

ชื่อเรื่อง	การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสในการกำจัดไขมันและน้ำมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียของโรงงานปลาต้ม
ชื่อผู้เขียน	นายสุวัฒน์ศักดิ์ ด้านศักดิ์ดา
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุฬน ชื่นบาล

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการกำจัดไขมันและน้ำมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียจากกระบวนการผลิตปลาต้มด้วยจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปส โดยคัดแยกจุลินทรีย์จากตัวอย่างดินและน้ำ จำนวน 30 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิค enrichment culture ได้จำนวน 447 ไอโซเลท จากนั้นคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสเบื้องต้น โดยทดสอบการเกิดบริเวณใสบนอาหารแข็งสูตร Tween 80 จากการทดลอง พบว่า มีจุลินทรีย์จำนวน 91 ไอโซเลท เกิดบริเวณใสและตะกอนสีขาวขุ่นรอบโคโลนี จุลินทรีย์ที่มีขนาดของบริเวณใสรอบโคโลนีตั้งแต่ 12 มิลลิเมตร ซึ่งคาดว่าจะมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ดี จำนวน 21 ไอโซเลท ถูกนำมาศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสียสังเคราะห์ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า จุลินทรีย์ไอโซเลท S13-8, N12-1 และ N10-9 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันได้ดีที่สุด จากนั้นทำการตรวจสอบค่ากิจกรรมจำเพาะ (specific activity) ของเอนไซม์ไลเปส พบว่า ไอโซเลท N10-9 มีค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส สูงสุด เท่ากับ 295.2 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ในชั่วโมงที่ 24 ในขณะที่ ไอโซเลท N12-1 มีค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสสูงสุด เท่ากับ 251.9 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ในชั่วโมงที่ 18 และ S13-8 เท่ากับ 220.1 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ในชั่วโมงที่ 24

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายไขมันและน้ำมัน โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสมทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย คือ น้ำเสียมีปริมาณไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ ร้อยละ 20 ของน้ำเสียทั้งหมด มีการปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 9.0 โดยเติมเชื้อจุลินทรีย์ผสมทั้ง 3 ไอโซเลท ร้อยละ 1 ของน้ำเสียทั้งหมด และมีความเร็วรอบในการกวนผสม เท่ากับ 200 รอบต่อนาที จากนั้นทำการสร้างระบบแยกและย่อยไขมันเพื่อนำไปใช้ร่วมกับระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานปลาต้ม ซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วน

ถังแยก ทำหน้าที่แยกส่วนของน้ำ ไขมันและน้ำมันรวมทั้งของแข็งออกจากกัน และ ส่วนของถังย่อยไขมัน ทำหน้าที่ย่อยไขมันและน้ำมันโดยจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปส

เมื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพของถังแยกไขมันของระบบแยกและย่อยไขมัน โดยใช้ น้ำเสียจากโรงงานปลาสำเสร็จรันทน ตำบลบ้านสาาง อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา จำนวน 150 ลิตร ซึ่งมีปริมาณไขมันและน้ำมัน เท่ากับ 160.40 กรัมต่อลิตร พบว่า ถังแยกมีประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันและน้ำมัน เท่ากับ ร้อยละ 99.57 โดยน้ำเสียที่ออกจากถังแยกมีปริมาณไขมันและน้ำมันเท่ากับ 0.69 กรัมต่อลิตร และจากการศึกษาประสิทธิภาพของถังย่อยไขมันของระบบแยกและย่อยไขมัน โดยใช้ น้ำเสียเป็นเวลานาน 13 วัน พบว่า ถังย่อยไขมันมีประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันและน้ำมัน เท่ากับ ร้อยละ 96.82 และมีประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดี เท่ากับ ร้อยละ 70.83

จากนั้นทำการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสียทั้ง 3 ไอโซเลท ด้วยเทคนิคการหาลำดับเบสของยีน 16S rRNA พบว่า ไอโซเลท N10 – 9 คือ *Pseudomonas stutzeri* ส่วนไอโซเลท N12 – 1 คือ *Acinetobacter baumannii* และไอโซเลท S13 – 8 คือ *Bacillus cereus* จากผลการทดลองที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันปนเปื้อนจากอุตสาหกรรมอื่น ๆ ต่อไป

Title	A study on efficiency of lipase – producing microorganisms for removal fat and oil contaminated in fish fermented plant wastewater
Author	Mr. Suwatsak Dansakda
Degree of	Master of Science in Biotechnology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Tapan Cheunbarn

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the fat and oil degradation from wastewater in the fermented fish process. The lipase – producing microorganisms was isolated from fermented fish process from thirty soil and water samples using enrichment culture technique. It was found that four hundred and forty - seven isolates were able to grow on olive oil agar. Then, the primary screening of lipase – producing microorganisms by colonies on Tween 80 agar was detected. The result was that only ninety – one isolates showed clear zone around colony. After that, twenty – one isolates that produced more than 12 millimeters in diameter of clear zone were selected for study on efficiency of fat and oil degradation in synthetic wastewater. The finding was that three isolates: N10 -9, N12 – 1 and S13 – 8 had highest fat and oil degradation efficiency (78.97%, 72.24% and 72.12%, respectively). For lipase specific activity determination, N10 -9, N12 – 1 and S13 – 8 had 295.2, 251.9 and 220.1 unit/mg of lipase specific activity at 24, 18 and 24 h of cultivation, respectively.

The suitable condition for fat and oil degradation of consortium was further studied. The finding was that fat and oil contained wastewater was 20 percents of fat and oil, the pH level was conducted at 9. Then, 1 percent of the consortium was added and mixed with 200 rpm mixing rate. From the suitable condition, the fat and oil separation and degradation system was designed. The system consisted of 2 parts, separating tank that separated fat and oil phase from solid and water phase, and degrading tank that fat and oil were degraded using lipase - producing consortium.

The application of the fat and oil separation and degradation system for wastewater treatment was studied at Sri – ton Fish Fermented Factory (Tambon Bansang, Muang District, Phayao) for 13 days, using 150 liters of wastewater which contained 160.40 g/L fat and oil. For separating tank, it was found that removal efficiency of this tank was 99.6 percents, the effluent contained 0.69 g/L fat and oil. For degrading tank, the result showed that fat and COD removal was 96.8 and 70.8 percents, respectively.

Then, identification of three fat and oil degrading microorganism using 16S rRNA sequencing technique was studied. It was found that N10 – 9, N12 – 1 and S13 – 8 isolate was *Pseudomonas stutzeri*, *Acinetobacter baumannii* and *Bacillus cereus*, respectively. Therefore, this system can be applied to treat other fat and oil contaminated wastewater.