บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรม

2.1 ไขมันในน้ำทิ้ง (น้ำเสียที่มีไขมัน)

ไขมัน (Lipid) เป็นองค์ประกอบหลักที่พบในน้ำเสียภายในประเทศ โดยมาจากน้ำเสียจากชุมชน อันเกิดจากการประกอบอาหารและชำระล้างสิ่งสกปรกทั้งหลายภายในครัวเรือน ซึ่งมีปริมาณไขมันร้อยละ 10 ของสารอินทรีย์ทั้งหมด น้ำทิ้งจากเทศบาล มีปริมาณไขมันร้อยละ 30-40 ของค่าซีโอดีทั้งหมด น้ำเสียจากบ้านเรือนและสำนักงาน มีปริมาณไขมัน 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และสถานประกอบการร้านอาหาร มีปริมาณไขมันปนเปื้อนเฉลี่ยเท่ากับ 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรมควบคุมมลพิษ, 2546) นอกจากนี้สาเหตุการปนเปื้อนไขมันในน้ำเสียเกิดจากกิจกรรมร้านอาหารของสถานีบริการน้ำมันเชื้อเพลิง (กรมควบคุมมลพิษ, 2551[b]) ไขมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียเหล่านี้จะแยกชั้นจากชั้นน้ำ เนื่องจากมีส่วนประกอบที่ไม่ละลายน้ำได้แก่ กลีเซอไรด์สเตียรอยด์ และกรดไขมัน และชั้นไขมันจะรวมตัวเป็นแผ่นฟิล์มน้ำมันบนผิวน้ำ ทำให้ขัดขวางการละลายของออกซิเจนลงในน้ำ ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ ทำให้น้ำเน่าเสียและก่อให้เกิดปัญหาทางสุขาภิบาล (Chipasa และ Medrzycka, 2006; Yooและคณะ, 2011)

2.2 การกำจัดไขมัน (Fat removal)

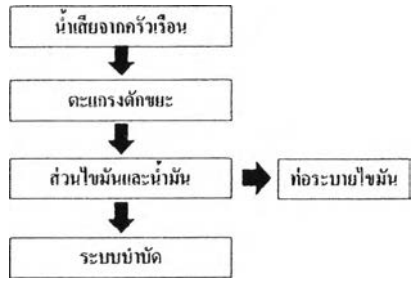
กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมได้กำหนดนโยบายในการจัดการน้ำเสีย โดยส่งเสริมให้มีการติดตั้งบ่อดักไขมัน และกำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำเสียจากชุมชน ร้านอาหาร และสถานีบริการน้ำมันเชื้อเพลิง เพื่อควบคุมความสกปรกของน้ำเสียไม่ให้ระบายออกสู่สิ่งแวดล้อมเกินมาตรฐานที่กำหนดไว้ (แสดงดังตารางที่ 2.1) ส่งผลให้ชุมชน ร้านอาหาร และสถานีบริการน้ำมันเชื้อเพลิงทุกแห่งต้องติดตั้งบ่อดักไขมัน เพื่อป้องกันไม่ให้ไขมันออกไปปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ซึ่งผลที่ตามมาคือ ทำให้มีน้ำเสียปนเปื้อนไขมันซึ่งเป็นของเสียสะสมในปริมาณมากซึ่งควรมีการจัดการต่อไป

ตารางที่ 2.1 ค่ามาตรฐานน้ำทิ้ง

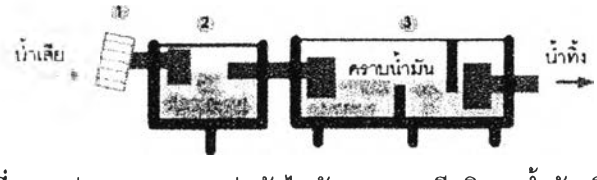
สถานที่	ความเป็นกรดด่าง	COD (มก./ล.)	BOD (มก./ล.)	ไขมันและน้ำมัน (มก./ล.)	อ้างอิง
ชุมชน	5.5-.90	-	20	5	ราชกิจจานุเบกษา, 2553
ร้านอาหาร	5.0-9.0	-	20	20	ราชกิจจานุเบกษา, 2548
สถานีบริการน้ำมัน	5.5-9.0	200	-	15	ราชกิจจานุเบกษา, 2549

วิธีการจัดการน้ำเสียปนเปื้อนไขมันตามมาตรฐานคือ บ่อดักไขมัน (Grease trap) เป็นวิธีทางกายภาพที่แยกชั้นไขมันออกจากน้ำเสียด้วยหลักการของแรงลอยตัว (Cammarota และ Freire, 2006) เพื่อไม่ให้ไขมันไหลปนออกไปกับน้ำทิ้ง โดยทั่วไปบ่อดักไขมันจะเป็นถังทรงกลมหรือสี่เหลี่ยม ประกอบด้วยแผ่นกั้นหรือระบบท่อ เพื่อแยกชั้นไขมันและน้ำออกจากกัน สำหรับประเทศไทยที่มีสภาพอากาศร้อนและอบอ้าว ทำให้การจับตัวของไขมันจะช้า ดังนั้นควรปล่อยให้ไขมันจับตัวในบ่อดักไขมันไม่น้อยกว่า 6 ชั่วโมงก่อนนำไปกำจัด ซึ่งบ่อดักไขมันจะสามารถกำจัดไขมันได้ประมาณร้อยละ 60 หากได้รับการดูแลและการจัดการที่ดี (กรมควบคุมมลพิษ, 2546)

โดยน้ำเสียที่ถูกปล่อยออกมาจะไหลลงสู่บ่อดักไขมันผ่านตะแกรงดักขยะซึ่งทำหน้าที่แยกเศษอาหารที่ปะปนมากับน้ำเสีย ไม่ให้เศษอาหารเข้าสู่ระบบบำบัด จากนั้นน้ำเสียจะไหลเข้าสู่บ่อดักไขมัน โดยไขมันที่แยกตัวออกจากน้ำเสียจะลอยขึ้นเป็นชั้นเหนือน้ำ ซึ่งสามารถตักไขมันส่วนนี้ออกไปกำจัดด้วยวิธีที่เหมาะสม และน้ำเสียที่อยู่ใต้ชั้นไขมันจะไหลลงสู่ท่อระบายน้ำผ่านเข้าสู่ถังบำบัดขั้นต่อไป ก่อนปล่อยออกสู่ท่อระบายน้ำเสีย (ดังแสดงในรูปที่ 2.1) (กรมควบคุมมลพิษ, 2551[a]) สำหรับสถานีบริการน้ำมันเชื้อเพลิงจะมีองค์ประกอบเพิ่มเติมคือ บ่อพักตะกอนดินและทราย เพื่อให้ดินและทรายตกตะกอนลงที่ก้นบ่อ และน้ำเสียจะไหลเข้าสู่บ่อดักไขมันต่อไป (ดังแสดงในรูปที่ 2.2) (กรมควบคุมมลพิษ, 2551[b]) อย่างไรก็ตามน้ำทิ้งจากบ่อดักไขมันยังคงมีไขมันหลงเหลือปนอยู่กับน้ำเสีย ดังนั้นการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีวภาพจึงเข้ามามีบทบาทสำคัญในการช่วยย่อยสลายไขมันในระบบบำบัด เพื่อปรับปรุงคุณภาพของน้ำทิ้งให้ดีขึ้น และสามารถบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันได้อย่างสมบูรณ์



รูปที่ 2.1 แผนภูมิการทำงานของบ่อดักไขมัน (กรมควบคุมมลพิษ, 2551[a])



รูปที่ 2.2 บ่อตะกอนและบ่อดักไขมันของสถานีบริการน้ำมันเชื้อเพลิง
(หมายเลข 1 คือ ตะแกรงดักขยะ หมายเลข 2 คือ บ่อตกตะกอน และหมายเลข 3 คือ บ่อดักไขมัน)
(กรมควบคุมมลพิษ, 2551[b])

ในปัจจุบันมีรูปแบบบ่อดักไขมัน 3 รูปแบบได้แก่ บ่อดักไขมันสำเร็จรูป บ่อดักไขมันแบบวงขอบซีเมนต์ และบ่อดักไขมันแบบคอนกรีตเสริมเหล็ก

บ่อดักไขมันสำเร็จรูป เป็นบ่อที่ทำจากไฟเบอร์กลาส น้ำหนักเบา สะดวกต่อการเคลื่อนย้ายและติดตั้ง ประกอบด้วยตะแกรงดักเศษอาหารและส่วนแยกไขมัน การติดตั้งใช้งานต้องคำนึงถึงปริมาณของบ่อดักไขมันและระยะเวลาเก็บกักที่เหมาะสมในประเทศไทยได้มีตัวแทนจัดจำหน่ายคือ บริษัท เวฟโปรดักท์ จำกัด (ประเทศไทย) ได้จัดจำหน่ายบ่อดักไขมันขนาดต่างๆ ตามลักษณะการใช้งานได้แก่ บ่อดักไขมันแบบตั้งบนดินและแบบใต้ดิน ดังแสดงในตารางที่ 2.2

(ก) (ข)

รูปที่ 2.3 บ่อดักไขมัน (ก) ชนิดตั้งพื้น (ข) ชนิดฝังดิน
(http://wavetank.net/grease.htm, 28 กรกฎาคม 2556)

ตารางที่ 2.2 ตารางการเลือกใช้ถังดักไขมันแบบตั้งบนดินและใต้ดิน

บ่อดักไขมัน	จำนวนคน	กว้าง (W:mm)	ยาว (L:mm)	สูง (H:mm)
แบบตั้งบนดิน	1-5	350	485	310
	6-8	350	450	360
	9-20	480	480	420
	21-60	470	650	490
แบบใต้ดิน	1-5	350	485	310
	6-8	350	450	360
	9-15	500	500	490
	16-20	480	480	420
	21-60	470	650	490

ที่มา: http://wavetank.net/grease.htm, 28 กรกฎาคม 2556

บ่อดักไขมันแบบวงขอบซีเมนต์ สร้างได้โดยใช้วงขอบซีเมนต์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 0.8-1.2 เมตร นำมาวางซ้อนกันเป็นตัวบ่อจนมีปริมาตรตามต้องการ

บ่อดักไขมันแบบใช้หล่อคอนกรีต มีขนาดค่อนข้างใหญ่ เหมาะสมกับแหล่งกำเนิดที่มีปริมาณน้ำเสียจำนวนมาก เช่น สถานที่จำหน่ายอาหารขนาดใหญ่ ร้านอาหารในโรงแรม และโรงอาหารสำหรับสถาบันขนาดใหญ่

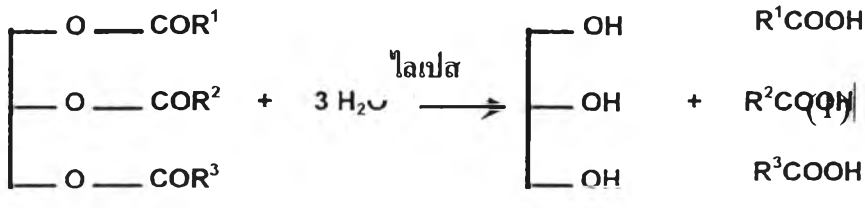
2.2.1 การบำบัดน้ำเสียที่มีไขมัน

การกำจัดไขมันในน้ำเสียโดยทั่วไป จะใช้วิธีที่ง่ายที่สุดในการกำจัด โดยเป็นวิธีบำบัดทางกายภาพ (Physical method) คือ การกวาดหรือตักไขมันที่ลอยอยู่บนผิวหน้าน้ำออก แล้วนำไขมันไปเผาหรือฝังกลบ อย่างไรก็ตามไขมันเหล่านี้จะส่งกลิ่นเน่าเหม็นในบริเวณที่ทิ้ง (Matsumiya และคณะ, 2007) ส่วนการบำบัดทางเคมี (Chemical method) ทำได้โดยการเติมสารเคมีเพื่อช่วยเร่งการตกตะกอน โดยตะกอนจะรวมตัวเป็นตะกอนขนาดใหญ่ ทำให้แยกตะกอนออกจากน้ำได้ดีและใช้เวลาในการบำบัดน้อยลง (Alther, 1998) แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ เกิดการตกค้างของสารเคมีที่ใช้ (Haritash และ Kaushik, 2009) ดังนั้นการใช้วิธีบำบัดทางชีวภาพ (Bioremediation method) จึงเป็นทางเลือกและเป็นที่นิยม โดยกระบวนการนี้ใช้จุลินทรีย์ย่อยสลายไขมัน ซึ่งจุลินทรีย์ใช้ไขมันเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานสำหรับการเจริญ (Matsui และคณะ, 2005) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง ความปลอดภัยสูง และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Boopathy, 2000)

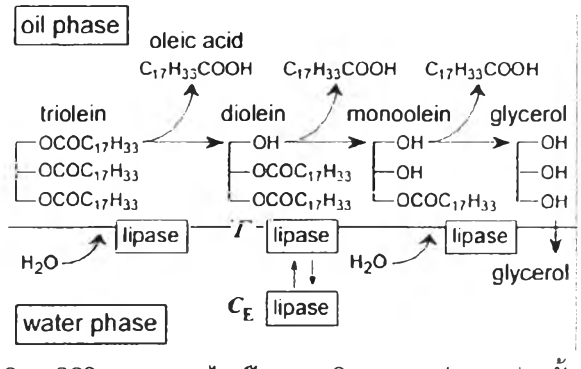
2.2.2 เอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปส (Lipase) เป็นเอนไซม์ที่จัดอยู่ในกลุ่มไฮโดรเลส (hydrolase) มีชื่อเรียกตาม International Union of Biochemistry คือ ไตรเอซิลกลีเซอรอล เอซิลไฮโดรเลส (triacylglycerol acylhydrolases) หรือกลีเซอรอลเอสเทอร์ไฮโดรเลส (glycerol ester hydrolase) และมีชื่อเรียกตามระบบตัวเลขคือ EC 3.1.1.3 (Shu และคณะ, 2009; Borkar และคณะ, 2009)

เอนไซม์ไลเปส เป็นเอนไซม์ที่ใช้เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพันธะเอสเทอร์ในไตรกลีเซอไรด์ แตกตัวเป็นกรดไขมันและกลีเซรอรอล (รูปที่ 2.4) และพบว่ามีโมโนกลีเซอไรด์และไดกลีเซอไรด์เป็นสารตัวกลางในปฏิกิริยา ปฏิกิริยานี้เกิดบริเวณรอยต่อระหว่างชั้นน้ำกับชั้นไขมัน (oil-water interface) เนื่องจากบริเวณรอยต่อนั้นเป็นบริเวณที่เอนไซม์ไลเปสละลายในน้ำ ทำให้มีโอกาสสัมผัสกับไตรกลีเซอไรด์มากขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันเพิ่มมากขึ้น (Wang และคณะ, 2010; Guncheva และ Zhiryakova, 2011; Sharma และคณะ, 2011) (รูปที่ 2.5)



รูปที่ 2.4 การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไตรกลีเซอไรด์ด้วยเอนไซม์ไลเปส ได้กลีเซอรอลและกรดไขมันเป็นผลิตภัณฑ์ (Salameh และ Wiegel, 2007)



รูปที่ 2.5 การเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสบริเวณรอยต่อระหว่างชั้นน้ำกับชั้นไขมัน (oil-water interface) (Hermansyah และคณะ, 2007)

นอกจากเอนไซม์ไลเปสเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้ ยังมีความสามารถเร่งปฏิกิริยาอื่นๆ ได้อีกหลายปฏิกิริยา (Reis และคณะ, 2009) คือ

1. ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) เป็นปฏิกิริยาที่ต้องใช้น้ำ และผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์คือ กลีเซอรอลและกรดไขมัน

$$RCOOR' + H_2O \longrightarrow RCOOH + R'OH$$

2. ปฏิกิริยาการสังเคราะห์ (Synthesis)

- ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification) เป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยเป็นปฏิกิริยาสร้างพันธะเอสเทอร์ระหว่างโมเลกุลของแอลกอฮอล์กับกรดไขมัน ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือ ไตรกลีเซอไรด์

$$RCOOH + R'OH \longrightarrow RCOOR' + H_2O$$

- ปฏิกิริยาอินเทอร์เอสเทอร์ริฟิเคชัน (Interesterification) เป็นปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับไตรกลีเซอไรด์

$$RCOOR' + R''COOR^{*} \longrightarrow R''COOR^{*} + R''COOR'$$

- ปฏิกิริยาแอลกอฮอลลิซิส (Alcoholysis) เป็นปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับไขมันแอลกอฮอล์

RCOOR' + R"OH ⟶ RCOOR" + R'OH

- ปฏิกิริยาแอซิโดไลซีส (Acidolysis) เป็นปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับกรดไขมันอิสระ

RCOOR' + R"COOH ⟶ R"COOR' + RCOOH

ไลเปส เป็นเอนไซม์ที่ผลิตจากสัตว์ พืช และจุลินทรีย์ ได้แก่ ยีสต์ รา และแบคทีเรีย (Wei และคณะ, 2009) Gunasekaran และ Das (2005) ได้รายงานจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวกจำนวน 7 สายพันธุ์คือ *Bacillus* sp. *Staphylococcus* sp. *Lactobacillus* sp. *Streptococcus* sp. *Micrococcus* sp. *Propionibacterium* sp. และ *Burkhoderia* sp. แบคทีเรียแกรมลบจำนวน 4 สายพันธุ์คือ *Pseudomonas* sp. *Chromobacterium* sp. *Acinetobacter* sp. และ *Aeromonas* sp. รา จำนวน 14 สายพันธุ์ คือ *Aspergillus* sp. *Rhizopus* sp. *Penicillum* sp. *Mucor* sp. *Ashbya* sp. *Geotrichum* sp. *Beauveria* sp. *Humicola* sp. *Rhizomucor* sp. *Fusarium* sp. *Acremonium* sp. *Alternaria* sp. *Eurotrium* sp. และ *Ophiostoma* sp. และยีสต์ จำนวน 6 สายพันธุ์ คือ *Candida* sp. *Yarrowia* sp. *Rhodotorula* sp. *Pichia* sp. *Torulospora* sp. และ*Trichosporon* sp. โดยเอนไซม์ไลเปสผลิตจากจุลินทรีย์มีข้อดี เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็ว ไม่ต้องการพื้นที่มากในการเลี้ยง ค่าใช้จ่ายการดำเนินงานต่ำ การผลิตเอนไซม์ไลเปสไม่ขึ้นกับฤดูกาล เอนไซม์ส่วนใหญ่เป็นแบบปล่อยออกนอกเซลล์ (Extracellular enzyme) ทำให้เก็บเกี่ยวและทำให้บริสุทธิ์ได้ง่าย มีความคงตัวในสารละลายอินทรีย์ มีความคงทนต่อความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิสูง มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นหลายชนิด สามารถเพิ่มผลผลิตได้ด้วยวิธีปรับปรุงพันธุกรรมของจุลินทรีย์ สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ง่าย และเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์สามารถสกัดได้ง่ายกว่าผลิตจากสัตว์ พืช ยีสต์ และรา (Hasan และคณะ, 2006; Ertugul และคณะ, 2007; Ramani และคณะ, 2010) ทำให้มีการนำเอนไซม์ไลเปสผลิตจากจุลินทรีย์ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอย่างหลากหลาย เช่น อุตสาหกรรมน้ำยาซักล้างหรือผงซักฟอก เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการซักล้าง อุตสาหกรรมผลิตยา เครื่องสำอางและยาปฏิชีวนะ อุตสาหกรรมผลิตสารลดแรงตึงผิว อุตสาหกรรมอาหาร เพื่อเพิ่มรสชาติ อุตสาหกรรมสิ่งทอ และมีศักยภาพใช้ในระบบบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันของโรงงานอุตสาหกรรม (Liu และคณะ, 2006; Colla และคณะ, 2010)

2.2.3 แบคทีเรียย่อยสลายไขมัน

2.2.3.1 ชนิดของแบคทีเรียย่อยสลายไขมัน

แบคทีเรียย่อยสลายไขมันสามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยเฉพาะในบริเวณที่มีน้ำมันและไขมันปนเปื้อน ปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนมากได้คัดแยกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมันจากตัวอย่างในสิ่งแวดล้อมเช่น ดินที่มีการปนเปื้อนไขมัน น้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของไขมัน รวมทั้งในระบบบำบัดน้ำเสีย ซึ่งใช้ไขมันจากพืชและสัตว์เป็นสารตั้งต้น ตัวอย่างสายพันธุ์ของแบคทีเรียย่อยสลายไขมันด้วยเอนไซม์ไลเปส แสดงดังตารางที่ 2.3

ตัวอย่างงานการวิจัยการคัดแยกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมัน ได้แก่ Sugimori และคณะ (2002) พบว่า *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ SOD-1 ที่คัดแยกได้จากดินที่ปนเปื้อนไขมัน สามารถย่อยสลายน้ำมันสลัดความเข้มข้น 2,000 3,000 และ5,000 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ 85, 83 และ 49.1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

รายงานการวิจัยของ Matsumiya และคณะ (2007) ศึกษาการย่อยสลายไขมันของ *Burkholderia* sp. สายพันธุ์ DW2-1 ที่คัดแยกได้จากดินในบ่อดักไขมัน สามารถย่อยสลายน้ำมันสลัด น้ำมันมะกอก น้ำมันงา และไขมันจากวัว ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรได้ 96.7, 92.3, 90.1 และ 77.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในระยะเวลา 48 ชั่วโมงและมีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสเท่ากับ 1.720 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

Rahman และคณะ (2007) พบว่า *Geobacillus zalihae* สายพันธุ์ T1 ที่คัดแยกได้จากน้ำทิ้งอุตสาหกรรมการผลิตน้ำมันปาล์ม สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอก ความเข้มข้น 2,000มิลลิกรัมต่อลิตรได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 48 ชั่วโมง

Muraoka และคณะ (2008) พบว่า *Burkholderia* sp. สายพันธุ์ Y1 ที่คัดแยกได้จากดินปนเปื้อนน้ำมันบริเวณถังดักไขมัน สามารถย่อยสลายน้ำมันสลัดความเข้มข้น 1, 5 และ 10 กรัมต่อลิตรได้ 83.1, 30.2 และ 15.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในระยะเวลา 2 วัน

Čipinytė และคณะ (2009) ได้คัดแยกแบคทีเรียจากดินและน้ำปนเปื้อนไขมันบริเวณถังดักไขมัน พบแบคทีเรียที่ย่อยสลายน้ำมันดอกทานตะวันจำนวนมาก แต่นำแบคทีเรีย 2 ชนิดที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหมู น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันมะกอก และไขมันจากวัวได้สูงสุดมาเตรียมเป็นแบคทีเรียผสมประกอบด้วยแบคทีเรีย *Enterobacter aerogenes* สายพันธุ์ E13 และ *Arthrobacter* sp. สายพันธุ์ N3 สามารถย่อยสลายน้ำมันดอกทานตะวันความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตรได้ 90 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 3 วัน

Tanaka และคณะ (2010) ศึกษาการย่อยสลายไขมันของ *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ Ud-4 ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลปนเปื้อนน้ำมัน พบว่าสามารถย่อยสลายน้ำมันคาโนลา น้ำมันมะกอก น้ำมันงา น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันหมู ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรได้ 96, 48, 60, 60 และ67เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในระยะเวลา 7 วัน นอกจากนี้สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ 67เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลา 7 วัน

Sugimori และ Utsue (2012) พบว่า *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ SS-192 ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดิน สามารถย่อยสลายน้ำมันสลัด น้ำมันหมู และไขมันจากสัตว์ ความเข้มข้น 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ 80, 64 และ 70 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และ *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ SS-219 ย่อยสลายได้ 82, 72 และ 71 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างสายพันธุ์ของแบคทีเรียและประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมัน

สายพันธุ์แบคทีเรีย	บริเวณคัดแยก	ชนิดของไขมัน	ความเข้มข้นของไขมัน	อัตราการย่อย	อัตราการผลิตไลเปส	อ้างอิง
Geobacillus thermodenitrificans สายพันธุ์ IBRLnra	บ่อน้ำพุร้อน ประเทศมาเลยเซีย	น้ำมันมะกอก	12.5 มล./ล.	100% ใน 24 ชั่วโมง	122.29 ยูนิต/มล.	Balan และคณะ, 2012
		น้ำมันปาล์ม	12.5 มล./ล.	96% ใน 24 ชั่วโมง	-	
		น้ำมันข้าวโพด	12.5 มล./ล.	90% ใน 24 ชั่วโมง	-	
		น้ำมันดอกทานตะวัน	12.5 มล./ล.	86% ใน 24 ชั่วโมง	-	
Pseudomonas gessardii สายพันธุ์ FJ943496	ดินปนเปื้อนไขมันจากวัว ประเทศอินเดีย	ไขมันจากวัว	10 มล./ล.	-	139 ยูนิต/มล.	Ramani และคณะ, 2010
Bacillus sp. สายพันธุ์ RN2	น้ำพุร้อน ประเทศไทย	-	-	-	56.2 ยูนิต/มล.	Kanjanavas และคณะ, 2010
Streptomyces coelicolor สายพันธุ์ A3(2)	-	น้ำมันข้าวโพด	5,000 มก./ล.	-	78 ยูนิต/มก.	Bielen และคณะ, 2009
		น้ำมันจมูกข้าวสาลี	5,000 มก./ล.	-	60 ยูนิต/มก.	

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างสายพันธุ์ของแบคทีเรียและประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมัน (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	บริเวณคัดแยก	ชนิดของไขมัน	ความเข้มข้นของไขมัน	อัตราการย่อย	อัตราการผลิตไลเปส	อ้างอิง
Pseudomonas aeruginosa สายพันธุ์ SRT9	ดินปนเปื้อนน้ำมันไขมันและน้ำมันปิโตรเลียม ประเทศอินเดีย	น้ำมันมะกอก	1 ก./ล.	-	12,307.8 ยูนิต/มก.	Borkar และคณะ, 2009
Burkholderiacepacia สายพันธุ์ ZYB002	ดินบริเวณผิวดิน ประเทศจีน	น้ำมันถั่วเหลือง	12.5 มล./ล.	-	6.9 ยูนิต/มล.	Shu และคณะ, 2009
Staphylococcus xylosus สายพันธุ์ LBGEL	โรงงานอุตสาหกรรมปลา ประเทศตูนิเซีย	น้ำมันมะกอก	200 มล./ล.	-	28 ยูนิต/มล.	Rebah และคณะ, 2008
Bacillus licheniformis สายพันธุ์ MTCC6824	ป่าชายเลน ประเทศอินเดีย	น้ำมันปลาซาร์ดีน	1 มล./ล.	-	41.7ยูนิต/มล.	Chakraborty และ Raj, 2008
Pseudomonas aeruginosa สายพันธุ์ PseA	ตัวอย่างดิน ประเทศอินเดีย	-	-	-	4,580 ยูนิต/มล.	Ruchi และคณะ, 2008
Serratia rubidaea	น้ำนมดิบ ประเทศอินเดีย	น้ำมันถั่วเหลือง	5 ก./ล.	-	14.8 ยูนิต/มล.	Immanuel และคณะ, 2008

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างสายพันธุ์ของแบคทีเรียย่อยสลายไขมันด้วยเอนไซม์ไลเปส (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	บริเวณคัดแยก	ชนิดของไขมัน	ความเข้มข้นของไขมัน	อัตราการย่อย	อัตราการผลิตไลเปส	อ้างอิง
Bacillus pumilis สายพันธุ์ LV01	ตัวอย่างน้ำ ประเทศโบลิเวีย	น้ำมันมะกอก	5 มล./ล.	-	0.079 ยูนิต/มล.	Guzmán และคณะ, 2008
Bacillus sp.	น้ำเสียจากการกระบวนการบดมะกอกประเทศตุรกี	หางนม	20 มล./ล.	-	168 ยูนิต/มล.	Ertugrul และคณะ, 2007
Burkholderia sp. สายพันธุ์ C20	น้ำทิ้งโรงงานอาหาร ประเทศไต้หวัน	น้ำมันมะกอก	1 มล./ล.	-	3.9 ยูนิต/มล.	Liu และคณะ, 2006
Serratia marcescens สายพันธุ์ ECU1010	-	ทวีน-80	5 ก./ล.	-	4.78 ยูนิต/มล.	Gao และคณะ, 2004
Serratia marcescens	น้ำนมดิบ ประเทศอียิปต์	-	-	-	0.107 ยูนิต/มก.	Abdou, 2003
Bacillus sphaericus สายพันธุ์ 205y	ตัวอย่างดินจากเซอร์ดัง ประเทศมาเลเซีย	น้ำมันมะกอก	2 มล./ล.	-	0.42 ยูนิต/มล.	Hun และคณะ, 2003
Aeromosan sp. สายพันธุ์ LPB4	ตะกอนดินทะเล ประเทศเกาหลี	ไตรบิวทิลิน	1 มล./ล.	-	1.5 ยูนิต/มก.	Lee และคณะ, 2003

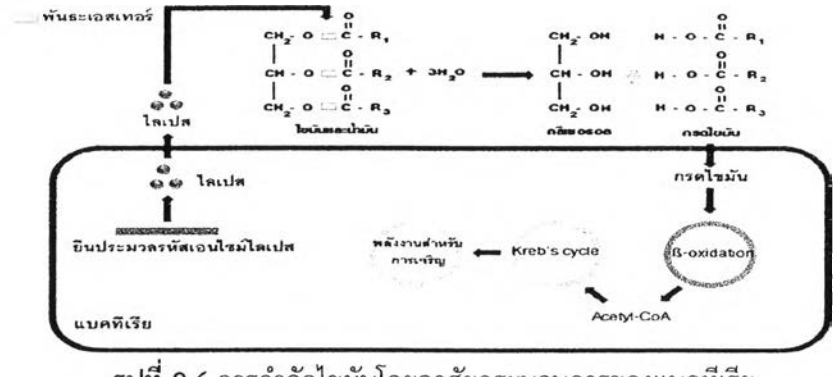
ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างสายพันธุ์ของแบคทีเรียและประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมัน (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	บริเวณคัดแยก	ชนิดของไขมัน	ความเข้มข้นของไขมัน	อัตราการย่อย	อัตราการผลิตไลเปส	อ้างอิง
เชื้อผสม ได้แก่ -*Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ LP602 -*Bacillus subtilis* สายพันธุ์ B304 -*Acinetobacter calcoaceticus* สายพันธุ์ LP009	น้ำทิ้งที่ปนเปื้อนไขมันโรงครัวของโรงพยาบาลประเทศไทย	น้ำเสียปนเปื้อนไขมันของโรงครัวของโรงพยาบาล	21 ก./ล.	99.99% ใน 12 วัน	-	Mongkoltha naruk และ Dharmsthiti, 2002
Pseudomonas sp. สายพันธุ์ 3AT	-	น้ำมันมะกอก	2 มล./ล.	-	2.748 ยูนิต/มล.	Haba และคณะ, 2000
Pseudomonas aeruginosa สายพันธุ์ ATCC 111	-	น้ำมันมะกอกและน้ำมันทานตะวัน	2 มล./ล.	-	1.704 ยูนิต/มล.	

ในปี 2554 นางสาววัลย์วสันต์ ว่องวงศ์ศรี ได้คัดแยก *Serratia* sp. สายพันธุ์ W4-01 จากดินปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม กรุงเทพมหานคร โดยใช้น้ำมันถั่วเหลือง ความเข้มข้น 1.5 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นสารตั้งต้น จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้มีความสามารถเกิดไฮโดรโฟบิกกับน้ำมันดีเซล (Hydrophobicity) เท่ากับ 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถย่อยสลายไขมันจากบ่อดักไขมันความเข้มข้น 70 กรัมต่อลิตร ในน้ำที่มีการเติมสารอาหารได้ 58.27 เปอร์เซ็นต์ และในน้ำที่ไม่มีการเติมสารอาหารได้ 48.50 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 60 วัน โดยตั้งบ่มแบบไม่เขย่าที่อุณหภูมิห้อง ยังพบว่ามีอัตราอยู่รอดเท่ากับ 66 และ 64 เปอร์เซ็นต์ในน้ำเสียปนเปื้อนน้ำมันจากสถานีบริการน้ำมัน ปตท. สาขาสนามเป้า และน้ำเสียจากบ่อดักไขมันของโรงอาหารคณะบัญชี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยตามลำดับนอกจากนี้โคโลนีสีแดงของแบคทีเรีย ทำให้สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า ทำให้ง่ายต่อการตรวจติดตาม ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจที่จะศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันและประยุกต์ใช้สายพันธุ์ W4-01 ในการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันต่อไป

2.2.3.2 วิถีการย่อยสลายไขมันการกำจัดไขมัน

โดยอาศัยกระบวนการของแบคทีเรียย่อยสลายไขมันเพื่อใช้ไขมันเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน (Matsui และคณะ, 2005) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และมีค่าใช้จ่ายในการดำเนินการต่ำ (Chatterjee และคณะ, 2008) กระบวนการย่อยสลายไขมันด้วยแบคทีเรียเริ่มจากไตรกลีเซอไรด์เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่พันธะเอสเทอร์โดยอาศัยเอนไซม์ไลเปส ทำให้แตกตัวเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล หลังจากนั้นกรดไขมันจะผ่านเข้าวิถีบีตา-ออกซิเดชัน (β-oxidation) เปลี่ยนเป็นอะซิทิล-โคเอ (Acetyl-CoA) และเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (Kreb's cycle) และได้พลังงานสำหรับการเจริญของเซลล์ออกมา (Matsui และคณะ, 2005; Matsumiya และคณะ, 2007; Ruggieri และคณะ, 2008) (รูปที่ 2.6) ส่วนกลีเซอรอลจะถูกย่อยสลายจนกระทั่งเข้าสู่วิถีไกลโคไลซีส (Glycolysis pathway) ได้เป็นฟอสโฟอีนอลไพรูเวท (phosphenolpyruvate) และเข้าวัฏจักรเครบส์ต่อไป (Hasan และคณะ, 2006)

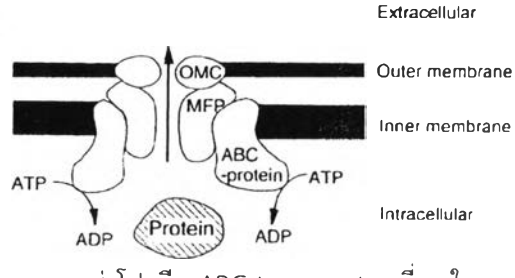


รูปที่ 2.6 การกำจัดไขมันโดยอาศัยกระบวนการของแบคทีเรีย
(Matsui และคณะ, 2005; Matsumiya และคณะ, 2007; Ruggieri และคณะ, 2008)

2.2.4 ยีนที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายไขมันของแบคทีเรีย

มีงานวิจัยที่ศึกษายีนประมวลรหัสเอนไซม์ไลเปสในจีนัส *Serratia* สายพันธุ์ต่างๆ ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยไขมันได้แก่ Akatsuka และคณะ (1994) รายงานการพบยีน *lip*A ใน *Serratia marcescens* สายพันธุ์ Sr41 8000 Long และคณะ (2007) พบยีน *lip*A ใน *Serratia marcescens* สายพันธุ์ ECU1010 และ Yao และคณะ (2008) พบยีน *SlLip*A ใน *Serratia liquefaciens* สายพันธุ์ S33 DB-1 เมื่อศึกษาลักษณะสมบัติของผลิตภัณฑ์ของยีน พบว่ามี Gly-X-Ser-X-Gly เป็นส่วนอนุรักษ์อยู่ตรงตำแหน่งเร่งปฏิกิริยา (active site) ของเอนไซม์เหมือนกัน ซึ่งเป็นลักษณะสมบัติหลักของเอนไซม์ไลเปส

นอกจากนี้ Shibatani และคณะ (2000) ได้ศึกษาการปล่อยเอนไซม์ไลเปสออกนอกเซลล์ของแบคทีเรีย *Serratia marcescens* สายพันธุ์ Sr41 8000 พบว่ามียีน *lip*BCD มีหน้าที่ช่วยในระบบการขนส่งเอนไซม์ไลเปสที่ถูกผลิตจากยีน *lip*A แล้วปล่อยออกมานอกเซลล์ผ่านวิถี N-terminal peptide-independent secretion ซึ่งประกอบด้วยโปรตีน 3 ชนิด คือ ATP-binding cassette protein (ABC-protein) Membrane fusion protein (MFP) และ Outer membrane component protein (OMC) แสดงดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ระบบการขนส่งโปรตีน ABC-transporter ที่พบในแบคทีเรียแกรมลบ (Shibatani และคณะ, 2000)

นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพย่อยสลายไขมันของเอนไซม์ไลเปส ขึ้นอยู่กับความจำเพาะต่อสารตั้งต้น ได้แก่ ความจำเพาะต่อตำแหน่งบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ ความจำเพาะต่อกรดไขมัน และความจำเพาะต่ออิแนนทิโอเมอร์ (Hasan และคณะ, 2009)

1) ความจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3 บนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ (1,3-specific lipase) โดยจะย่อยไตรกลีเซอไรด์ได้เป็นผลิตภัณฑ์คือ 1,2(2,3)-ไดกลีเซอไรด์ และ 2-โมโนกลีเซอไรด์ ซึ่งเป็นไขมันที่ไม่คงตัว เมื่อถูกบ่มเป็นระยะเวลานานจะเกิด acyl migration ได้เป็น 1,3-ไดกลีเซอรไรด์และ 1(3)- โมโนกลีเซอไรด์ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเอนไซม์ไลเปสเข้าไปย่อยสลาย เกิดเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล

ตัวอย่างจากรายงานวิจัยของ Matsumae และ Shibatani (1994) พบว่า เอนไซม์ไลเปสที่ผลิตจาก *Serratia marcescens* สายพันธุ์ Sr41 8000 สามารถย่อยสลายไตรโอเลอิน เกิดผลิตภัณฑ์คือ 1,2(2,3)-ไดโอเลอิน กรดโอเลอิก และ 2-โมโนโอเลอิน และสามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกได้ผลิตภัณฑ์คือ กลีเซอรอลและกรดไขมัน

Hasanuzzaman และคณะ (2004) พบว่า *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ T1 สามารถย่อยสลายน้ำมันสลัด ได้ผลิตภัณฑ์คือ 1,3- และ 1,2-ไดกลีเซอรอล โมโนเอซิลกลีเซอรอล และกรดไขมัน

2) ความจำเพาะต่อกรดไขมัน (Fatty acid specific lipase) เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *Bacillus* sp. สายพันธุ์ A30-1 มีความจำเพาะต่อการย่อยสลายกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 18 อะตอม และสามารถใช้น้ำมันข้าวโพด น้ำมันมะกอก น้ำมันมะพร้าว น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันจมูกข้าวสาลี น้ำมันหมู และไขมันจากวัวเป็นแหล่งคาร์บอน (Wang และคณะ, 1995)

จากรายงานวิจัยของ Lee และคณะ (1999) พบว่า เอนไซม์ไลเปสจาก *Bacillus thermoleovorans* สายพันธุ์ ID-1 มีความจำเพาะต่อการย่อยสลายกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 8 และ 10 อะตอม และสามารถใช้น้ำมันมะกอก น้ำมันถั่วเหลือง ทวีน20 และทวีน40 เป็นแหล่งคาร์บอน

Yao และคณะ (2008) ศึกษาความจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสต่อกรดไขมันที่มีความยาวโมเลกุลต่างกันได้แก่ได้แก่ กรดไขมันที่จำนวนคาร์บอน 10, 12, 14, 16 และ 18 อะตอม พบว่า*Serratia liquefaciens* สายพันธุ์ S33 DB-1 มีความจำเพาะต่อการย่อยสลายกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอน 18 อะตอมได้ดีกว่ากรดไขมันตัวอื่น

3) ความจำเพาะต่ออิแนนทิโอเมอร์คือ เอนไซม์ไลเปสมีความสามารถแยกความแตกต่างระหว่างตำแหน่ง *sn*-1 และ *sn*-3 ของไตรกลีเซอไรด์ เช่น เอนไซม์ไลเปสของ *Serratia marcescens* สายพันธุ์ ECUCU1010 มีความจำเพาะต่อสเตอริโอเคมีที่ตำแหน่ง *sn*-1 (Long และคณะ, 2007)

2.3 หัวเชื้อแบคทีเรียพร้อมใช้

ปัจจุบันมีการผลิตและจัดจำหน่ายหัวเชื้อแบคทีเรียสำเร็จรูปหรือผลิตภัณฑ์ทางจุลชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายไขมันในรูปแบบต่างๆ ได้แก่รูปแบบน้ำ แบบผง เม็ดฟู่ และก้อนแสดงดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ผลิตภัณฑ์ย่อยสลายไขมันในท้องตลาด

ชื่อ	ชนิดของจุลินทรีย์ (ลักษณะ)	การนำไปใช้	แหล่งผลิต (ผู้จัดจำหน่าย)
EmTec-WP	กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ระบุสายพันธุ์ (จุลินทรีย์สูตรน้ำ)	ลดปริมาณไขมัน ลดค่า BOD COD และของแข็งทั้งหมด ลดกากตะกอน	ประเทศสหรัฐอเมริกา (บริษัท เอ็มเทคแมเนจเม้นท์ จำกัด)
แบคโตเซล 3001	*Bacillus subtilis*และ *Bacillus licheniformis* (จุลินทรีย์สูตรน้ำ,ใช้งานได้เลย)	ช่วยย่อยสลายไขมัน กำจัดกลิ่นเหม็นที่อยู่ในบ่อดักไขมัน กำจัดคราบอุดตันตามท่อระบายน้ำ	ประเทศไทย (บริษัท ไมโครไบโอเทค จำกัด)
เซปแอลบีเอ	กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ระบุสายพันธุ์ (จุลินทรีย์สูตรน้ำ, ใช้งานได้เลย)	ช่วยย่อยสลายของเสียในท่อน้ำทิ้ง บ่อดักไขมันและบ่อบำบัดน้ำเสีย	ประเทศสหรัฐอเมริกา (บริษัท เซปแมนูแฟคเจอริ่ง)
เซป โอ-ไซม์	เป็นหัวเชื้อเอนไซม์ผสมแบคทีเรียและยีสต์ (จุลินทรีย์สูตรน้ำ, ใช้งานได้เลย)	ช่วยย่อยอินทรีย์สารหรือสิ่งปฏิกูล กำจัดกลิ่นเน่าเหม็นในระบบกำจัดน้ำเสีย ท่อไขมัน บ่อกำจัดขยะ และท่อระบายน้ำทิ้ง	ประเทศสหรัฐอเมริกา (บริษัท เซปแมนูแฟคเจอริ่ง)
ไบโอคลีน	กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ระบุสายพันธุ์ (จุลินทรีย์สูตรน้ำ, ปริมาณ 1 ล. ต่อน้ำเสีย 1,000 ล.)	กำจัดสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ สารคาร์บอน อินทรีย์ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ย่อยแป้ง น้ำตาล โปรตีน และไขมันที่ตกค้างอยู่ในน้ำเสีย	ประเทศไทย (บริษัท ไบโอคลีน จำกัด)

ตารางที่ 2.4 ผลิตภัณฑ์ย่อยสลายไขมันในท้องตลาด (ต่อ)

ชื่อ	ชนิดของจุลินทรีย์ (ลักษณะ)	การนำไปใช้	แหล่งผลิต (ผู้จัดจำหน่าย)
นาโนพลัส EN-02 และ EN-07	*Bacillus subtilistropicalensis* BSWT 1305, 1309, 1317, *Bacillus subtilistropicalensis* BSWT 2101, 2105, 2113, *Bacillus subtilistropicalensis* BSWT 3007, 3011, 3015, *Bacillus subtilistropicalensis* BSWT 5011, 5017, 5019, 5033, 5049, *Pediococcus acidophilus* PATWT 7001, *Bacillus mesentericus* BMWT 8004, *Steptoceoccus fecalis* SFWT 9002, *Candida utilis* CUWT 1703, 1707, *Saccharomyces cerevisiae* SCWT 1902, 1904 (จุลินทรีย์สูตรน้ำ, เจือจางในน้ำก่อนใช้งาน)	ลดปริมาณไขมัน ลดกลิ่น ลดค่า BOD COD และของแข็งทั้งหมด ลดกากตะกอน และฝ้าบนผิวน้ำ เร่งการย่อยสลายสารอินทรีย์	ประเทศไทย (บริษัท เจพีเอ็นเทค จำกัด)

ตารางที่ 2.4 ผลิตภัณฑ์ย่อยสลายไขมันในท้องตลาด (ต่อ)

ชื่อ	ชนิดของจุลินทรีย์ (ลักษณะ)	การนำไปใช้	แหล่งผลิต (ผู้จัดจำหน่าย)
แบคท์แมน	กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ระบุสายพันธุ์ (จุลินทรีย์สูตรน้ำ, ปริมาณ 1 ล. ต่อน้ำเสีย 500-1,000 ล.)	ลดค่า BOD และ COD กำจัดกลิ่นเหม็น ย่อยสลายคราบไขมันและกากของเสีย เพิ่มออกซิเจนและลดแอมโมเนียในน้ำ	ประเทศไทย (บริษัท ไทย ชีวภาพ จำกัด)
EM	กลุ่มจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (Photo Synthetic Bacteria) กลุ่มจุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria) กลุ่มจุลินทรีย์ยีสต์ (Yeasts) (จุลินทรีย์สูตรน้ำ)	ย่อยสลายไขมันและกากตะกอน ลดค่า BOD กำจัดกลิ่น	ประเทศไทย (บริษัท อี เอ็ม คิวเซ จำกัด)

ตารางที่ 2.4 ผลิตภัณฑ์ย่อยสลายไขมันในท้องตลาด (ต่อ)

ชื่อ	ชนิดของจุลินทรีย์ (ลักษณะ)	การนำไปใช้	แหล่งผลิต (ผู้จัดจำหน่าย)
แบคโตเซล 2001	กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ระบุสายพันธุ์ (จุลินทรีย์แบบผง, ละลายน้ำก่อนนำไปใช้งาน)	ช่วยกำจัดกลิ่นเหม็น ช่วยย่อยสลายกากของเสีย ช่วยเร่งการย่อยสลายสารอินทรีย์ ช่วยลดค่าBOD และ COD	ประเทศไทย (บริษัท ไมโครไบโอเทค จำกัด)
รีม	*Bacillus amyloliquefaciens*, *Dekkera anomala*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pichia farinose* (จุลินทรีย์แบบผง)	ย่อยสลายของเสีย กำจัดกลิ่นเน่าเหม็นหืน ย่อยสลายอินทรีย์สาร	ประเทศไทย (Actochem (Thai) Industries Co., Ltd.)
อะนา-อี พลัส	*Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pichia farinose*, *Dekkera anomala* (จุลินทรีย์แบบผง, ผสม 10 ก. ในน้ำ 4 ลิตร แล้วนำไปใช้งานโดยตรง)	ลดกลิ่นเหม็น ช่วยย่อยสลายไขมัน	ประเทศไทย (Ana The nature Co., Ltd.)

ตารางที่ 2.4 ผลิตภัณฑ์ย่อยสลายไขมันในท้องตลาด (ต่อ)

ชื่อ	ชนิดของจุลินทรีย์ (ลักษณะ)	การนำไปใช้	แหล่งผลิต (ผู้จัดจำหน่าย)
KEEEN	*Bacillus* sp. 8 สายพันธุ์ (จุลินทรีย์สูตรน้ำ, ผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:10-1:100 ขึ้นอยู่กับสภาพความสกปรกของงาน แล้วทำความสะอาดบริเวณพื้นที่ต้องการ)	ขจัดสิ่งสกปรก และคราบไขมัน ลดค่า BOD COD และของแข็งทั้งหมด	ประเทศไทย (บริษัท กรีนเจนเนอเรชั่น โปรดักส์ จำกัด)
ไบโอไดเจส	กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ระบุสายพันธุ์ (จุลินทรีย์แบบผง)	กำจัดกลิ่นเหม็น สลายก๊าซแอมโมเนียและ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ ย่อยกากของเสียที่เป็นสารอินทรีย์ กำจัดไขมันในบ่อดักไขมันหรือท่อระบายน้ำ	ประเทศไทย (หจก. แอ๊ดวานซ์บิสสิเนส อินเตอร์เทรด)
ไบโอ-7	*Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus faecalis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pichia farinose*, *Dekkera anomala* (จุลินทรีย์แบบผง)	กำจัดกลิ่น สามารถย่อยสลายไขมันและสิ่งปฏิกูล ไม่ก่อให้เกิดกลิ่นเหม็น ปราศจากสารตกค้าง	ประเทศไทย (บริษัท 9406 เอ็มแอนด์เอ็น จำกัด)

ตารางที่ 2.4 ผลิตภัณฑ์ย่อยสลายไขมันในท้องตลาด (ต่อ)

ชื่อ	ชนิดของจุลินทรีย์ (ลักษณะ)	การนำไปใช้	แหล่งผลิต (ผู้จัดจำหน่าย)
ไบโอวิสท์-พี	Lactic Acid Bacteria (LAB) 2 ชนิด *Bacillus* Bacteria 1 ชนิด และ ยีสต์ 2 ชนิด (จุลินทรีย์แบบผง)	ย่อยสลายอินทรียสาร ย่อยสลายไขมัน กำจัดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ ลดกากตะกอนส่วนเกิน	ประเทศไทย (บริษัท ไบโอวิสท์เอท์พี จำกัด)
ไบโอกรีส	กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ระบุสายพันธุ์ (จุลินทรีย์แบบผง, 10 ก. กับน้ำ 5-10 ล. ทิ้งไว้ 15-30 นาที และ นำไปใช้งานตามต้องการ)	กำจัดไขมัน กำจัดกลิ่นเหม็น กลิ่นน้ำเน่า กลิ่นสิ่งปฏิกูล กลิ่นหืน ลดค่า BOD และ COD ลดปริมาณกากตะกอนและไขมัน	ประเทศไทย (บริษัท กรีน โซลูชั่น แอนด์ เซอร์วิส จำกัด)
โรเทค104	*Bacillus* sp. 4 สายพันธุ์ (จุลินทรีย์แบบผงและสูตรน้ำ)	ลดค่า BOD และของแข็งทั้งหมด ลดไขมัน และปริมาณกากตะกอน และควบคุมกลิ่น	ประเทศสหรัฐอเมริกา (Roebic Technology Inc.)
กรีนแมจิก	กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ระบุสายพันธุ์ (จุลินทรีย์ชนิดก้อน, 1 ก้อนในน้ำเสียไม่เกิน 1,000 ล.)	ย่อยสลายสารอินทรีย์และอินทรียวัตถุ ย่อยสลายสิ่งปฏิกูลและของเสียก้นบ่อ ขจัดคราบไขมันและกากไขมัน กำจัดกลิ่นเหม็น	ประเทศไทย (บริษัท ไทย ชีวภาพ จำกัด)

ตารางที่ 2.4 ผลิตภัณฑ์ย่อยสลายไขมันในท้องตลาด (ต่อ)

ชื่อ	ชนิดของจุลินทรีย์ (ลักษณะ)	การนำไปใช้	แหล่งผลิต (ผู้จัดจำหน่าย)
ไบโอริด	กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ระบุสายพันธุ์ (จุลินทรีย์ชนิดก้อน, ใช้งานได้เลย)	ย่อยสลายกากไขมัน ขจัดคราบไขมันบนผิวน้ำ สลายฟอสเฟต ลดการรวมตัวของไขมัน ย่อยสลายสารอินทรีย์และอินทรียวัตถุ ย่อยสลายสิ่งปฏิกูลต่าง กำจัดกลิ่นเหม็น ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างในน้ำให้สมดุล	ประเทศไทย (บริษัท เจพีเอ็นเทค จำกัด)
EmTec-Septic Tank	กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ระบุสายพันธุ์ (จุลินทรีย์อัดเม็ดฟู่)	ลดปริมาณไขมัน ลดค่า BOD COD และของแข็งทั้งหมด ลดกากตะกอน	ประเทศสหรัฐอเมริกา (บริษัท เอ็มเทคแมเนจเม้นท์ จำกัด)
ริยาน่า	*Bacillus subtilis* (แบคทีเรียแบบเม็ดฟู่, ผสม 1 เม็ดละลายน้ำ 20 ล. แล้วนำไปใช้งาน)	ย่อยสลายไขมันในบ่อดักและคราบไขมัน ย่อยสลายกากอาหารและสารอินทรีย์ทุกชนิด	ประเทศแคนาดา (บริษัท ฉัตรวัฏฏ์ จำกัด)
DOS Bio Tab	กลุ่มจุลินทรีย์ไม่ระบุสายพันธุ์ (จุลินทรีย์อัดเม็ด)	ลดกลิ่นจากบ่อดักไขมันและระบบบำบัดน้ำเสีย ลดปริมาณกากไขมันและตะกอน	ประเทศสหรัฐอเมริกา (บริษัท ธรรมสรณ์ จำกัด)

แบคทีเรียสูตรน้ำ เช่น ผลิตภัณฑ์ BACT-MAN เป็นหัวเชื้อแบคทีเรียเข้มข้นที่มีสมบัติในการเร่งการย่อยสลายไขมันและกำจัดกลิ่นเหม็น ลดค่า BOD และ COD และเพิ่มออกซิเจนในน้ำ โดยวิธีการใช้คือ ใช้ BACT-MAN 200 มิลลิลิตร (1 ฝา) เทลงในบ่อดักไขมัน ถังบำบัดน้ำเสีย แล้วเทน้ำตามลงไป ควรใช้เป็นประจำ 1-2 ครั้งต่อสัปดาห์

แบคทีเรียแบบผง เช่น ไบโอไดเจส (BioDigez) (Advance Business Intertrade, LTD, Thailand) เป็นกลุ่มแบคทีเรียเข้มข้น สามารถกำจัดของเสีย และย่อยสลายไขมัน โดยไบโอไดเจส 1 ซอง น้ำหนักสุทธิ 100 กรัม มีปริมาณเชื้อ 10^8 CFU ต่อกรัม นำมาละลายในน้ำ 1 ลิตร แล้วเทลงในบ่อดักไขมัน ใช้เป็นประจำทุก 7-15 วันต่อครั้ง และผลิตภัณฑ์อะนาอีพลัส เป็นหัวเชื้อ *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pichia farinose*, *Dekkera anomala* ชนิดละ 10^7-10^8 CFU ต่อกรัม ช่วยกำจัดกลิ่นเหม็น ย่อยสลายไขมัน จากโรงงานอุตสาหกรรมและอาคารที่อยู่อาศัย ควรใช้ผงจุลินทรีย์อะนาอีพลัสผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1 กรัม:น้ำ 1 ลิตร เทลงในบริเวณที่ต้องการบำบัด

แบคทีเรียแบบก้อน เช่น ผลิตภัณฑ์กรีน เมจิก ช่วยย่อยสลายสารอินทรีย์ อินทรียวัตถุ สิ่งปฏิกูลของเสียก้นบ่อ กำจัดคราบไขมันและกากไขมัน และกำจัดกลิ่นเหม็นโดยใส่จุลินทรีย์ชนิดก้อน 1 ก้อน (240 กรัม) ในน้ำเสียไม่เกิน 1,000 ลิตร

ผลิตภัณฑ์เม็ดฟู่ EmTec-SC และ EmTec Septic Tank Fizzytabs (EmTec Management, LTD, USA) วิธีการใช้งานคือ ใส่ผลิตภัณฑ์เม็ดฟู่ลงในบริเวณบำบัดทุกวัน ภายหลังจากการบำบัด 3 วัน สามารถควบคุมกลิ่นเหม็นฟุ้งจากบ่อดักไขมัน ค่า BOD และปริมาณน้ำมันและไขมันที่มีค่าเกินมาตรฐาน ทำให้กลิ่นเหม็นหายไป และหลังจากนั้น 2 สัปดาห์ ค่า BOD จะลดลงจนอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน และการบรรจุผลิตภัณฑ์ในหนึ่งหลอดจะมีผลิตภัณฑ์ 20 เม็ด ทำให้สะดวกต่อการใช้งาน กะทัดรัดและมีน้ำหนักเบา จึงง่ายต่อการเก็บรักษาและการขนส่ง

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการผลิตหัวเชื้อแบคทีเรียพร้อมใช้ที่สะดวกต่อการใช้งาน ขนส่งสะดวก เก็บรักษาง่าย และคงประสิทธิภาพการบำบัดไขมัน จึงทำให้การผลิตแบคทีเรียอัดเม็ดเป็นวิธีการหนึ่งที่มีความน่าสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมัน มีรายงานวิจัยการนำวัสดุทางการเกษตรมาเป็นวัสดุอัดได้แก่ Cheunbarn และคณะ (2008) นำ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ Mk-8 มาอัดเม็ดผสมกับทรายละเอียด รำ กากถั่วเหลือง และแป้งข้าวเจ้า ให้มีขนาดความยาว 1 เซนติเมตร (รูปที่ 2.8) และศึกษาประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมฟอกย้อมของแบคทีเรียอัดเม็ด ในสภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าสามารถลดปริมาณสีย้อมในน้ำเสียได้เท่ากับ 96.87 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณของแข็งทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 17,690 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็น 33,400 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณของแขวนลอยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 420 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็น 17,995 มิลลิกรัมต่อลิตรในวันสุดท้ายของการทดลอง เนื่องจากการเจริญของแบคทีเรียและของเหลือจากวัสดุอัดเม็ด

รูปที่ 2.8 แบคทีเรียอัดเม็ด *Bacillus* sp. สายพันธุ์ Mk-8
(Cheunbarn และคณะ, 2008)

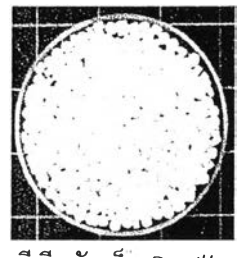
2.4 แบคทีเรียอัดเม็ดรูปแบบเม็ดยา

มีรายงานวิจัยแบคทีเรียในลักษณะรูปแบบเม็ด มีข้อดีคือ เชื้อมีความคงตัวมากกว่ารูปแบบของเหลว สามารถควบคุมปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น สะดวกต่อการขนส่ง และใช้งานและมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้ โดยแบคทีเรียรูปแบบเม็ด เป็นการเตรียมรูปแบบเม็ดด้วยการถูกตอกอัดด้วยแรงอัดสูง การตอกอัดจะเกิดขึ้นในเบ้า โดยได้รับแรงตอกจากสากบนและล่าง แรงตอกที่เกิดขึ้นจะทำให้พื้นผิวของแต่ละอนุภาคอยู่ชิดกัน และเกิดแรงยึดเหนี่ยวระหว่างอนุภาคขึ้น จนทำให้อนุภาคของสารประกอบจับตัวกลายเป็นเม็ดแข็งที่มีรูปทรงและขนาดที่แน่นอน โดยมีแบคทีเรียรูปแบบแห้งและสารประกอบที่ถูกคัดเลือกใช้เป็นส่วนผสมในการอัดเม็ด สารประกอบที่ใช้อัดเม็ดซึ่งมีคุณสมบัติแสดงดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 สมบัติของสารประกอบที่ใช้อัดเม็ด (กรีพล แม่นวิวัฒนกุล, 2555)

สารประกอบ	คุณสมบัติ
น้ำตาลแล็คโทส น้ำตาลซูโครส แมนนิทอล ซอบิทอล แป้งข้าวโพด	สารเพิ่มปริมาณ ช่วยเพิ่มขนาดและน้ำหนักของเม็ด
แป้ง น้ำตาลซูโครส เจลาติน	สารช่วยยึดเกาะ เพื่อเพิ่มแรงเกาะกันของสารประกอบ และเมื่อได้รับแรงตอกอัดจะทำให้เป็นเม็ดได้ดียิ่งขึ้น
แป้ง เซลลูโลส	สารช่วยแตกตัว เพื่อให้เม็ดแตกตัวได้ดีเมื่อสัมผัสกับของเหลว
แมกนีเซียมสเตรียเลต	สารช่วยลื่นทำหน้าที่ลดแรงเสียดทานที่เกิดขึ้นระหว่างผิวหน้าเม็ดกับผนังของเบ้าและผิวหน้าของสาก
ทัลคัม แมกนีเซียมสเตรียเลต	สารช่วยไหลเพิ่มความสามารถในการไหลของสารประกอบ
สารอื่นๆ	ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน และฟอสฟอรัส

จากรายงานวิจัยของ อัจฉรา เพ็งหนู ได้พัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรียอัดเม็ด *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ No.16 แบบเม็ดชนิดละลายน้ำเพื่อใช้ควบคุมโรคกาบใบแห้งของข้าว โดยผสมสารประกอบต่างๆ เข้ากับสารแขวนลอยสปอร์จำนวน 10^{14} CFU ในอัตราส่วนที่เหมาะสม และนำไปอบแห้งในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปตอกเม็ดด้วยเครื่องตอกยาเม็ดสากเดียว พบว่าสูตรสำเร็จที่ประกอบด้วยสารยึดเกาะ (SCMC 1500) 13.9 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมสตาร์ชไกลโคเลท 3.7 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลแลคโตส 78.7 เปอร์เซ็นต์ ทัลคัม 2.8 เปอร์เซ็นต์ และแมกนีเซียมสเตรียเลส 0.9 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะเป็นเม็ดสีขาว หนา 2.2-2.5 มิลลิเมตร (รูปที่ 2.9) และมีความกร่อนต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ลดความเสียหายระหว่างการผลิตและขนส่ง และจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (26-30 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 6 เดือน มีปริมาณเชื้อที่อยู่รอดสูงและค่อนข้างคงที่คือประมาณ 10^{8} CFU ต่อกรัม



รูปที่ 2.9 ลักษณะสูตรสำเร็จแบคทีเรียอัดเม็ด *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ No.16 (อัจฉรา เพ็งหนู)

การอัดเม็ดด้วยเครื่องตอกเม็ดยา จำเป็นต้องเปลี่ยนรูปแบบแบคทีเรียจากรูปแบบของเหลวให้อยู่ในรูปแบบแห้งด้วยกระบวนการไลโอฟิไลซ์ (Lyophilization หรือ Freeze Drying) ซึ่งเป็นวิธีเก็บเชื้อแบคทีเรียระยะยาว โดยอาศัยหลักการแช่แข็ง (Freezing) เพื่อเปลี่ยนสถานะจากเป็นผลึกน้ำแข็ง จากนั้นลดความดันเพื่อให้ผลึกน้ำแข็งระเหิดเป็นไอ และปกป้องเซลล์จากผลึกน้ำแข็งด้วยการเติมสารป้องกันความเย็น (Cryoprotective agent) เช่น กลีเซอรอล ทรีฮาโลส หางนม (skim milk) โมโนโซเดียมกลูตาเมท (ผงชูรส) ซูโครส กลูโครส และแลคโทส เป็นต้น (Date และคณะ, 2010; Kupletskaya และ Netrusov, 2011) นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มการรอดชีวิตของแบคทีเรียสูงขึ้นภายหลังการอัดเม็ดและเก็บรักษาและการทำให้แบคทีเรียอัดเม็ดยังคงประสิทธิภาพย่อยสลายไขมันภายหลังการเก็บรักษา จำเป็นต้องศึกษาปัจจัยต่างๆ ในการผลิตแบคทีเรียอัดเม็ดได้แก่ ปริมาณเซลล์เริ่มต้น สารป้องกันความเย็น และภาวะการเก็บรักษา เป็นต้น ตัวอย่างรายงานวิจัยของ Fazeli และคณะ (2006) ได้ศึกษาการมีชีวิตรอดของแบคทีเรียอัดเม็ด *Lactobacillus acidophilus* ที่ผ่านกระบวนการไลโอฟิไลซ์ โดยมีสารป้องกันความเย็นคือ หางนม 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เติมสารสกัดมอลต์10 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีจำนวนแบคทีเรีย 10^{10} CFU ต่อกรัม จากนั้นนำผงแบคทีเรียหนัก 250 มิลลิกรัม ผสมกับส่วนผสมได้แก่ เชื้อรูปแบบแห้ง 250 มิลลิกรัม แมนนิทอล 260 มิลลิกรัม ทัลก์ (Talc) 10 มิลลิกรัม แมกนีเซียมสเตียเรต 9 มิลลิกรัม คาร์โบเมอร์ (carbomer 934P) 45 มิลลิกรัม และซิลิกอนไดออกไซด์ 1 มิลลิกรัม และอัดเม็ดด้วยเครื่องตอกเม็ดยา สามารถเก็บรักษาได้นาน 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และท้ายสุดมีปริมาณเชื้ออยู่รอดเท่ากับ 10^{9} CFU ต่อเม็ด

Kupletskaya และ Netrusov (2011) ศึกษาการเติมสารป้องกันความเย็นได้แก่ เจลาติน 1 เปอร์เซ็นต์ที่เติมซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ หางนมที่เติมกลูโคส 7 เปอร์เซ็นต์ และหางนม เพื่อช่วยการเก็บรักษา *Pseudomonas fluorescens* พบว่าการเติมเจลาติน 1 เปอร์เซ็นต์ที่เติมซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ทำให้แบคทีเรียมีการรอดชีวิตประมาณ 10^7 CFU ต่อแอมพูล (ampoule) หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 50 ปี และทดสอบการเก็บรักษา *Serratia marcescens* ที่ผ่านกระบวนการไลโอฟิไลซ์ โดยมีสารป้องกันความเย็นคือ เจลาติน 1 เปอร์เซ็นต์ที่เติมซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 50 ปี พบว่ามีจำนวนแบคทีเรียลดลงจาก 10^9 เหลือ 10^7 CFU ต่อแอมพูลเช่นกัน

อุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บรักษาเชื้อให้มีชีวิตนานขึ้น ตัวอย่างงานวิจัย Eley และคณะ (2006) ได้ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการเก็บรักษา *Chlamydia trachomatis* ภายหลังไลโอฟิไลซ์ ได้แก่ 4, 20, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าการเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตและเจริญได้ดีกว่าที่อุณหภูมิอื่น เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจะเป็นอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์มีกิจกรรมเกิดขึ้นในเซลล์มากกว่าที่อุณหภูมิต่ำ

Kurtmann และคณะ (2009) ศึกษาการเก็บรักษาแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* สายพันธุ์ (La-5) ที่ผ่านกระบวนการไลโอฟิไลซ์ ที่มีสารป้องกันความเย็นคือ ซูโครสและมอลโทเด็กซ์ตริน ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) ในภาวะออกซิเจนน้อย พบว่ามีจำนวนแบคทีเรียลดลงจาก 10^{11} เหลือ 10^{10} CFU ต่อกรัมในระยะเวลา 12 สัปดาห์

Jalali และคณะ (2012) ศึกษาการเติมสารป้องกันความเย็น (ดังแสดงในตารางที่ 2.6) และอุณหภูมิในการเก็บรักษาได้แก่ 4 และ 23 องศาเซลเซียสของ *Lactobacillus paracasei* subsp. *Toleranc* เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าภายหลังไลโอฟิไลซ์ แบคทีเรียที่ไม่เติมสารป้องกันความเย็นมีอัตราการรอดชีวิต 2 เปอร์เซ็นต์ และสูตรสารป้องกันความเย็นที่ทำให้แบคทีเรียมีอัตราการรอดชีวิตได้สูงที่สุดคือ หางนม 6 เปอร์เซ็นต์ ทรีฮาโลส 8 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมแอสคอเบท 2 หรือ 4 เปอร์เซ็นต์ และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีอัตราการอยู่รอดสูงกว่าที่ 23 องศาเซลเซียส

ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้หางนม (skim milk) และ หางนมที่เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมท (Monosodium glutamate; MSG) เนื่องจากมีการวิจัยแล้ว พบว่าการเก็บรักษาเชื้อ *E. coli* ที่เติมหางนมความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิต 76 เปอร์เซ็นต์ และเติมหางนม ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ที่มี MSG ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิต 82 เปอร์เซ็นต์เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือน (สุทธิรักษ์ นิยมฤทธิ์, 2555) ดังนั้นจึงได้เลือกสารป้องกันความเย็นสองแบบนี้มาทดสอบในงานวิจัยนี้

นอกจากนี้ ความชื้นก็เป็นปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลต่อการเก็บรักษาเชื้อให้มีชีวิตนานขึ้น ทั้งนี้ระดับความชื้นของแบคทีเรียยังขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดสารป้องกันความเย็น ตัวอย่างงานวิจัยของ Siaterlis และคณะ (2009) พบว่าภายหลังไลโอฟิไลซ์ *Lactobacillus plantarum* ที่มีการเติมสารป้องกันความเย็นคือ ซูโครส ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการอยู่รอดสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ เพราะมีระดับความชื้น (residual moisture) เท่ากับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ *Lactobacillus rhamnosus* สายพันธุ์ GG ที่มี

การเติมสารป้องกันความเย็นคือ ซูโครส ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิตเพียง 60 เปอร์เซ็นต์ เพราะมีระดับความชื้น 0.5 เปอร์เซ็นต์

2.5 ระบบบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมัน

ระบบบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันเป็นกระบวนการบำบัดน้ำเสียที่อาศัยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถใช้ไขมันเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัดไขมันในน้ำเสียได้ (Matsui และคณะ, 2005; Chipasa และคณะ, 2006; Chan และคณะ, 2009) ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้แบคทีเรียย่อยสลายไขมันในการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมัน ได้แก่ Backer และคณะ (1999) ศึกษาการย่อยสลายน้ำมันมะกอก ความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตรของ *Bacillus thermoleovorans* สายพันธุ์ IHI-91 ในถังปฏิกิริยาแบบกวนอย่างต่อเนื่อง ขนาด 2 ลิตร มีการให้อากาศ 3 ลิตรต่อนาที พบว่าสามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอกได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลา 2 ชั่วโมง และอัตราการย่อยสลายสูงสุดเท่ากับ 900 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และทดสอบการบำบัดน้ำเสียจากการล้างขนสัตว์ในถังปฏิกิริยาแบบกวนอย่างต่อเนื่อง ขนาด 2 ลิตร มีการให้อากาศ 0.3 ลิตรต่อนาที พบว่าปริมาณไขมันลดลง 20 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลา 10 ชั่วโมง โดยมีไขมันเริ่มต้นเท่ากับ 15 ถึง 20 กรัมต่อลิตร และลดค่า COD ได้ 15 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า COD เริ่มต้นเท่ากับ 77,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

Matsumiya และคณะ (2007) ได้ทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ปนเปื้อนน้ำมันสลัดความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตรของแบคทีเรีย *Burkholderia* sp. สายพันธุ์ DW2-1 เป็นระยะเวลา 7 วัน ในระบบบำบัดแบบต่อเนื่องโดยไม่มีฝาปิดด้านบน ขนาด 3 ลิตร มีการให้อากาศ และระยะเวลาเก็บกักน้ำ (Hydraulic retention time; HRT) เท่ากับ 48 ชั่วโมงโดยมีชุดการทดลองที่ไม่ใส่เชื้อ DW2-1 เป็นชุดควบคุม แล้วตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป Lipase Kit กิจกรรมของสารลดแรงตึงผิวด้วยการวัดการกระจายน้ำมัน (Oil Displacement) ปริมาณไขมันที่เหลืออยู่ด้วย Thin-layer chromatography (TLC) และเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับผลิตภัณฑ์ BN clean (Meiji Seika Kaisha, LTD, Japan) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 แล้วคงที่และลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 36 และ 42 ชั่วโมงตามลำดับ การเกิดกิจกรรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในชุดที่ใส่เชื้อ DW2-1 และไม่ใส่เชื้อ DW2-1 พบว่ามีค่า 480 และ 148 ยูนิตต่อมิลลิลิตรตามลำดับ (1 ยูนิตเท่ากับการกระจายน้ำมัน 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร) การวิเคราะห์ TLC ยืนยันการย่อยสลายไขมันที่เกิดขึ้น โดยแสดงให้เห็นการลดลงของไตรกลีเซอไรด์และการสะสมของกรดไขมันหลังจากชั่วโมงที่ 6 ผ่านไป และปริมาณไตรกลีเซอไรด์มีน้อยมากในชั่วโมงที่ 36 เป็นต้นไป เมื่อพิจารณาการย่อยสลายน้ำมันสลัดทั้ง 7 วัน พบว่าน้ำมันสลัดที่เหลืออยู่ในน้ำเสียขาออกมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วจาก 10,000 เหลือ 1,800 มิลลิกรัมต่อลิตรภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วลดลงอย่างค่อยเป็นค่อยไปจนหมดในวันที่ 4 ของการดำเนินการทดลอง ซึ่งภายหลังจากวันที่ 4 อัตราการย่อยสลายน้ำมันสลัดจะคงที่

Yang และคณะ (2012) ศึกษาการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีน้ำมันถั่วลิสงและน้ำยาล้างจาน (อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นน้ำมันถั่วลิสงและน้ำยาล้างจานเท่ากับ 4:1) ด้วยถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเมมเบรนจมตัว (Submerge membrane bioreactor; MBR) ขนาด 12.5 ลิตร มีการให้อากาศ 5 ลิตรต่อนาที ค่า HRT 10 ชั่วโมง และมีค่า COD เริ่มต้นเท่ากับ 358 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นน้ำมันถั่วลิสง 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ 762 มิลลิกรัมต่อลิตร (ความเข้มข้นน้ำมันถั่วลิสง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร) แล้ว

วิเคราะห์ค่า COD พบว่าสามารถลดค่า COD ได้ 98.3 และ 99.1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในระยะเวลา 135 วัน

ตารางที่ 2.6 ตัวอย่างการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันในระบบบำบัด

รูปแบบระบบบำบัด	สายพันธุ์แบคทีเรีย	ชนิดน้ำเสีย	ปริมาณไขมัน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อัตราการบำบัด	อ้างอิง
ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มล.	*Rhodobacter sphaeroides* สายพันธุ์ Z08	น้ำเสียสังเคราะห์ปนเปื้อนน้ำมันถั่วเหลือง	600	90.85% ใน 8 วัน	Junguo และคณะ, 2010
แอคทิเวทเต็ดสลัดจ์ ขนาด 10 ลิตร	-	น้ำเสียสังเคราะห์ปนเปื้อนน้ำมันเรปซีด (rapeseed oil)	1,000	85% ใน 7 วัน	Chipasa และคณะ, 2008
ระบบกรองด้วยทราย	แบคทีเรียผสม ได้แก่ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ L1 *Pseudomonas diminuta* สายพันธุ์ L2	โรงงานอุตสาหกรรม	7,535	100% ใน 5 วัน	El-Masry และคณะ, 2004
ถังบำบัด ขนาด 25 ลิตร	แบคทีเรียผสมได้แก่ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ KLB1 *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ KUL8	บ่อดักไขมันของห้องครัวในแหล่งชุมชน	1,500-2,000	60.42% ใน 22 วัน	Bhumibhamon และ Phattayakorn, 2003

2.6 การตรวจติดตามจุลินทรีย์ในระบบบำบัดด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

การประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลในการตรวจติดตามจุลินทรีย์ในระบบบำบัดเป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นวิธีการที่มีความถูกต้องและความแม่นยำสูง ดำเนินงานได้อย่างสะดวกและรวดเร็ว โดยการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมได้โดยตรง ทำให้สามารถทราบกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระบบได้ (Shi และคณะ, 2010) ซึ่งการตรวจติดตามจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคชีววิทยาโมเลกุลสามารถประยุกต์ใช้ได้กับตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมหลากหลายชนิดได้แก่ ดิน น้ำใต้ดิน น้ำเสีย และตะกอนสลัดจ์จากระบบบำบัดน้ำเสีย (Shannon และคณะ, 2007; Phrommanich และคณะ, 2009; Kao และคณะ, 2010) ตัวอย่างการตรวจติดตามจุลินทรีย์โดยเทคนิคชีววิทยาโมเลกุลได้แก่ การศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชาคมแบคทีเรียด้วยวิธี Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) (Ma และคณะ, 2009) เป็นเทคนิคทางชีวโมเลกุลที่ใช้ในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชาคมจุลินทรีย์และวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในสิ่งแวดล้อม ทำได้โดยการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณ 16S rDNA และนำผลิตภัณฑ์ PCR มาวิเคราะห์ความหลากหลายของแบคทีเรียด้วยวิธี DGGE ซึ่งเป็นการแยกดีเอ็นเอสายคู่ที่มีความยาวเท่ากันแต่ลำดับเบสต่างกัน โดยใช้เกรเดียนท์ของความเข้มข้นของยูเรียและฟอร์มาไมด์ทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างดีเอ็นเอสายคู่ เมื่อดีเอ็นเอสายคู่ถูกทำลายพันธะไปบางส่วนจะหยุดการเคลื่อนที่ โดยแบคทีเรียแต่ละชนิดมีลำดับเบสที่ไม่เหมือนกัน ทำให้ตำแหน่งที่หยุดเคลื่อนที่ของแบคทีเรียแต่ละตัวไม่เท่ากัน เมื่อนำเจลไปส่องภายใต้แสง UV จะเห็นเป็นแถบดีเอ็นเออยู่ภายในเจล โดยการวิเคราะห์ความหลากหลายของแบคทีเรียสังเกตได้จากจำนวนแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้น (Duineveld และคณะ, 2001; Ziembinska และคณะ, 2007) Matsumiya และคณะ (2007) ตรวจติดตามแบคทีเรีย *Burkholderia* sp. สายพันธุ์ DW2-1 ในระบบบำบัดแบบต่อเนื่อง ขนาด 3 ลิตร เป็นระยะเวลา 7 วันในการย่อยสลายน้ำมันสลัด ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่าสายพันธุ์ DW2-1 มีชีวิตอยู่ตลอดการทดลองและเป็นแบคทีเรียเด่น (predominant bacteria) ในการย่อยสลายน้ำมันสลัด

นอกจากนี้เทคนิค real-time PCR หรือ quantitative real-time PCR; qPCR ยังเป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงประชาคมจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายไขมันหรือวัดปริมาณยีนเป้าหมายได้ทั้งในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมเช่น ดิน น้ำ ตะกอนสลัดจ์ (activated sludge) และในระบบบำบัด ซึ่งการตรวจติดตามนี้มีความสำคัญในการรักษาระบบให้มีเสถียรภาพ (Hristova และคณะ, 2001; Dionisi และคณะ, 2003; Phrommanich และคณะ, 2009) โดยมีหลักการคือ อาศัยการตรวจวัดสัญญาณจากการเรืองแสงของผลิตภัณฑ์ PCR ในระหว่างขั้นตอนการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ โดยการเรืองแสงของผลิตภัณฑ์ PCR เกิดขึ้นจากการเข้าเกาะกันระหว่างดีเอ็นเอสายคู่ (double-strand DNA; dsDNA) และสารเรืองแสงคือ SYBR green โดย SYBR green จะถูกกระตุ้นด้วยแสง UV และคายพลังงานออกมาในรูปแสง ซึ่งระดับความเข้มของแสงที่ถูกปล่อยออกมาจากสอดคล้องกับปริมาณผลิตภัณฑ์ PCR เกิดขึ้น โดยแต่จำนวนรอบของ PCR ที่เพิ่มทำให้ระดับความเข้มของแสงเพิ่มขึ้นเช่นกัน (Wittwer และคณะ, 2001)

Dionisi และคณะ (2004) ตรวจนับจำนวนยีน *nagAC* ของ *Rastonia* sp. สายพันธุ์ U2 ที่มีความประสิทธิภาพในการย่อยสลายแนฟทาลีน สามารถตรวจวัดได้ 10^5-10^7 copies number ต่อกรัมน้ำหนักแห้งของตะกอน

Phrommanich และคณะ (2009) ประยุกต์ใช้เทคนิค real-time PCR ในการตรวจนับจำนวนแบคทีเรีย *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ MUB1 ที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันในตัวอย่างดิน โดยยีนเป้าหมายคือ ยีน *alk*M พบว่า เทคนิค real-time PCR สามารถใช้ตรวจนับจำนวนสายพันธุ์ MUB1 ที่อยู่ในอาหารเหลวและดิน ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ 540 CFU ต่อมิลลิลิตรและ 5.4 $\pm 10^{4}$ CFU ต่อกรัมของน้ำหนักดิน

2.7 การทดสอบความเป็นพิษด้วย Phytotoxicity

การทดสอบความเป็นพิษโดยใช้เมล็ดพืช เป็นวิธีการที่สามารถใช้ในการทดสอบความเป็นพิษของสารที่ปนเปื้อนในดิน ดินตะกอน น้ำ และน้ำเสีย (Oleszczuk, 2010) เนื่องจากเมล็ดพืชที่แห้งจะอยู่ในระยะพักตัว มีความคงทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม แต่เมื่อได้รับความชื้นและอยู่ในสภาวะที่เหมาะสม ก็จะงอกและเจริญเติบโตได้ ซึ่งการงอกของเมล็ด (seed germination) และการเพิ่มความยาวของราก (root elongation) เป็นกระบวนการสำคัญในช่วงชีวิตพืช จึงทำให้เมล็ดพืชมีความไว (sensitive) ต่อสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไป ดังนั้นจึงได้มีการใช้การงอกของเมล็ดและการเพิ่มความยาวของรากเป็นดัชนีในการประเมินความเป็นพิษของสิ่งแวดล้อมโดยมีเกณฑ์พิจารณาคือ มีค่าดัชนีการงอก (Germination Index; GI) มากกว่าหรือเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ บ่งบอกว่าไม่มีความเป็นพิษ นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่ง่ายในการทดสอบและค่าใช้จ่ายต่ำ (Wang, 1989; Silva และคณะ, 2010)

Oleszczuk (2010) ได้ทดสอบความเป็นพิษของน้ำทิ้งจากเทศบาล 5 สถานที่ได้แก่ K100 R200 R250 D210 และ J190 ด้วยเมล็ดพืช 10 ชนิดได้แก่ ข้าวฟ่าง มัสตาร์ด หัวผักกาด ผักกระเฉด พืชตระกูลถั่ว (red clover) แตงกวา มะเขือเทศ หัวไชเท้า กระเจี๊ยบแดง (sorrel) และผักขม พบว่าน้ำทิ้งจาก 5 สถานที่ ยังคงมีความเป็นพิษต่อพืชสูง และจากสถานที่ R200 และ J190 มีความเป็นพิษสูงที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.7 ค่าดัชนีการงอก (GI) ของเมล็ดพืช 10 ชนิด

เมล็ดพืช	สถานที่ทิ้งน้ำทิ้งเทศบาล				
	K100	R200	R250	D210	J190
มัสตาร์ด	10.4	3.2	4.6	4.3	3.7
ข้าวฟ่าง	12.4	3.7	6.3	6.3	4.0
หัวไชเท้า	28.4	4.3	6.6	7.3	4.9
หัวผักกาด	7.4	3.3	4.1	4.1	3.6
พืชตระกูลถั่ว	7.9	4.1	9.2	4.7	6.1
มะเขือเทศ	10.0	3.9	5.5	4.3	4.6
ผักกระเฉด	5.4	3.1	4.5	3.9	3.3
ผักขม	40.4	5.3	19.5	3.5	7.6
แตงกวา	10.9	4.4	10.6	7.9	5.7
กระเจี๊ยบแดง	6.2	4.4	5.0	4.7	4.8

ที่มา: Oleszczuk (2010)