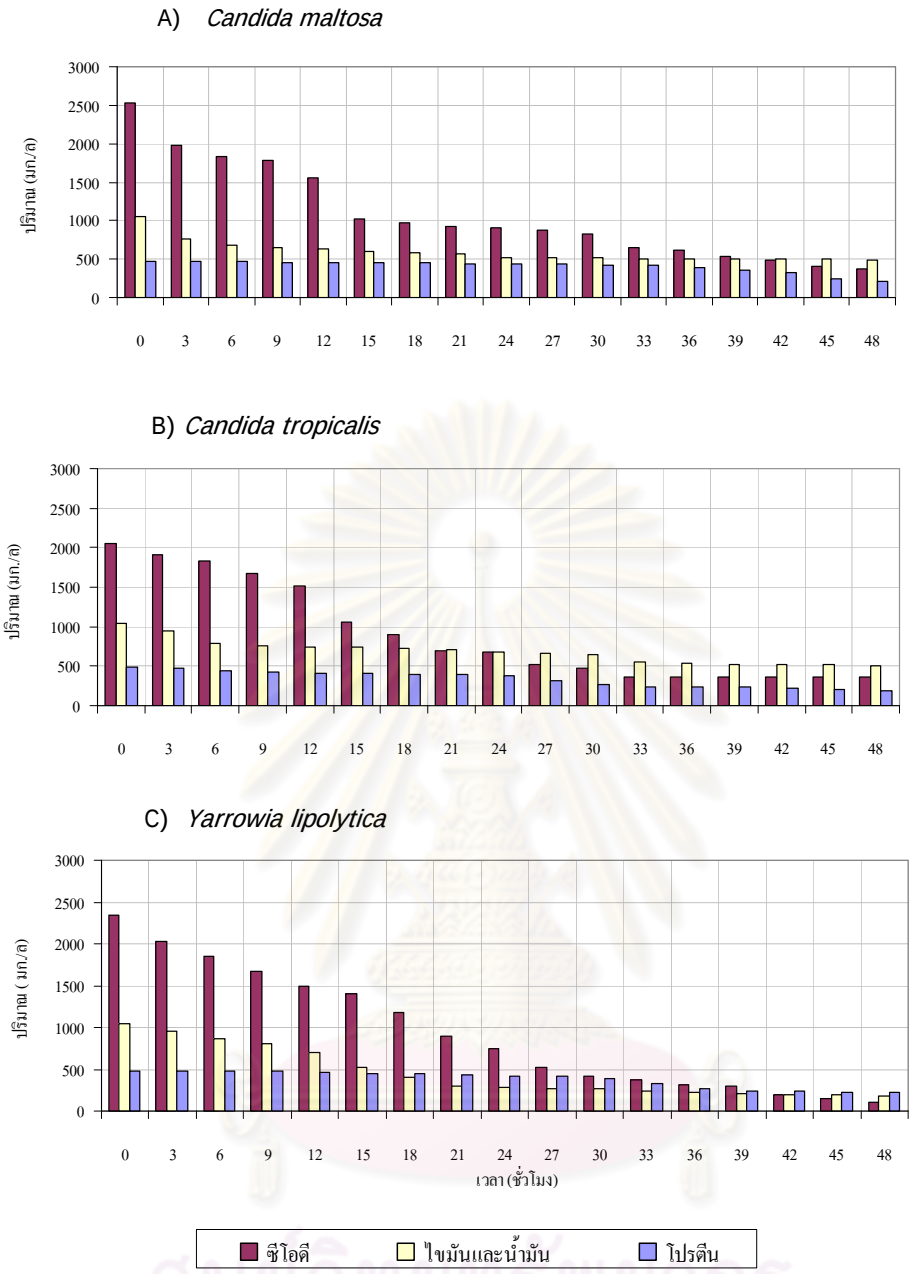
### 4.3.3 ประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีน

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* สามารถย่อยสลายโปรตีนได้ดีที่สุดซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นโดย *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

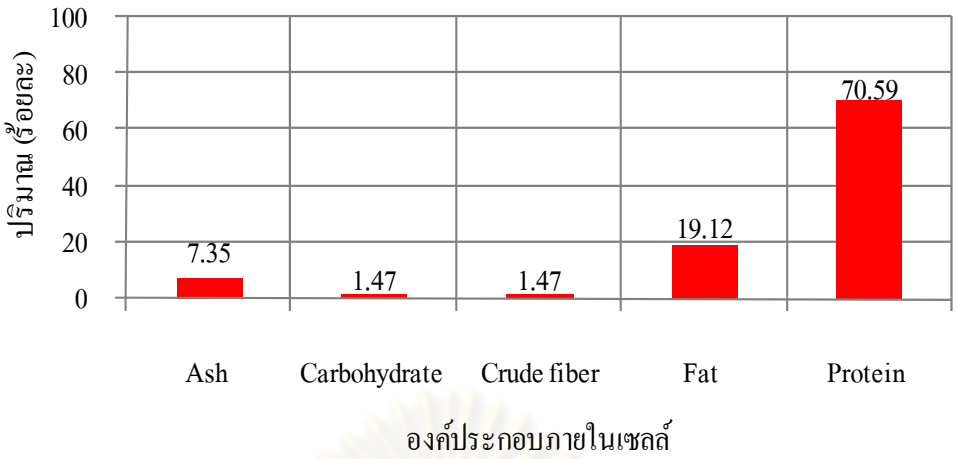
ตารางที่ 4.2 อัตราการใช้น้ำมันของยีสต์ 3 สายพันธุ์

| 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

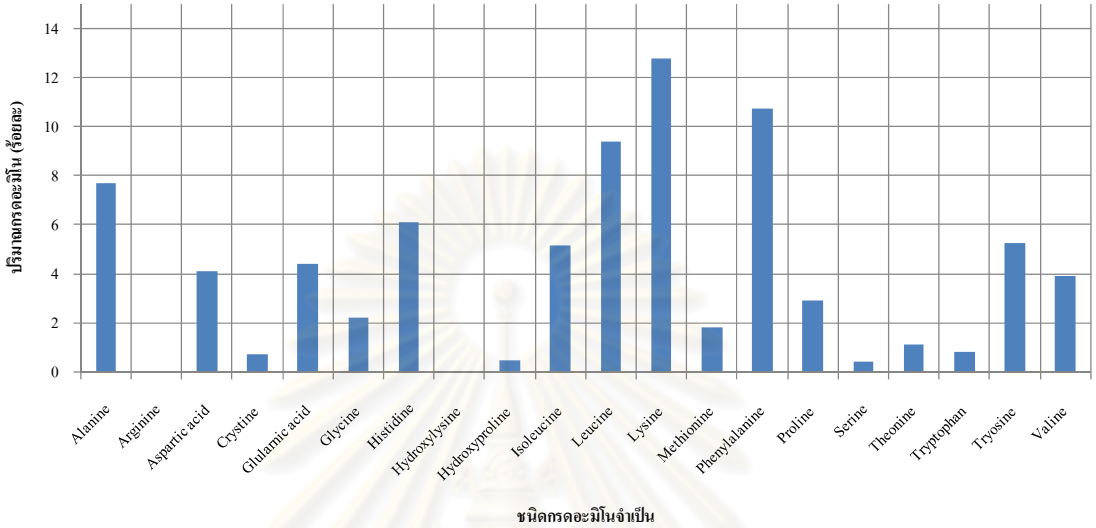
เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* พบว่า ได้ผลดังรูปที่ 4.10 คือ ประกอบไปด้วย โปรตีน ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต และไฟเบอร์ ในปริมาณจากมากไปน้อยถึงร้อยละ 70.59 19.12 7.35 1.47 และ 1.47 ตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ ที่มีรายงานไว้พบว่า มีปริมาณโปรตีนและไขมันสูงกว่า *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 โดยไรโบเฟลวินนิยมใช้ใช้อุตสาหกรรมยาและอาหารส่วนกรดเพนโตอิกมีประโยชน์ในการใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์ (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 Y*arrowia lipolytica* ที่เลี้ยงในน้ำเสียไขมันและน้ำมันสูงมีปริมาณกรดอะมิโนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่สามารถนำไปเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนอาหารเสริมของสัตว์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งในปี 1990 Anna ได้รายงานว่าในการผลิตอาหารสัตว์จำเป็นต้องมีการเติมกรดอะมิโนบางชนิด เช่น ไลซีน เมไธโอนีน และทริปโตเฟนเพื่อทดแทนแหล่งโปรตีนจากพืช นอกจากนี้ Scrimshaw และ Young (1979) รายงานว่าโปรตีนจากพืชมักขาดกรดอะมิโนดังกล่าว

โดยเมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนทั้งสามชนิดในชีวมวลของ Y*arrowia lipolytica* พบว่ามีไลซีน 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 การเปรียบเทียบชนิดและปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นจากชีวมวลของยีสต์กับถั่วเหลือง และมาตรฐานอาหารเสริมสำหรับสัตว์องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ

| 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

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

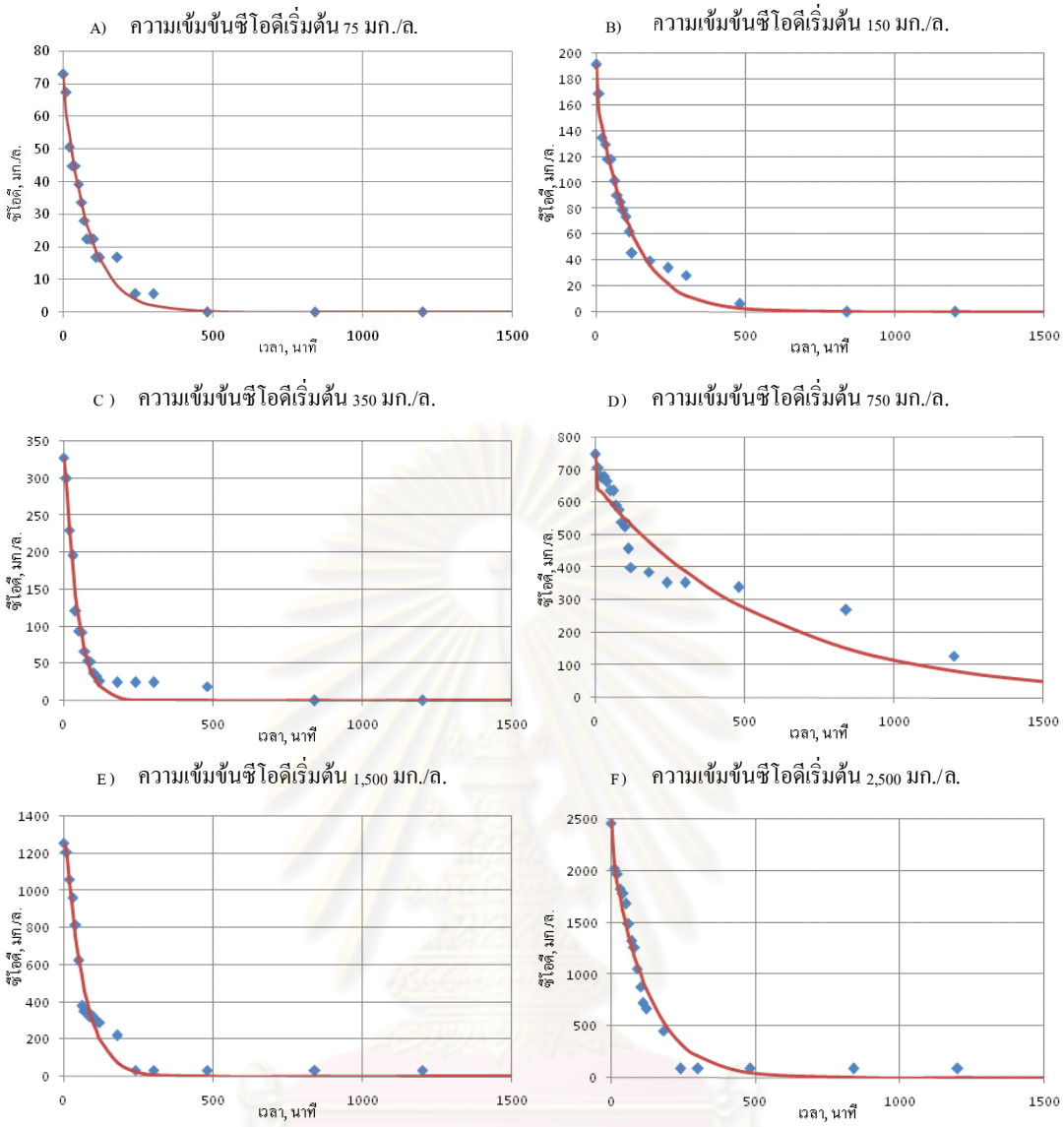
## 4.6 การวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์

### 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

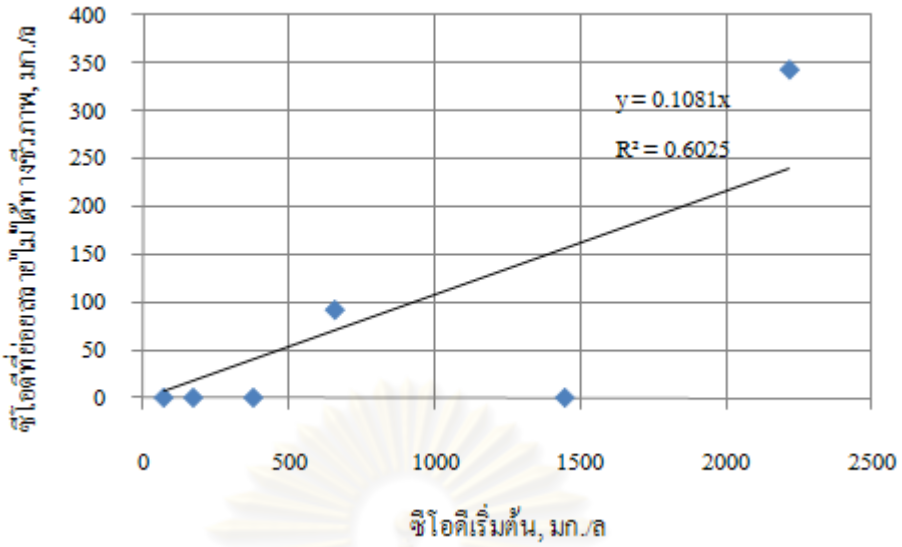
t คือ เวลา

### 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 |

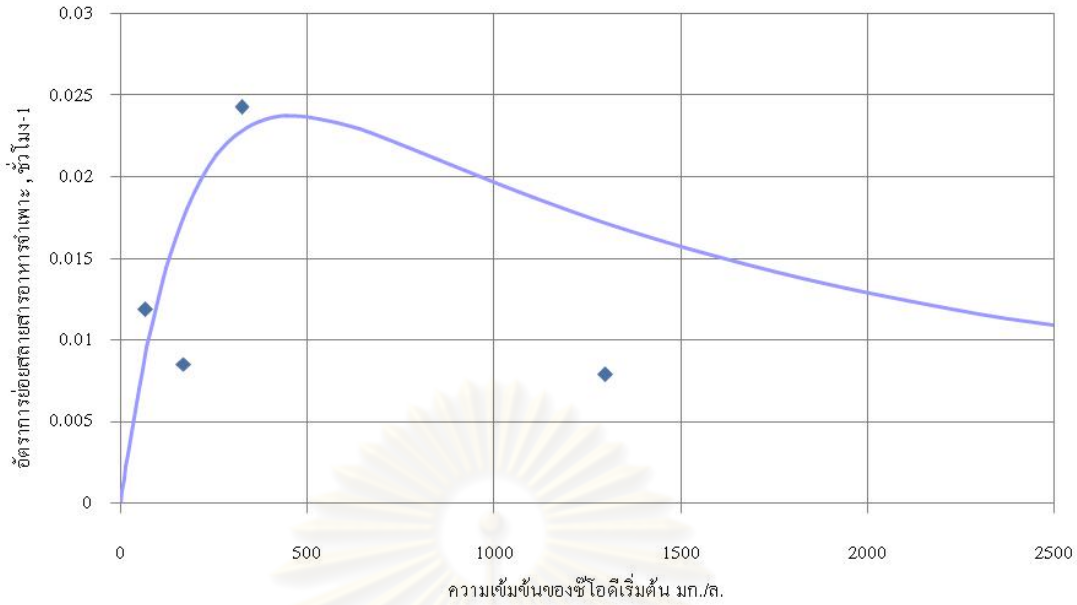



รูปที่ 4.13 องค์ประกอบส่วนที่ย่อยสลายไม่ได้ในน้ำเสีย

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 ($\mu_m$) คือ 0.374 ชั่วโมง$^{-1}$ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมาของ Loperena และคณะ (2006) ที่รายงานว่าค่าจลนพลศาสตร์ของจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์ที่คัดแยกได้จากธรรมชาติเมื่อทดลองเลี้ยงในน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบในระบบบำบัดน้ำเสียแบบต่อเนื่องมีค่ายิลล์เท่ากับ 0.58 มก.เซลล์-ซีโอดี ต่อ มก.ซีโอดี และมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ( $\mu_m$ ) = 0.22 ชั่วโมง$^{-1}$ ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าจลนพลศาสตร์ที่ได้จากการทดลองนั้นมีค่าใกล้เคียงกันกับที่รายงานไว้มาก ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าค่าจลนพลศาสตร์นี้สามารถนำไปใช้ในการออกแบบถังปฏิกิริยาที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียได้แก่ ถังกวนสมบูรณ์ (Continuous Stirred Tank Reactor ; CSTR) หรือ ถังปฏิกิริยาแบบไหลตามยาว (Plug Flow Reactor ; PFR) เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมในการนำไปออกแบบระบบบำบัดน้ำเสียไขมันและน้ำมันเพื่อในการบำบัดน้ำเสียและสามารถใช้ประโยชน์จากชีวมวลที่เกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

# บทที่ 5

# สรุปผลการทดลอง

## 5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการเปลี่ยนองค์ประกอบความสกปรกในน้ำเสียทั้งในรูปซีโอดี ไขมันและน้ำมัน และโปรตีนให้อยู่ในรูปชีวมวลของจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ 1) การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันสูง จากการเปรียบเทียบความสามารถของยีสต์สายพันธุ์บริสุทธิ์จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida maltosa, Candida tropicalis* และ *Yarrowia lipolytica* 2) การวิเคราะห์องค์ประกอบของชีวมวลของยีสต์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันสูงจากการทดลองช่วงที่ 1 เพื่อศึกษาความเหมาะสมและความเป็นไปได้ในการใช้เป็นแหล่งโปรตีนเสริมในอาหารสัตว์ และ 3) การหาค่าจลนพลศาสตร์ของยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสียเพื่อให้ได้ข้อมูลที่จะนำไปใช้ในการออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพและสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการผลิตชีวมวลของยีสต์ ผลการทดลองที่ได้สามารถสรุปได้ดังนี้

1. น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองจากโรงงานผลิตปลากระป๋องของบริษัท ไทยยูเนียน โฟรเซ็น ซีฟู้ดส์ จำกัด เมื่อเก็บตัวอย่างจากบริเวณจุดปล่อยน้ำเสียที่ออกจากบ่อดักไขมัน พบว่ามีค่าซีโอดี 3,680 มก./ล. มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบสูงถึง 2,822 มก./ล. มีโปรตีน 714 มก./ล. และมีค่าพีเอชเท่ากับ 5.7

2. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของยีสต์สามสายพันธุ์ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันสูงภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คือ ที่สภาวะพีเอชเท่ากับ 5.0 สัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 1 : 6 อัตราการเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่ายีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการบำบัดน้ำเสียทั้งในรูปซีโอดีและไขมันและน้ำมัน โดยมีอัตราการใช้น้ำมัน 0.75 กก.น้ำมัน / กก.ชีวมวล /วัน

3. การตรวจสอบองค์ประกอบภายในชีวมวลของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* พบว่า มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบสูงถึงร้อยละ 70.59 โดยประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นและวิตามินทั้งชนิดและปริมาณในสัดส่วนที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารเสริมทดแทนประเภทโปรตีนสำหรับสัตว์ โดยมีไลซีน วาลีน และฟีนิลอะลานีน ตลอดจนไรโบเฟลวิน กรดเพนโตอิก และไพริดอกซินเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูง

4. การศึกษาค่าจลนพลศาสตร์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย โดยทดลองเลี้ยงหัวเชื้อความเข้มข้น 10 เท่าในน้ำเสียที่มีความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นต่างๆ ตั้งแต่ 75 - 2,500 มก./ล. ผลการทดลองพบว่ามีองค์ประกอบซีโอดีที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพสัดส่วนเป็น 0.107 เท่าของค่าซีโอดีละลายน้ำเริ่มต้น ภายหลังการวิเคราะห์ผลการทดลองพบว่ามีค่าอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์สูงสุด ($k_m$) เท่ากับ $0.21 \pm 0.03$ ชั่วโมง$^{-1}$ ค่ายิลล์จากการทดลองมีค่าเท่ากับ 0.58 มก. เซลล์ - ซีโอดี ต่อ มก.ซีโอดี ทำให้ได้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ($\mu_m$) เท่ากับ 0.37 ชั่วโมง$^{-1}$ มีค่าความเข้มข้นที่ครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด ($K_S$) เท่ากับ $434.79 \pm 83$ มก./ล. และมีค่าคงที่การยับยั้งเนื่องจากภาวะความเป็นพิษของไขมัน ($K_I$) เท่ากับ $489.10 \pm 72$ มก./ล.

**5.2 ข้อเสนอแนะ**

1. เนื่องจากน้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเป็นน้ำเสียประเภทที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจากลักษณะทางกายภาพของไขมันและน้ำมันนั้นจะไม่รวมตัวกันเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ เมื่อเก็บตัวอย่างน้ำมาทำการวิเคราะห์จะทำให้เกิดความผิดพลาดและคลาดเคลื่อนสูง การแก้ไขปัญหาอาจใช้วิธีการเติมสารลดแรงตึงผิวเพื่อให้ไขมันและน้ำมันรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำเพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำขึ้น แต่ข้อเสียจากการเติมสารลดแรงตึงผิวคือจะทำให้ค่าซีโอดีของน้ำเพิ่มสูงขึ้นได้

2. ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียโดยใช้ยีสต์นั้นควรจะมีการเปรียบเทียบเชื้อยีสต์ที่ได้จากธรรมชาติกับหัวเชื้อสายพันธุ์บริสุทธิ์

3. การศึกษาในขั้นตอนต่อไปควรทดลองเดินระบบบำบัดน้ำเสียแบบต่อเนื่องโดยอาศัยค่าจลนพลศาสตร์ที่ได้จากการทดลองนี้ไปออกแบบถังปฏิกิริยาเพื่อใช้ในการทดลอง ซึ่งจะเป็นการทดสอบความถูกต้องของค่าจลนพลศาสตร์ที่ได้จากการทดลองนี้ด้วย

4. การประยุกต์ใช้ประโยชน์จากชีวมวลอาจพิจารณาถึงแนวทางอื่นๆ ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น การประยุกต์ใช้ชีวมวลที่ได้ในการทำเป็นเชื้อเพลิง เพื่อเป็นพลังงานทางเลือกและเป็นการใช้ประโยชน์จากของเสีย และช่วยหาแนวทางในการผลิตพลังงานซึ่งในปัจจุบันมีความขาดแคลน

# รายการอ้างอิง

**ภาษาไทย**


เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์. 2535. วิศวกรรมการกำจัดน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2. ปทุมธานี: เอส. อาร์. พริ้นติ้ง แมสโปรดักส์.

จิราภรณ์ สุขุมาวาสี. 2536. การกำจัดคราบน้ำมันโดยจุลินทรีย์. การประชุมวิชาการระดับชาติประจำปี 2536 ของสมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย. เทคโนโลยีการควบคุมมลพิษ . กรุงเทพมหานคร : ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ 18 – 19 มิถุนายน 2536: 350-356.

ดวงพร คันธโชติ. 2530. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์. กรุงเทพมหานคร : โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮาส์.

ธงชัย พรรณสวัสดิ์. 2535. คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมไทย.

นพดล เบญจภัทรพงศ์. 2540. การผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นันทพร พึ่งสังวร . 2542. จลนพลศาสตร์การเติบโตของ *Candida utilis* TISTR 5001 ภายใต้การเพาะเลี้ยงแบบให้อากาศ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธงชัย นิรันดร์วงศ์วาน. 2552. ค่าจลนพลศาสตร์ของน้ำเสียชุมชนและแบบจำลองทางคอมพิวเตอร์ของโรงบำบัดน้ำเสียช่องนนทรี. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พันธิพา พงษ์เพียรจันทร์. 2539. หลักโภชนาศาสตร์และการประยุกต์. หลักการอาหารสัตว์. กรุงเทพมหานคร : โอเดียนสโตร์ 2.

พิชญ์นาฏ สุทธิสมบูรณ์. 2546. การบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันถั่วเหลืองโดยการเติมแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสในระบบบำบัดแบบแอคติเวเต็ดสลัดจ์, ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2538. คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วรรษา โชติชัยสถิตย์. 2541. การประยุกต์ใช้แบคทีเรียสำเร็จรูปในการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมัน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2539. เทคโนโลยีการหมักอุตสาหกรรม. กรุงเทพมหานคร : โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮาส์.

วิบูลย์ลักษณ์ พึ่งรัศมี. รายงานการฝึกอบรมจากการใช้เงินกู้ต่างประเทศ โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีไทย-ญี่ปุ่น(TJTTP-JBIC).กรุงเทพมหานคร. 2006. (อัดสำเนา)

วิทยา อยู่สุข. 2537. การแยกไขมันน้ำมันในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรม. วารสารความปลอดภัยและสิ่งแวดล้อม. 4 (ตุลาคม-ธันวาคม): 51-53.

สมรัตน์ ยินดีพิธ. 2533. การกำจัดคราบน้ำมันด้วยวิธีชีวภาพ. วารสารความรู้คือประทีป. 4(กรกฎาคม-กันยายน): 13-20.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2539. ยีสต์และยีสต์เทคโนโลยี. กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ. 2549. ยีสต์คุณประโยชน์ในอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3. เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมเพื่อธุรกิจ. 2(3) : 3-5 หน้า.

อาภัสรา ชมิดท์. 2543. ชีวเคมี. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์รั้วสีเขียว โอเดียนสโตร์.

**ภาษาอังกฤษ**

Aiba, S., Humphrey, A.E., and Millis, N.F. 1973. Aeration and agitation. In Reed, G., and Nagodawithana, T.W. (eds.). Enzymes Biomass food and feed. New York VCH Publishers : 167-221.

American Public Health Association, American Water Work Association, and Water Environment Federation. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th ed. Baltimore: United Book Press.

Anna, K.K. 1990. Yeast as source of protein. In Yeast & yeast-like organisms. New York:VCH Publishers pp. 391-401.

Anon. 1976 Fermentation pays-off transforming waste to protein. Food Engineering International. 1(10) : 32-33.

Anon. 1981. Conversion of Low Grade Fats by Biological Means. London . Chapman & Hall:

Bhattacharjee, J. K. 1970. Microorganisms as potential sources of food. Advance in Applied Microbiology. 13: 134-159.

BioCarta. Beta-oxidation pathway [online]. Available from : http://www.biocarta.com/genes/index.asp (10 January 2008)

Boze, H., Moulin, G., and Galzy, P 1992. Production of food and fodder yeast. Critical Reviews In Biotechnology. 12(1/2):65-86.

British Nutrition Foundation. Fatty acid structure [online] . Available from http:// www.nutrition.org.uk/home.asp?siteId=43§i (20 December 2007)

Campbell, M.K. 1992. Biochemistry. Saunder College Publishing. Philadelphia.

Chareonsak, C., Chareonsiri, K., and Vanavat , P. 1980. Protein production by *Candida utilis* from pineapple wastewater. Journal of the National Research Council of Thailand. 12 (1) : 1-24.

Chemical Diagram. Emulsion [online] Available from : http://www.btinternet.com/~chemistry.diagrams/emulsion.gif (12 February 2008)

Chetan T., G., and Keith A., S. 1998. Estimating growth kinetics of *Penicillium chrysogenum* by nonlinear regression. Biochemical Engineering. 1:191-199.

Choi M., H., and Park, Y., H.2003. Production of yeast biomass using waste Chinese cabbage. Biomass Bioenergy. 25 : 221–226.

Fatima, V., P., M., Maria, H., M., R., L., and Geraldo, L. 2000. Lipase location in *Yarrowia lipolytica* cells. Biotechnology Letters. 22: 71 – 75.

Forage, A. J. 1978. Recovery of Yeast form confectionary effluent. Process Biochemistry . 13(1): 8-11.

Gaden, E. L.1974. Single Cell Protein. New York. Academic Press: 46-60.

Gerardo C., Sergio R.1999. Production and characteristics of the lipase from *Yarrowia lipolytica* 681. Bioresource Technology. 70: 173-180.

Gharsallah, N. 1993. Production of single cell protein from olive mill wastewater by yeasts. Environmental Technology. 14 : 391 – 395.

Goldberg, I. 1985. Single Cell Protein.Berlin : Springer - Verlag: 11-20.

Grady, C. P. L., Jr., Daigger, G. T., and Lim, C. H. 1999. Biological wastewater treatment. 2nd ed. revised expanded. New York: Marcel Dekker.

Haldane, J.B.S., and Briggs, G.E., 1925. A note on the kinetics of Enzyme Action, Biochem. 19:38

Hann, Y. W., Dunlap, C. E., and Calliphan, C. D. 1971. Single cell protein from cellulosic wastes. Food Technology. 25: 32-35.

Hottinger, H.H., Richardson,T., Amundson, C.H. and Stuiber, D.A.1974. Utilization of fish oil by *Candida lipolytica* and *Geotrichum Candidum*. Journal of Milk and Food Technology. 37: 522-528.

Johnson, A.H., and Peterson, M.S. 1974. Encyclopedia of food technology AIV. Publishing Company. pp. 244-258

Koh, J.J., Kodama, T., and Minoda, Y.1983. Screening of yeast culture conditions of cell production from palm oil. Applied Microbiology and Biotechnology. 47: 1207-1212.

Litchfield, J.H. 1979. Production of single cell protein for use in food or feed. In Preppler, H.J., and Perman, D.(eds.). Microbial Technology .New York: Academic Press.

Lo S.,N., and Moreau, J., R. 1986. Mixed culture microbial protein from waste sulphite pulping II. Its production on pilot scale and use in animal feed. Canadian Journal of Chemical Engineering. 64: 639–646.

Loperena, L., Saravia,V., Murro, D., Ferrari ,M.,D., and Lareo., D. 2005. Kinetic properties of a commercial and native inoculums for aerobc milk fat degradation. Bioresource Technology . 97: 2160-2165.

Moss, M.O., and Smith, J.E. 1977. Industrial Application of Microbiology. London:Elsevier Science pp. 12 – 96.

Muderwa, J., M., and R., R. 1985.Purification and properties of the lipase from *Candida deformans*. Journal of the American Oil Chemists' Society. 62(6) : 1031-1036.

Nigam, J., N. 1998. Single cell protein from pineapple cannery effluent, World Journal of Microbioloty and Biotechnology. 14:693–696.

Norris, J.R. and Ribbons, D.W.1971. Method in microbiology Vol. 6. Elsevier Publishing Co., Amsterdam. 593 p.

Obeta U. 2008. Yield and protein quality of thermophilic *Bacillus* spp. biomass related to thermophilic aerobic digestion of agricultural wastes for animal feed supplementation. Bioresource Technology. 99: 3279-3290

Peppler, H.J. 1968. Industrial production of single cell protein from carbohydrates. In Mateles, R.I., and Tannenbaum, S.R. (eds.). Single Cell Protein. U.S.A : M.I.T. Press.

Rao, H.,V., Peter, J,. H,. and Alasdair, R., M.(1993). Water as a competitive inhibitor of lipase-catalysed esterification in organic media. Biotechnology Letters. 15: 1133-1138.

Reed, G.,and Nagodawithana, T.W.1995. Enzymes Biomass food and feed. In Rehm, H.J., and Reed, G. (eds.). Biotechnology. 9: New York:VCH Publishers.

Rydin,S., Molin, G., and Nilsson, I. 1990, Conversion of fat into yeast biomass in protein containing wastewater. Applied Microbiology and Biotechnology. 33: 473-476.

Scrimshaw, N.S., and Young, V.R. 1979. Soy protein in adult human nutrition : A review with new data. In Wilcke,H.K. (ed.). Soy Protein and Human Nutrition. New York. Academic Press .

Senez, S.C.1987. Single cell protein : past and present developments. In Dasilva, E.J., Dommergues, Y.R., Nyns, E., J and Ratleedge, C. (eds.). Microbial Technology in the Developing World. Oxford University: 238-259.

Singh, A., Abidi, A.B., Agrawal, A.K., and Darmwal, N.S. 1991. Single cell protein production by *Aspergillus niger* and its evaluation. Zentralbl. Microbiology. 146:181-184.

Singh, K., Agarwel, P.N., and Peterson, W.H.1984. The influence of aeration and agitation on the yield, protein and vitamin content of food yeasts. Archives of Biochemistry and Biophysics. 18: 181-193.

Stanbury, P. F., and Whitaker, A. 1984. Principles of Fermentation Technology. Oxford : Pergamon Press.

Takeshi S., Toru N., Tatsuo K., Tokuzo N. and Nobuyoshi E.2001. Cold-active lipolytic activity of psychrotrophic *Acinetobacter* sp. strain no. 6 . Bioscience and Bioengineering. 92:144-148

Tan,K.H., and Gill, C.O. 1985. Batch growth *of Saccharomycopsis lipolytica* on animal fats. Applied Microbiology and Biotechnology. 21: 292-298.

Tannenbaum, S.R., and Wang, D.I.C. 1975. Single cell protein(ii). Cambridge : M.I.T. press

Udall, J.N., Lo, C.N., Young, V.R., and Scrimshaw, N.S. 1984. The Tolerance and Nutritional value of two microfungal foods in human subjects. In Scragg, A.H. (ed.). Bioreactors in Biotechnology. London. Ellis Horwood.

United Nation. 1977. The future of world economy. In Dasilva, E.J., Dommergues, Y.R.,Nyns, E.J., and Ratledge, C. (eds.). Microbial Technology in the Developing World. Oxford. Oxford University.

Wang, D.I.C., Cooney, C.L., Demain, A.L., Humphrey, A.E., and Lilly, M.D. 1979. Fermentation and enzyme technology. In Scragg, A.H. (ed.). Bioreactors in Biotechnology. London. Ellis Horwood.

White, A., Handler, P., and Smith, E.L. 1968. Principle of Biochemistry. New York : McGraw-Hill Book.

Zheng, S., Min Y. and Zhifeng Y. 2005. Biomass production of yeast isolate from salad oil manufacturing wastewater. Bioresource Technology. 96: 1183-1187.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# ภาคผนวก ก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน้า ๔
เล่ม ๑๒๒ ตอนที่ ๑๒๕ ง ราชกิจจานุเบกษา ๒๙ ธันวาคม ๒๕๔๘

# ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

## เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง จากอาคารบางประเภทและบางขนาด

---

โดยที่ได้มีการปฏิรูประบบราชการโดยให้มีการจัดตั้งกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมขึ้นมา และให้โอนภารกิจของกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. ๒๕๓๕ ไปเป็นของกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ประกอบกับเป็นการสมควรให้คณะกรรมการควบคุมมลพิษเป็นผู้พิจารณาเห็นชอบกับวิธีการตรวจหาค่ามาตรฐานการระบายน้ำทิ้ง นอกเหนือจากวิธีการที่กำหนดไว้แทนกรมควบคุมมลพิษ จึงสมควรแก้ไขปรับปรุงประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคารบางประเภทและบางขนาด

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕๕ แห่งพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. ๒๕๓๕ แก้ไขโดยมาตรา ๑๑๔ แห่งพระราชกฤษฎีกาแก้ไขบทบัญญัติให้สอดคล้องกับการโอนอำนาจหน้าที่ของส่วนราชการ ให้เป็นไปตามพระราชบัญญัติปรับปรุงกระทรวง ทบวง กรม พ.ศ. ๒๕๔๕ พ.ศ. ๒๕๔๕ อันเป็นพระราชบัญญัติที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา ๒๙ ประกอบกับมาตรา ๓๕ มาตรา ๔๘ มาตรา ๕๐ และมาตรา ๕๑ ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้ โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โดยคำแนะนำของคณะกรรมการควบคุมมลพิษและโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ จึงออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคารบางประเภทและบางขนาด ลงวันที่ ๑๐ มกราคม พ.ศ. ๒๕๓๗

ข้อ ๒ ในประกาศนี้

"อาคาร" หมายความว่า อาคารที่ก่อสร้างขึ้น ไม่ว่าจะมีลักษณะเป็นอาคารหลังเดียว หรือเป็นกลุ่มของอาคารซึ่งตั้งอยู่ภายในพื้นที่ซึ่งเป็นบริเวณเดียวกัน และไม่ว่าจะมีท่อระบายน้ำท่อเดียว หรือมีหลายท่อที่เชื่อมติดต่อกันระหว่างอาคารหรือไม่ก็ตาม ซึ่งได้แก่

(๑) อาคารชุด ตามกฎหมายว่าด้วยอาคารชุด

(๒) โรงแรม ตามกฎหมายว่าด้วยโรงแรม

(๓) หอพัก ตามกฎหมายว่าด้วยหอพัก

(๔) สถานบริการประเภทสถานอาบน้ำ นวดหรืออบตัว ซึ่งมีผู้ให้บริการแก่ลูกค้า ตามกฎหมายว่าด้วยสถานบริการ

(๕) โรงพยาบาลของทางราชการหรือสถานพยาบาล ตามกฎหมายว่าด้วยสถานพยาบาล

(๖) อาคารโรงเรียนเอกชน ตามกฎหมายว่าด้วยโรงเรียนเอกชน โรงเรียนของทางราชการ อาคารสถาบันอุดมศึกษาของเอกชน ตามกฎหมายว่าด้วยสถาบันอุดมศึกษาของเอกชนและสถาบันอุดมศึกษาของทางราชการ

(๗) อาคารที่ทำการของทางราชการ รัฐวิสาหกิจ หรือองค์การระหว่างประเทศและของเอกชน

(๘) อาคารของศูนย์การค้าหรือห้างสรรพสินค้า

(๙) ตลาด ตามกฎหมายว่าด้วยการสาธารณสุข แต่ไม่รวมถึง ท่าเทียบเรือประมง สะพานปลา หรือกิจการแพปลา

(๑๐) ภัตตาคารหรือร้านอาหาร

"น้ำทิ้ง" หมายความว่า น้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดน้ำเสียแล้วจนเป็นไปตามมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งตามที่กำหนดไว้ในประกาศนี้

ข้อ ๓ ให้แบ่งประเภทของอาคารตามข้อ ๒ ออกเป็น ๕ ประเภท คือ

(๑) อาคารประเภท ก.

(๒) อาคารประเภท ข.

(๓) อาคารประเภท ค.

(๔) อาคารประเภท ง.

(๕) อาคารประเภท จ.

ข้อ ๔ อาคารประเภท ก. หมายความถึง อาคารดังต่อไปนี้

(๑) อาคารชุดที่มีจำนวนห้องสำหรับใช้เป็นที่อยู่อาศัยรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๕๐๐ ห้องนอนขึ้นไป

(๒) โรงแรมที่มีจำนวนห้องสำหรับใช้เป็นห้องพักรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๒๐๐ ห้องขึ้นไป

(๓) โรงพยาบาลของทางราชการ รัฐวิสาหกิจหรือสถานพยาบาล ตามกฎหมายว่าด้วยสถานพยาบาลที่มีเตียงสำหรับผู้ป่วยไว้ค้างคืนรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๓๐ เตียงขึ้นไป

(๔) อาคารโรงเรียนเอกชน โรงเรียนของทางราชการ สถาบันอุดมศึกษาของเอกชน หรือสถาบันอุดมศึกษาของทางราชการที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๒๕,๐๐๐ ตารางเมตรขึ้นไป

(๕) อาคารที่ทำการของทางราชการ รัฐวิสาหกิจ องค์การระหว่างประเทศ หรือของเอกชนที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๕๕,๐๐๐ ตารางเมตรขึ้นไป

(๖) อาคารของศูนย์การค้าหรือห้างสรรพสินค้าที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๒๕,๐๐๐ ตารางเมตรขึ้นไป

(๗) ตลาดที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๒,๕๐๐ ตารางเมตรขึ้นไป

(๘) ภัตตาคารหรือร้านอาหารที่มีพื้นที่ให้บริการรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๒,๕๐๐ ตารางเมตรขึ้นไป

ข้อ ๕ อาคารประเภท ข. หมายความถึง อาคารดังต่อไปนี้

(๑) อาคารชุดที่มีจำนวนห้องสำหรับใช้เป็นที่อยู่อาศัยรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๑๐๐ ห้องนอน แต่ไม่ถึง ๕๐๐ ห้องนอน

(๒) โรงแรมที่มีจำนวนห้องสำหรับใช้เป็นห้องพักรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๖๐ ห้อง แต่ไม่ถึง ๒๐๐ ห้อง

(๓) หอพักที่มีจำนวนห้องสำหรับใช้เป็นที่อยู่อาศัยรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๒๕๐ ห้องขึ้นไป

(๔) สถานบริการที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๕,๐๐๐ ตารางเมตรขึ้นไป

(๕) โรงพยาบาลของทางราชการ รัฐวิสาหกิจ หรือสถานพยาบาล ตามกฎหมายว่าด้วยสถานพยาบาลที่มีเตียงสำหรับผู้ป่วยไว้ค้างคืนรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๑๐ เตียง แต่ไม่ถึง ๓๐ เตียง

(๖) อาคารโรงเรียนเอกชน โรงเรียนของทางราชการ สถาบันอุดมศึกษาของเอกชน หรือสถาบันอุดมศึกษาของทางราชการที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๕,๐๐๐ ตารางเมตร แต่ไม่ถึง ๒๕,๐๐๐ ตารางเมตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(๗) อาคารที่ทำการของทางราชการ รัฐวิสาหกิจ องค์การระหว่างประเทศ หรือของเอกชน ที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๑๐,๐๐๐ ตารางเมตร แต่ไม่ถึง ๕๕,๐๐๐ ตารางเมตร

(๘) อาคารของศูนย์การค้าหรือห้างสรรพสินค้าที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๕,๐๐๐ ตารางเมตร แต่ไม่ถึง ๒๕,๐๐๐ ตารางเมตร

(๙) ตลาดที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๑,๕๐๐ ตารางเมตร แต่ไม่ถึง ๒,๕๐๐ ตารางเมตร

(๑๐) ภัตตาคารหรือร้านอาหารที่มีพื้นที่ให้บริการรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคาร ตั้งแต่ ๕๐๐ ตารางเมตร แต่ไม่ถึง ๒,๕๐๐ ตารางเมตร

ข้อ ๖ อาคารประเภท ค. หมายความถึง อาคารดังต่อไปนี้

(๑) อาคารชุดที่มีจำนวนห้องสำหรับใช้เป็นที่อยู่อาศัยรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคาร ไม่ถึง ๑๐๐ ห้องนอน

(๒) โรงแรมที่มีจำนวนห้องสำหรับใช้เป็นห้องพักรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคาร ไม่ถึง ๖๐ ห้อง

(๓) หอพักที่มีจำนวนห้องสำหรับใช้เป็นที่อยู่อาศัยรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคาร ตั้งแต่ ๕๐ ห้อง แต่ไม่ถึง ๒๕๐ ห้อง

(๔) สถานบริการที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๑,๐๐๐ ตารางเมตร แต่ไม่ถึง ๕,๐๐๐ ตารางเมตร

(๕) อาคารที่ทำการของทางราชการ รัฐวิสาหกิจ องค์การระหว่างประเทศ หรือของเอกชน ที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๕,๐๐๐ ตารางเมตร แต่ไม่ถึง ๑๐,๐๐๐ ตารางเมตร

(๖) ตลาดที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคารหรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๑,๐๐๐ ตารางเมตร แต่ไม่ถึง ๑,๕๐๐ ตารางเมตร

(๗) ภัตตาคารหรือร้านอาหารที่มีพื้นที่ให้บริการรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคาร ตั้งแต่ ๒๕๐ ตารางเมตร แต่ไม่ถึง ๕๐๐ ตารางเมตร

ข้อ ๗ อาคารประเภท ง. หมายความถึง อาคารดังต่อไปนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(๑) หอพักที่มีจำนวนห้องสำหรับใช้เป็นที่อยู่อาศัยรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคาร ตั้งแต่ ๑๐ ห้อง แต่ไม่ถึง ๕๐ ห้อง

(๒) ตลาดที่มีพื้นที่ใช้สอยรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคารตั้งแต่ ๕๐๐ ตารางเมตร แต่ไม่ถึง ๑,๐๐๐ ตารางเมตร

(๓) ภัตตาคารหรือร้านอาหารที่มีพื้นที่ให้บริการรวมกันทุกชั้นของอาคาร หรือกลุ่มของอาคาร ตั้งแต่ ๑๐๐ ตารางเมตร แต่ไม่ถึง ๒๕๐ ตารางเมตร

ข้อ ๘ อาคารประเภท จ. หมายความถึง ภัตตาคารหรือร้านอาหารที่มีพื้นที่ให้บริการรวมกันทุกชั้นไม่ถึง ๑๐๐ ตารางเมตร

ข้อ ๙ มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคาร ประเภท ก. ต้องมีค่าดังต่อไปนี้

(๑) ความเป็นกรดและด่าง (PH) ต้องมีค่าระหว่าง ๕-๙

(๒) บีโอดี (BOD) ต้องมีค่าไม่เกิน ๒๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๓) สารแขวนลอย (Suspended Solids) ต้องมีค่าไม่เกิน ๓๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๔) ซัลไฟด์ (Sulfide) ต้องมีค่าไม่เกิน ๑.๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๕) สารที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Dissolved Solids) ต้องมีค่าเพิ่มขึ้นจากปริมาณสารละลายในน้ำใช้ตามปกติไม่เกิน ๕๐๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๖) ตะกอนหนัก (Settleable Solids) ต้องมีค่าไม่เกิน ๐.๕ มิลลิลิตรต่อลิตร

(๗) น้ำมันและไขมัน (Fat Oil and Grease) ต้องมีค่าไม่เกิน ๒๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๘) ทีเคเอ็น (TKN) ต้องมีค่าไม่เกิน ๓๕ มิลลิกรัมต่อลิตร

ข้อ ๑๐ มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคาร ประเภท ข. ต้องเป็นไปตามข้อ ๙ เว้นแต่

(๑) บีโอดี ต้องมีค่าไม่เกิน ๓๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๒) สารแขวนลอย ต้องมีค่าไม่เกิน ๔๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

ข้อ ๑๑ มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคาร ประเภท ค. ต้องเป็นไปตามข้อ ๙ เว้นแต่

(๑) บีโอดี ต้องมีค่าไม่เกิน ๔๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๒) สารแขวนลอย ต้องมีค่าไม่เกิน ๕๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๓) ซัลไฟด์ ต้องมีค่าไม่เกิน ๓.๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๔) ค่าทีเคเอ็น ต้องมีค่าไม่เกิน ๔๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

ข้อ ๑๒ มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคาร ประเภท ง. ต้องเป็นไปตามข้อ ๙ เว้นแต่

(๑) บีโอดี ต้องมีค่าไม่เกิน ๕๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๒) สารแขวนลอย ต้องมีค่าไม่เกิน ๕๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๓) ซัลไฟด์ ต้องมีค่าไม่เกิน ๔.๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๔) ค่าทีเคเอ็น ต้องมีค่าไม่เกิน ๔๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

ข้อ ๑๓ มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคาร ประเภท จ. ต้องมีค่าดังต่อไปนี้

(๑) ความเป็นกรดและด่างต้องมีค่าระหว่าง ๕-๙

(๒) บีโอดี ต้องมีค่าไม่เกิน ๒๐๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๓) สารแขวนลอย ต้องมีค่าไม่เกิน ๖๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

(๔) น้ำมันและไขมัน ต้องมีค่าไม่เกิน ๑๐๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

ข้อ ๑๔ การตรวจสอบมาตรฐานการระบายน้ำทิ้งจากอาคาร ให้ใช้วิธีการดังต่อไปนี้

(๑) การตรวจสอบค่าความเป็นกรดและด่างให้กระทำโดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดและด่างของน้ำ (PH Meter)

(๒) การตรวจสอบค่าบีโอดีให้กระทำโดยใช้วิธีการอะไซด์โมดิฟิเคชั่น (Azide Modification) ที่อุณหภูมิ ๒๐ องศาเซลเซียส เป็นเวลา ๕ วัน ติดต่อกันหรือวิธีการอื่นที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษให้ความเห็นชอบ

(๓) การตรวจสอบค่าสารแขวนลอยให้กระทำโดยใช้วิธีการกรองผ่านกระดาษกรองใยแก้ว (Glass Fibre Filter Disc)

(๔) การตรวจสอบค่าซัลไฟด์ให้กระทำโดยใช้วิธีการไตเตรท (Titrate)

(๕) การตรวจสอบค่าสารที่ละลายได้ทั้งหมดให้กระทำโดยใช้วิธีการระเหยแห้งระหว่างอุณหภูมิ ๑๐๓ องศาเซลเซียส ถึงอุณหภูมิ ๑๐๕ องศาเซลเซียส ในเวลา ๑ ชั่วโมง

(๖) การตรวจสอบค่าตะกอนหนักให้กระทำโดยใช้วิธีการกรวยอิมฮอฟฟ์ (Imhoff cone) ขนาดบรรจุ ๑,๐๐๐ ลูกบาศก์เซนติเมตร ในเวลา ๑ ชั่วโมง

(๗) การตรวจสอบค่าน้ำมันและไขมันให้กระทำโดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย แล้วแยกหาน้ำหนักของน้ำมันและไขมัน

(๘) การตรวจสอบค่าทีเคเอ็นให้กระทำโดยใช้วิธีการเจลดาห์ล (Kjeldahl)

ข้อ ๑๕ การคิดคำนวณพื้นที่ใช้สอย จำนวนอาคารและจำนวนห้องของอาคาร หรือกลุ่มของอาคาร ให้เป็นไปตามวิธีการที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษกำหนด โดยประกาศในราชกิจจานุเบกษา

ข้อ ๑๖ วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำ ความถี่ และระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างน้ำ ให้เป็นไปตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษกำหนด โดยประกาศในราชกิจจานุเบกษา

ข้อ ๑๗ ประกาศนี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๗ พฤศจิกายน พ.ศ. ๒๕๔๘
ยงยุทธ ติยะไพรัช
รัฐมนตรีว่าการกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# ภาคผนวก ข

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ผ 1.1 น้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ที่เจริญติบโตในน้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง

| ลำดับ | เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (มก./ล.) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *Candida maltosa* | *Candida tropicalis* | *Yarrowia lipolytica* |
| 1 | 0 | 970.00 | 970.00 | 970.00 |
| 2 | 3 | 1170.00 | 1143.33 | 1046.67 |
| 3 | 6 | 1280.00 | 1233.33 | 1180.00 |
| 4 | 9 | 1316.67 | 1296.67 | 1263.33 |
| 5 | 12 | 1360.00 | 1353.33 | 1360.00 |
| 6 | 15 | 1403.00 | 1420.00 | 1473.33 |
| 7 | 18 | 1436.67 | 1493.33 | 1626.67 |
| 8 | 21 | 1473.33 | 1573.33 | 1743.33 |
| 9 | 24 | 1520.00 | 1633.33 | 1860.00 |
| 10 | 27 | 1580.00 | 1710.00 | 1936.67 |
| 11 | 30 | 1610.00 | 1760.00 | 1993.33 |
| 12 | 33 | 1630.00 | 1803.33 | 2026.67 |
| 13 | 36 | 1640.00 | 1821.33 | 2056.67 |
| 14 | 39 | 1653.33 | 1838.33 | 2073.33 |
| 15 | 42 | 1660.00 | 1853.33 | 2098.67 |
| 16 | 45 | 1673.33 | 1866.67 | 2106.67 |
| 17 | 48 | 1680.00 | 1866.67 | 2116.67 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.2 ตารางแสดงประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีในน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ *Candida maltosa*

| ลำดับ | เวลา (ชั่วโมง) | ซีโอดี (มก./ล.) | ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี (ร้อยละ) |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 2534.93 | 0.00 |
| 2 | 3 | 1986.13 | 21.65 |
| 3 | 6 | 1829.33 | 27.84 |
| 4 | 9 | 1777.07 | 29.90 |
| 5 | 12 | 1558.93 | 38.50 |
| 6 | 15 | 1019.20 | 59.79 |
| 7 | 18 | 966.93 | 61.86 |
| 8 | 21 | 924.16 | 63.54 |
| 9 | 24 | 904.67 | 64.31 |
| 10 | 27 | 872.96 | 65.56 |
| 11 | 30 | 821.76 | 67.58 |
| 12 | 33 | 642.56 | 74.65 |
| 13 | 36 | 622.56 | 75.44 |
| 14 | 39 | 530.00 | 79.09 |
| 15 | 42 | 488.96 | 80.71 |
| 16 | 45 | 403.36 | 84.09 |
| 17 | 48 | 365.87 | 85.57 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.3 ตารางแสดงประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีในน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ *Candida tropicalis*

| ลำดับ | เวลา (ชั่วโมง) | ซีโอดี (มก./ล.) | ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี (ร้อยละ) |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 2058.24 | 0.00 |
| 2 | 3 | 1904.64 | 7.46 |
| 3 | 6 | 1827.84 | 11.19 |
| 4 | 9 | 1674.24 | 18.66 |
| 5 | 12 | 1520.64 | 26.12 |
| 6 | 15 | 1059.84 | 48.51 |
| 7 | 18 | 906.24 | 55.97 |
| 8 | 21 | 701.44 | 65.92 |
| 9 | 24 | 675.84 | 67.16 |
| 10 | 27 | 522.24 | 74.63 |
| 11 | 30 | 471.04 | 77.11 |
| 12 | 33 | 368.64 | 82.09 |
| 13 | 36 | 368.64 | 82.09 |
| 14 | 39 | 368.64 | 82.09 |
| 15 | 42 | 368.64 | 82.09 |
| 16 | 45 | 368.64 | 82.09 |
| 17 | 48 | 368.64 | 82.09 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.4 ตารางแสดงประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดีในน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica*

| ลำดับ | เวลา (ชั่วโมง) | ซีโอดี (มก./ล.) | ประสิทธิภาพการบำบัดซีโอดี (ร้อยละ) |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 2339.84 | 0.00 |
| 2 | 3 | 2030.24 | 13.23 |
| 3 | 6 | 1853.44 | 20.79 |
| 4 | 9 | 1674.24 | 28.45 |
| 5 | 12 | 1495.04 | 36.11 |
| 6 | 15 | 1409.44 | 39.76 |
| 7 | 18 | 1180.84 | 49.53 |
| 8 | 21 | 890.24 | 61.95 |
| 9 | 24 | 752.64 | 67.83 |
| 10 | 27 | 522.24 | 77.68 |
| 11 | 30 | 419.84 | 82.06 |
| 12 | 33 | 368.64 | 84.25 |
| 13 | 36 | 318.64 | 86.38 |
| 14 | 39 | 291.84 | 87.53 |
| 15 | 42 | 191.84 | 91.80 |
| 16 | 45 | 154.93 | 93.38 |
| 17 | 48 | 99.84 | 95.73 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.5 ตารางแสดงประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ *Candida maltosa*

| ลำดับ | เวลา (ชั่วโมง) | ไขมันและน้ำมัน (มก./ล.) | ประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมัน (ร้อยละ) |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 1047.00 | 0.00 |
| 2 | 3 | 760.00 | 27.41 |
| 3 | 6 | 686.67 | 34.42 |
| 4 | 9 | 653.33 | 37.60 |
| 5 | 12 | 626.67 | 40.15 |
| 6 | 15 | 606.67 | 42.06 |
| 7 | 18 | 586.67 | 43.97 |
| 8 | 21 | 560.00 | 46.51 |
| 9 | 24 | 520.00 | 50.33 |
| 10 | 27 | 517.00 | 50.62 |
| 11 | 30 | 513.00 | 51.00 |
| 12 | 33 | 505.33 | 51.74 |
| 13 | 36 | 508.33 | 51.45 |
| 14 | 39 | 501.67 | 52.09 |
| 15 | 42 | 502.00 | 52.05 |
| 16 | 45 | 495.67 | 52.66 |
| 17 | 48 | 484.33 | 53.74 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.6 ตารางแสดงประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ *Candida tropicalis*

| ลำดับ | เวลา (ชั่วโมง) | ไขมันและน้ำมัน (มก./ล.) | ประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมัน (ร้อยละ) |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 1047.00 | 0.00 |
| 2 | 3 | 953.33 | 8.95 |
| 3 | 6 | 793.33 | 24.23 |
| 4 | 9 | 754.77 | 27.91 |
| 5 | 12 | 746.67 | 28.69 |
| 6 | 15 | 736.55 | 29.65 |
| 7 | 18 | 720.67 | 31.17 |
| 8 | 21 | 703.55 | 32.80 |
| 9 | 24 | 680.00 | 35.05 |
| 10 | 27 | 667.23 | 36.27 |
| 11 | 30 | 649.08 | 38.01 |
| 12 | 33 | 553.22 | 47.16 |
| 13 | 36 | 533.33 | 49.06 |
| 14 | 39 | 523.00 | 50.05 |
| 15 | 42 | 517.67 | 50.56 |
| 16 | 45 | 519.33 | 50.40 |
| 17 | 48 | 512.33 | 51.07 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.7 ตารางแสดงประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica*

| ลำดับ | เวลา (ชั่วโมง) | ไขมันและน้ำมัน (มก./ล.) | ประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมัน (ร้อยละ) |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 1047.00 | 0.00 |
| 2 | 3 | 960.00 | 8.31 |
| 3 | 6 | 872.21 | 16.69 |
| 4 | 9 | 803.33 | 23.27 |
| 5 | 12 | 708.67 | 32.31 |
| 6 | 15 | 519.00 | 50.43 |
| 7 | 18 | 404.67 | 61.35 |
| 8 | 21 | 304.67 | 70.90 |
| 9 | 24 | 289.67 | 72.33 |
| 10 | 27 | 274.33 | 73.80 |
| 11 | 30 | 261.67 | 75.01 |
| 12 | 33 | 236.00 | 77.46 |
| 13 | 36 | 223.33 | 78.67 |
| 14 | 39 | 210.33 | 79.91 |
| 15 | 42 | 201.33 | 80.77 |
| 16 | 45 | 190.11 | 81.84 |
| 17 | 48 | 180.67 | 82.74 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.8 ตารางแสดงประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีนในน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ *Candida maltosa*

| ลำดับ | เวลา (ชั่วโมง) | โปรตีน(มก./ล.) | ประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีน(ร้อยละ) |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 466.00 | 0.00 |
| 2 | 3 | 466.00 | 0.00 |
| 3 | 6 | 462.89 | 0.67 |
| 4 | 9 | 462.11 | 0.83 |
| 5 | 12 | 461.33 | 1.00 |
| 6 | 15 | 458.00 | 1.72 |
| 7 | 18 | 450.89 | 3.24 |
| 8 | 21 | 445.89 | 4.32 |
| 9 | 24 | 440.33 | 5.51 |
| 10 | 27 | 439.11 | 5.77 |
| 11 | 30 | 425.00 | 8.80 |
| 12 | 33 | 418.33 | 10.23 |
| 13 | 36 | 382.66 | 17.88 |
| 14 | 39 | 356.67 | 23.46 |
| 15 | 42 | 317.33 | 31.90 |
| 16 | 45 | 241.33 | 48.21 |
| 17 | 48 | 210.22 | 54.89 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.9 ตารางแสดงประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีนในน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ *Candida tropicalis*

| ลำดับ | เวลา (ชั่วโมง) | โปรตีน (มก./ล.) | ประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีน (ร้อยละ) |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 484.33 | 0.00 |
| 2 | 3 | 475.00 | 1.93 |
| 3 | 6 | 447.67 | 7.57 |
| 4 | 9 | 433.00 | 10.60 |
| 5 | 12 | 410.00 | 15.35 |
| 6 | 15 | 402.67 | 16.86 |
| 7 | 18 | 399.33 | 17.55 |
| 8 | 21 | 391.33 | 19.20 |
| 9 | 24 | 373.67 | 22.85 |
| 10 | 27 | 312.33 | 35.51 |
| 11 | 30 | 272.67 | 43.70 |
| 12 | 33 | 243.67 | 49.69 |
| 13 | 36 | 239.33 | 50.58 |
| 14 | 39 | 229.00 | 52.72 |
| 15 | 42 | 224.33 | 53.68 |
| 16 | 45 | 199.67 | 58.77 |
| 17 | 48 | 188.67 | 61.05 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.10 ตารางแสดงประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีนในน้ำเสียของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica*

| ลำดับ | เวลา (ชั่วโมง) | โปรตีน (มก./ล.) | ประสิทธิภาพการบำบัดโปรตีน(ร้อยละ) |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | 481.67 | 0.00 |
| 2 | 3 | 473.33 | 1.73 |
| 3 | 6 | 472.33 | 1.94 |
| 4 | 9 | 472.33 | 1.94 |
| 5 | 12 | 458.33 | 4.84 |
| 6 | 15 | 445.00 | 7.61 |
| 7 | 18 | 443.00 | 8.03 |
| 8 | 21 | 429.00 | 10.93 |
| 9 | 24 | 414.00 | 14.05 |
| 10 | 27 | 412.00 | 14.46 |
| 11 | 30 | 385.00 | 20.07 |
| 12 | 33 | 333.33 | 30.80 |
| 13 | 36 | 274.67 | 42.98 |
| 14 | 39 | 238.67 | 50.45 |
| 15 | 42 | 235.67 | 51.07 |
| 16 | 45 | 230.33 | 52.18 |
| 17 | 48 | 225.00 | 53.29 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขาสมุทรสาคร : 23/13 หมู่ 9 ต.โคกขาม อ.เมือง จ.สมุทรสาคร 74000 ประเทศไทย
Samutsakhon Branch : 23/13 Moo 9 Khokkham, Muang, Samutsakhon 74000 Thailand
Tel : (66) 0 3485 7710-15 Fax : (66) 0 3485 7709
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Fast Services

**Issue Date:** January 29, 2009
**Report No:** TR (SS) 52/01765
**Page:** 1 of 1

# TEST REPORT

| | |
|---|---|
| **Customer Name and Address** | Department of Environmental Engineering<br>Faculty of Engineering, Chulalongkorn University<br>254 Phayathai Rd., Wangmai, Pathumwan, Bangkok 10330 Thailand. |
| **Sample Description** | Yeast (*Yarrowia lipolytica*) |
| **Sample Code** | SS 52/00769 |
| **Sample Characteristic and Condition** | The sample is contained in Erlenmeyer flask sealed with cotton and aluminium foil and kept chilled, in good condition when received.<br>Quantity: One flask, volume 900 mL. |
| **Received Date** | January 16, 2009 |
| **Tested Date** | January 16 – 26, 2009 |

## Analysis Results

| Test Items | Test Results | Units | Reference Methods |
|---|---|---|---|
| **Amino acid Profile** | | | |
| Alanine | 768.13 | mg/100 g | In house method based on AOAC official Method 994.12 (2000) Detected by GC/MS |
| Arginine | <5.00 | mg/100 g | |
| Aspartic acid | 410.30 | mg/100 g | |
| Crystine | 70.99 | mg/100 g | |
| Glularnic acid | 441.38 | mg/100 g | |
| Glycine | 221.61 | mg/100 g | |
| Histidle | 607.75 | mg/100 g | |
| Hydroxylysine | <5.00 | mg/100 g | |
| Hydroxyproline | 48.80 | mg/100 g | |
| Isoleucine | 517.21 | mg/100 g | |
| Leucine | 936.76 | mg/100 g | |
| Lysine | 1276.25 | mg/100 g | |
| Methionine | 181.67 | mg/100 g | |
| Phenylalanine | 1072.47 | mg/100 g | |
| Proline | 289.88 | mg/100 g | |
| Serine | 42.83 | mg/100 g | |
| Theonine | 111.04 | mg/100 g | |
| Tryplophan | 83.61 | mg/100 g | |
| Tyrosine | 523.58 | mg/100 g | |
| Valine | 389.40 | mg/100 g | |

**Note** : test result of subcontract

Food Safety
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
CERTIFIED

**On behalf of CLT Co.,Ltd.**

**(Mr.Pakorn Saenjit)**
**Signed for Director,**
**Laboratory Service Samutsakhon Office**

**This report is certified only on the sample tested.**
**This report shall not be reproduced, except in full, without prior approval of the company.**

FM-QP-24-01-002-R03(18/08/51)P1/1-SS

รูปที่ ผ 1.1 ผลรายงานการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นที่พบในยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica*

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Fast Services

วันที่ออก : 14 พฤษภาคม 2552
เลขที่รายงาน :TR 52/13451
หน้า : 1 / 1

## ใบรายงานผลการทดสอบ

| | |
|---|---|
| ชื่อและที่อยู่ลูกค้า | ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์<br>จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพมหานคร |
| รายละเอียดตัวอย่าง | Yarrowia lipolytica |
| รหัสตัวอย่าง | 52/06858-001 |
| ลักษณะและสภาพตัวอย่าง | ภาชนะบรรจุ : ขวดแก้ว, จำนวน : 1 ขวด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 500 มิลลิลิตร.<br>อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ |
| วันที่รับตัวอย่าง | 30 เมษายน 2552 |
| วันที่ทดสอบ | 04 พฤษภาคม 2552 - 14 พฤษภาคม 2552 |

### ผลการทดสอบ

| รายการทดสอบ | ผลการทดสอบ | หน่วย | LOD | วิธีทดสอบอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|
| Ash | 0.05 | g/100g | - | AOAC (2000), 942.05 |
| Carbohydrate | < 0.01 | g/100g | - | Compendium of Methods for food analysis (2003), p2-9 |
| Crude Fiber | < 0.01 | g/100g | - | In house method :TE-CH-122 based on AOAC (2005), 978.10 |
| Fat | 0.13 | g/100g | - | AOAC (2005), 954.02 |
| Moisture | 99.39 | g/100g | - | AOAC (2005), 930.15 |
| Protein | 0.48 | g/100g | - | In house method :TE-CH-012 based on AOAC (2005), 981.10 |

อนุมัติผลโดย
(นางสาว[illegible]แสงวนิชย์ )
ผู้อำนวยการห้องปฏิบัติการ
สาขา กรุงเทพฯ

CERTIFIED

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ



รูปที่ ผ 1.2 ผลรายงานการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica*

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

วันที่ออก : 18 พฤษภาคม 2552
เลขที่รายงาน :TR 52/13887
หน้า : 1 / 1

# ใบรายงานผลการทดสอบ

| | |
|---|---|
| ชื่อและที่อยู่ลูกค้า | ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์<br>จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพมหานคร |
| รายละเอียดตัวอย่าง | Yarrowia lipolytica |
| รหัสตัวอย่าง | 52/06857-001 |
| ลักษณะและสภาพตัวอย่าง | ภาชนะบรรจุ : ขวดแก้ว ฝาโลหะ, จำนวน : 1 ขวด, น้ำหนัก/ปริมาตร : 500 มิลลิลิตร.<br>อุณหภูมิ : แช่เย็น, สภาพตัวอย่างปกติ |
| วันที่รับตัวอย่าง | 30 เมษายน 2552 |
| วันที่ทดสอบ | 04 พฤษภาคม 2552 - 18 พฤษภาคม 2552 |

## ผลการทดสอบ

| รายการทดสอบ | ผลการทดสอบ | หน่วย | LOD | วิธีทดสอบอ้างอิง |
|---|---|---|---|---|
| Niacin | 0.30 | mg/100g | - | JAOAC (1993) |
| Vitamin A | Not Detected | µg/100mL | 7.00 | In house method based on Compendium of method for food analysis (2003), p 2-95 to p 2-96 |
| Vitamin $B_6$ | 0.03 | mg/100mL | - | In house method based on J. Agric Food Chem (1984), 32, p1326 - 1331 |
| Vitamin $B_1$ | 0.04 | mg/100mL | - | In house method based on AOAC (2000), 942.23 |
| Vitamin $B_{12}$ | < 0.1 | µg/100g | - | AOAC (2005) |
| Vitamin $B_2$ | 0.025 | mg/100mL | - | In house method based on J. Agric Food Chem (1984), 32, p1326 - 1331 |

อนุมัติผลโดย

( นา[illegible]วินิชย์ )
ผู้จัดการแผนกห้องปฏิบัติการ
สาขากรุงเทพฯ

CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ

รูปที่ ผ 1.3 ผลรายงานการวิเคราะห์วิตตามินที่ตรวจพบภายในเซลล์ยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica*

ตารางที่ ผ 1.11 การย่อยสลายสารอินทรีย์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นที่ 75 มก./ล.

| ลำดับ | เวลา (นาที) | ซีโอดี (มก./ล.) |
|---|---|---|
| 1 | 0 | 72.98 |
| 2 | 10 | 67.36 |
| 3 | 20 | 50.52 |
| 4 | 30 | 44.91 |
| 5 | 40 | 44.91 |
| 6 | 50 | 39.29 |
| 7 | 60 | 33.68 |
| 8 | 70 | 28.07 |
| 9 | 80 | 22.45 |
| 10 | 90 | 22.45 |
| 11 | 100 | 22.45 |
| 12 | 110 | 16.84 |
| 13 | 120 | 16.84 |
| 14 | 180 | 16.84 |
| 15 | 240 | 5.61 |
| 16 | 300 | 5.61 |
| 17 | 480 | 0 |
| 18 | 840 | 0 |
| 19 | 1200 | 0 |
| 20 | 1560 | 0 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.12 การย่อยสลายสารอินทรีย์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นที่ 150 มก./ล.

| ลำดับ | เวลา (นาที) | ซีโอดี (มก./ล.) |
|---|---|---|
| 1 | 0 | 191.40 |
| 2 | 10 | 168.94 |
| 3 | 20 | 135.26 |
| 4 | 30 | 129.64 |
| 5 | 40 | 118.42 |
| 6 | 50 | 118.42 |
| 7 | 60 | 101.57 |
| 8 | 70 | 90.35 |
| 9 | 80 | 84.73 |
| 10 | 90 | 79.12 |
| 11 | 100 | 73.50 |
| 12 | 110 | 62.28 |
| 13 | 120 | 45.43 |
| 14 | 180 | 39.82 |
| 15 | 240 | 34.21 |
| 16 | 300 | 28.59 |
| 17 | 480 | 6.14 |
| 18 | 840 | 0 |
| 19 | 1200 | 0 |
| 20 | 1560 | 0 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.13 การย่อยสลายสารอินทรีย์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นที่ 350 มก./ล.

| ลำดับ | เวลา (นาที) | ซีโอดี (มก./ล.) |
|---|---|---|
| 1 | 0 | 328.07 |
| 2 | 10 | 300.00 |
| 3 | 20 | 229.82 |
| 4 | 30 | 196.14 |
| 5 | 40 | 121.05 |
| 6 | 50 | 94.73 |
| 7 | 60 | 92.98 |
| 8 | 70 | 66.6 |
| 9 | 80 | 54.38 |
| 10 | 90 | 52.98 |
| 11 | 100 | 36.84 |
| 12 | 110 | 33.33 |
| 13 | 120 | 26.31 |
| 14 | 180 | 24.56 |
| 15 | 240 | 24.56 |
| 16 | 300 | 24.56 |
| 17 | 480 | 19.29 |
| 18 | 840 | 0 |
| 19 | 1200 | 0 |
| 20 | 1560 | 0 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.14 การย่อยสลายสารอินทรีย์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นที่ 750 มก./ล.

| ลำดับ | เวลา (นาที) | ซีโอดี (มก./ล.) |
|---|---|---|
| 1 | 0 | 748.24 |
| 2 | 10 | 706.14 |
| 3 | 20 | 678.07 |
| 4 | 30 | 678.07 |
| 5 | 40 | 664.03 |
| 6 | 50 | 635.96 |
| 7 | 60 | 635.96 |
| 8 | 70 | 593.85 |
| 9 | 80 | 579.82 |
| 10 | 90 | 539.82 |
| 11 | 100 | 525.78 |
| 12 | 110 | 457.71 |
| 13 | 120 | 401.57 |
| 14 | 180 | 387.54 |
| 15 | 240 | 353.50 |
| 16 | 300 | 353.50 |
| 17 | 480 | 339.47 |
| 18 | 840 | 269.29 |
| 19 | 1200 | 128.94 |
| 20 | 1560 | 72.80 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.15 การย่อยสลายสารอินทรีย์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นที่ 1,500 มก./ล.

| ลำดับ | เวลา (นาที) | ซีโอดี (มก./ล.) |
|---|---|---|
| 1 | 0 | 1257.36 |
| 2 | 10 | 1208.62 |
| 3 | 20 | 1062.43 |
| 4 | 30 | 964.97 |
| 5 | 40 | 818.78 |
| 6 | 50 | 623.85 |
| 7 | 60 | 380.20 |
| 8 | 70 | 350.65 |
| 9 | 80 | 351.23 |
| 10 | 90 | 320.18 |
| 11 | 100 | 318.21 |
| 12 | 110 | 298.59 |
| 13 | 120 | 290.23 |
| 14 | 180 | 220.52 |
| 15 | 240 | 36.45 |
| 16 | 300 | 36.45 |
| 17 | 480 | 36.45 |
| 18 | 840 | 36.45 |
| 19 | 1200 | 36.45 |
| 20 | 1560 | 36.45 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ผ 1.16 การย่อยสลายสารอินทรีย์ของยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ความเข้มข้นซีโอดีเริ่มต้นที่ 2,500 มก./ล.

| ลำดับ | เวลา (นาที) | ซีโอดี (มก./ล.) |
|---|---|---|
| 1 | 0 | 2462.43 |
| 2 | 10 | 2023.85 |
| 3 | 20 | 1975.12 |
| 4 | 30 | 1828.93 |
| 5 | 40 | 1780.20 |
| 6 | 50 | 1682.74 |
| 7 | 60 | 1487.81 |
| 8 | 70 | 1321.89 |
| 9 | 80 | 1256.77 |
| 10 | 90 | 1054.23 |
| 11 | 100 | 879.40 |
| 12 | 110 | 721.51 |
| 13 | 120 | 665.98 |
| 14 | 180 | 452.76 |
| 15 | 240 | 87.56 |
| 16 | 300 | 87.56 |
| 17 | 480 | 87.56 |
| 18 | 840 | 87.56 |
| 19 | 1200 | 87.56 |
| 20 | 1560 | 87.56 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายอิสระ นนธิราช เกิดเมื่อวันที่ 1 เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2526 ที่จังหวัดสกลนคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนสกลราชวิทยานุกูล เมื่อปีการศึกษา 2544 และสำเร็จการศึกษาปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต จากภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในปีการศึกษา 2548 และได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2549

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย