

## บทที่ 1

### บทนำ

ไขมันเป็นสารประกอบอินทรีย์หลักที่พบในน้ำเสียที่ปล่อยจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร ร้านอาหาร และแหล่งชุมชนอันเกิดจากการประกอบอาหาร นอกจากนี้สาเหตุการปนเปื้อนไขมันในน้ำเกิดจากกิจกรรมร้านอาหารของสถานบริการน้ำมันเชื้อเพลิง (กรมควบคุมมลพิษ, 2546; กรมควบคุมมลพิษ, 2551) ไขมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียจะแยกชั้นจากชั้นน้ำและรวมตัวเป็นแผ่นฟิล์มบางลอยปกคลุมบนผิวน้ำ เป็นสาเหตุให้ออกซิเจนไม่สามารถละลายลงในน้ำได้ ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ ทำให้น้ำเน่าเสียและก่อให้เกิดปัญหาทางสุขาภิบาล (Chipasa และ Medrzycka, 2006; Yoo และคณะ, 2011) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องกำจัดไขมันก่อนที่จะปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ จากปัญหาที่เกิดขึ้นทำให้กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (2549) ได้กำหนดค่ามาตรฐานน้ำทิ้งให้มีค่าไขมันและน้ำมันไม่เกิน 15 มิลลิกรัมต่อลิตร

การบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนไขมันโดยทั่วไปจะใช้บ่อดักไขมัน ซึ่งเป็นวิธีที่แยกชั้นไขมันออกจากน้ำเสียด้วยหลักการทำให้ไขมันลอยขึ้นสู่ผิวน้ำและกวาดไขมันที่ลอยแยกชั้นไปทิ้ง ซึ่งตะกอนไขมันดังกล่าวจะส่งกลิ่นเหม็นในบริเวณที่ไปทิ้งและน้ำทิ้งจากบ่อดักไขมันยังคงมีไขมันหลงเหลือปนอยู่กับน้ำเสีย ดังนั้นเพื่อลดปัญหาและเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียที่มีอยู่ การประยุกต์ใช้ระบบบำบัดทางชีวภาพร่วมด้วยจึงมีความจำเป็น เพื่อปรับปรุงคุณภาพของน้ำทิ้งให้ดีขึ้น และสามารถบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันได้อย่างสมบูรณ์

การบำบัดทางชีวภาพ (Bioremediation) สามารถกำจัดไขมันโดยอาศัยกิจกรรมของแบคทีเรียย่อยสลายไขมันและใช้เป็นแหล่งของพลังงานและคาร์บอนในการเจริญ (Matsui และคณะ, 2005) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง มีความปลอดภัยสูง เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และมีค่าใช้จ่ายในการดำเนินการต่ำ (Chatterjee และคณะ, 2008) โดยแบคทีเรียสร้างเอนไซม์ไลเปสออกมานอกเซลล์ เพื่อเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของไขมันไปเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอลนำไปสู่การย่อยสลายไขมันอย่างสมบูรณ์ การประยุกต์ใช้แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพย่อยสลายไขมันเป็นคุณสมบัติสำคัญที่ทำให้เกิดการบำบัดทางชีวภาพอย่างมีประสิทธิภาพ โดยในปี 2554 นางสาววัลย์สันต์ ว่องวงศ์ศรี ได้คัดแยก *Serratia* sp. สายพันธุ์ W4-01 จากดินปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม ประเทศไทย จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสายพันธุ์ W4-01 สามารถย่อยสลายไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เติมสารอาหารได้ 58 เปอร์เซ็นต์ และไม่เติมสารอาหารได้ 48 เปอร์เซ็นต์จากความเข้มข้นเริ่มต้น 70 กรัมต่อลิตร ในเวลา 60 วัน ในสภาวะที่ไม่เติมอากาศ นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ของ W4-01 มีสมบัติความไม่ชอบน้ำ (Hydrophobicity) กับน้ำมันดีเซลสูงถึง 95 เปอร์เซ็นต์ จากสมบัติดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า *Serratia* sp. สายพันธุ์ W4-01 เป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพย่อยสลายไขมัน และมีความน่าสนใจนำสายพันธุ์ W4-01 มาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์แบคทีเรียพร้อมใช้รูปแบบอัดเม็ด เพื่อนำไปใช้บำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมัน เนื่องจากแบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ดสะดวกต่อการใช้งานและมีน้ำหนักเบา จึงง่ายต่อการเก็บรักษาและการขนส่ง มีอายุการเก็บรักษายาวนาน และยังคงมีประสิทธิภาพย่อยสลายไขมันตลอดการเก็บรักษาจึงทำให้การผลิตแบคทีเรียอัดเม็ดเป็นวิธีการหนึ่งที่มีความน่าสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมัน

ซึ่งในปัจจุบันมีการจัดจำหน่ายผลิตภัณฑ์แบคทีเรียอัดเม็ดที่ผลิตทั้งในและต่างประเทศโดยส่วนใหญ่เป็นหัวเชื้อรูปแบบผสมและเป็นแบคทีเรียแกรมบวก และมีการเติมเอนไซม์และสารเร่งปฏิกิริยา เพื่อช่วยเพิ่มความสามารถการย่อยสลาย โดยงานวิจัยนี้ได้ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์เพียง 1 ชนิดคือ *Serratia* sp. สายพันธุ์ W4-01 และเป็นแบคทีเรียแกรมลบในการผลิตเป็นแบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ด เนื่องจากผนังเซลล์ส่วนนอก (Outer membrane) ของแบคทีเรียแกรมลบมีสมบัติความไม่ชอบน้ำ (Bos และคณะ, 2007) ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมัน นอกจากนี้ยังไม่เคยมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการผลิตแบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ดที่เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์ 1 สายพันธุ์ และเป็นแบคทีเรียแกรมลบไปใช้ในการย่อยสลายไขมันที่ปนเปื้อนในน้ำ โดยงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่นำเสนอการผลิตแบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ดโดยใช้แบคทีเรียแกรมลบ และเป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์สำหรับการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมัน

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการผลิตหัวเชื้อแบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ด *Serratia* sp. สายพันธุ์ W4-01 และพัฒนาวิธีการใช้แบคทีเรียอัดเม็ดที่มีประสิทธิภาพย่อยสลายไขมัน มีอายุการเก็บรักษายาวนาน และคงประสิทธิภาพย่อยสลายไขมัน สำหรับวิธีการใช้แบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ดทำได้ด้วยการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียในน้ำประปา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยใช้แบคทีเรียอัดเม็ดเป็นหัวเชื้อเพื่อใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมัน นอกจากนี้ได้ตรวจติดตามการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันด้วยเทคนิคชีววิทยาโมเลกุล ซึ่งเป็นวิธีการที่รวดเร็ว มีความถูกต้องและความแม่นยำสูงได้แก่ การศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชาคมแบคทีเรียด้วยวิธี PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (PCR-DGGE) (Ma และคณะ, 2009) และพัฒนาวิธีการตรวจติดตามแบคทีเรียที่ย่อยสลายไขมัน โดยการออกแบบไพรเมอร์สำหรับ real-time PCR ที่สามารถตรวจติดตามแบคทีเรียย่อยสลายไขมัน ทั้งแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงได้และแบคทีเรียที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการ

#### วัตถุประสงค์

พัฒนาและศึกษาการใช้แบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ด *Serratia* sp. สายพันธุ์ W4-01 และใช้ย่อยสลายไขมันในน้ำเสียชุมชน

#### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ผลิตภัณฑ์แบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ดของ *Serratia* sp. สายพันธุ์ W4-01 และสามารถใช้อย่อยสลายไขมันในน้ำเสียชุมชน

## ภาพรวมของงานวิจัย

