



**INFLUENCE OF TEMPERATURE AND NUTRIENT ON
BIOREMEDIATION OF CRUDE OIL IN SOIL
BY *CANDIDA TROPICALIS***

PORNPHAN PHANPHATRAPONG

**With compliments
of**
ปิ่นภักดิ์พนาลัย อ.ปิ่นเกล้า

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1999**

ISBN 974-662-568-3

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

3736659 SCEB/M : MAJOR : ENVIRONMENTAL BIOLOGY ;

M.Sc.(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

KEY WORDS : BIOREMEDIATION / CRUDE OIL / *CANDIDA TROPICALIS* /
TEMPERATURE / NUTRIENT / SLURRY REACTOR

PORNPHAN PHANPHATTRAPONG : INFLUENCE OF TEMPERATURE
AND NUTRIENT ON BIOREMEDIATION OF CRUDE OIL IN SOIL BY *CANDIDA
TROPICALIS*. THESIS ADVISORS : SUCHART UPATHAM Ph.D., PRAYAD
POKETHITIYOOK Ph.D. 110 p. ISBN 974-662-568-3

Environmental parameters, temperature and nutrient, were investigated as the influencing factors on the bioremediation of Tapis crude oil in soil by the yeast *Candida tropicalis*. In this study, all experiments were performed in the designed slurry reactors and incubated for 50 days in the dark. The temperature points of 20°, 30°, and 40°C were selected for studying the influence of temperature. The results showed that the highest level of crude oil removal by *C. tropicalis* was obtained at 30°C (78.18%); lower levels of removal were achieved at 40°C (73.63%) and 20°C (71.76%). The major peak hydrocarbon (MPHC: C₉-C₃₀) removal percentages were 69.69, 77.97 and 73.47% at 20°, 30°, and 40°C, respectively. The rates of crude oil degradation by *C. tropicalis* in soil were 0.61, 0.66, and 0.63 mg/day at 20°, 30°, and 40°C, respectively. Abiotic loss process also affected the degradation of crude oil. The removal percentages of crude oil under abiotic loss were 56.09, 59.60, and 56.24% at 20°, 30°, and 40°C, respectively. Nutrient supplementation was conducted by the addition of nitrogen as NH₄Cl and phosphorus as K₂HPO₄. The results indicated that the addition of nutrient stimulated the rate and extent of hydrocarbon degradation. The removal percentages of crude oil with added nutrient were 84.59, 88.13, and 84.94% at 20°, 30°, and 40°C, respectively. The average rate of hydrocarbon degradation of the system with added nutrient (0.73 mg/day) was higher than that obtained from the system without added nutrient (0.63 mg/day). The results showed that nutrient supplementation provided stronger effect on crude oil biodegradation than temperature modification factor. Furthermore, the results also exhibited the potential of the designed reactors for soil treatment and recovery from hydrocarbon contamination.

Copyright by Mahidol University

3736659 SCEB/M : สาขาวิชา : ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม ; วท.ม. (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

พรพรรณ พรหมภัทรพงษ์ : ผลกระทบของอุณหภูมิและธาตุอาหารต่อการบำบัดน้ำมันดิบ
ในดิน โดยยีสต์ *Candida tropicalis* (INFLUENCE OF TEMPERATURE AND NUTRIENT ON
BIOREMEDIATION OF CRUDE OIL IN SOIL BY *CANDIDA TROPICALIS*) คณะกรรมการ
ควบคุมวิทยานิพนธ์ : สุชาติ อุปถัมภ์ Ph.D. , ประหยัด โภคฐิติยุกต์ Ph.D. 110 หน้า
ISBN 974-662-568-3

ในการทดลองครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาอุณหภูมิและธาตุอาหารซึ่งเป็นปัจจัยหลักทางสภาวะ
แวดล้อมที่มีผลกระทบต่อการบำบัดน้ำมันดิบในดิน โดยยีสต์ *Candida tropicalis* โดยทำการศึกษา
ใน slurry reactor ซึ่งออกแบบขึ้นมาเพื่อใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นเวลา 50 วัน ในบริเวณไม่มีแสง
เพื่อศึกษาถึงผลกระทบของอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 20°, 30°, และ 40°C ผลการทดลองพบว่า
Candida tropicalis สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30°C (78.18%) ส่วนที่อุณหภูมิ
40° และ 20°C เปอร์เซ็นต์ของการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ลดลง คือเท่ากับ 73.63 และ 71.76% ตาม
ลำดับ ขณะที่เปอร์เซ็นต์การย่อยสลายของสารไฮโดรคาร์บอนสายตรงในน้ำมันดิบ (C₉-C₃₀) มีค่าสูง
สุดที่ 30°C เช่นกัน คือ เท่ากับ 77.97% ส่วนที่อุณหภูมิ 40°C และ 20°C เปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย
ของสารไฮโดรคาร์บอนสายตรงในน้ำมันดิบเท่ากับ 73.47 และ 69.69% ตามลำดับ อัตราการย่อย
สลายของน้ำมันดิบในดินโดย *Candida tropicalis* มีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 30°C (0.66 มิลลิกรัมต่อวัน)
และลดลงที่อุณหภูมิ 40°C (0.63 มิลลิกรัมต่อวัน) และ 20°C (0.61 มิลลิกรัมต่อวัน) นอกจากนี้
การย่อยสลายของน้ำมันดิบในดินยังสามารถเกิดขึ้นได้โดยวิธีทางกายภาพ เปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย
ของน้ำมันดิบโดยวิธีทางกายภาพที่อุณหภูมิ 20° 30° และ 40°C มีค่าใกล้เคียงกัน คือ 56.09, 59.60
และ 56.24% ตามลำดับ จากการศึกษาผลกระทบของธาตุอาหารต่อการบำบัดน้ำมันดิบในดิน โดย
เติมไนโตรเจนในรูปของ NH₄Cl และฟอสฟอรัสในรูปของ K₂HPO₄ พบว่าการเติมธาตุอาหารช่วย
ในการเร่งทั้งปริมาณและอัตราเร็วของการย่อยสลายน้ำมันดิบในดิน โดยเปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย
น้ำมันดิบ คือ 84.59, 88.13 และ 84.94% ที่อุณหภูมิ 20°, 30° และ 40°C ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของ
อัตราการย่อยสลายน้ำมันดิบในระบบบำบัดที่เติมธาตุอาหาร (0.73 มิลลิกรัมต่อวัน) มีค่าสูงกว่า
ระบบบำบัดที่ไม่มีเติมธาตุอาหาร (0.63 มิลลิกรัมต่อวัน) จากการศึกษาปัจจัยทั้งสองร่วมกัน พบ
ว่าการเติมธาตุอาหารช่วยเพิ่มการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีกว่าการควบคุมอุณหภูมิ นอกจากนี้ยัง
พบว่า slurry reactor ที่ออกแบบขึ้นมาใช้ในการทดลองนี้มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำมันดิบใน
ดินได้