การบำบัดไขมันในบ่อดักไขมันโรงอาหารโดยใช้กลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์

TREATMENT OF FAT-OILAND GREASE IN WASTEWATER FROM CANTEEN GREASE TRAPS BY SELECTED BACTERIA

ประชุมพร เลาห์ประเสริฐ[1]* เจนจิรา แพงจันทร์[1] เจษฎา ชาญศิริรัตนา[1] ตันติกร ขุนาพรม[2]

***Prachumporn Lauprasert*[1]*, *Jenjira Paengjan*[1], *Jessada Chansirirattana*[1], *Tantikorn Khunaprom*[2]

[1]*คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*

[1]*Faculty of Public Health, Mahasarakham University.*

[2]*ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*

[2]*Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahasarakham University.*

***Corresponding author, E-mail:** prachumporn.l@gmail.com*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้คือเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของกลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus subtilis, Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa* ในการย่อยสลายไขมันและบำบัดน้ำเสียของโรงอาหารมหาวิทยาลัย เก็บจากน้ำเสียที่บ่อดักไขมันของโรงอาหารมหาวิทยาลัยด้วยวิธี Grab Sampling ทำการทดลองแบบแบทช์ที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน ผลการทดลองพบว่า กลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์สามารถลดค่า BOD_5 ได้ร้อยละ 40-65 โดย *B. subtilis* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดค่า BOD_5 คือลดได้ร้อยละ 62.66 รองลงมาคือ *S. epidermidis* และ *P. aeruginosa* ลดได้ร้อยละ 52.31 และ 42.05 ตามลำดับ นอกจากนี้ *P. aeruginosa* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดความหนาของชั้นไขมันคือลดได้ร้อยละ 48.98 ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่า *B. subtilis* และ *S. epidermidis* ที่ลดได้ร้อยละ 32.65 และ 26.53 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p < 0.001$)

คำสำคัญ: บ่อดักไขมันโรงอาหาร การลดความหนาของชั้นไขมัน เอนไซม์ไลเปส

Abstract

The aim of this research was to evaluate the efficacy of selected bacteria; *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* on fat digestibility and wastewater treatment in a university cafeteria. Oils and fats were collected from the university canteen grease traps. These batch experiments used grab sampling waste water samples. After cultivation in the wastewater at room temperature with a rotational speed of 200 rpm for 5 days, the selected bacteria removed BOD_5 to be 40-65 percent. The most BOD_5 treatment efficiency was found in *B. subtilis* to be 62.66 percent removal, following by *S. epidermidis* and *P. aeruginosa* to be 52.31 and 42.05 percent, respectively. Nevertheless, the most thickness reduction of the fat layer was found in *P. aeruginosa* to be 48.98 percent significantly

($p < 0.001$), following by *B. subtilis* and *S. epidermidis* to be 32.65 and 26.53 percent, respectively.

Keywords: Canteen Grease Traps, Reduced the Thickness of The Fat Layer, Enzyme Lipase

บทนำ

น้ำเสียจากร้านอาหาร รวมทั้งสถานประกอบการที่มีการประกอบอาหารเช่นโรงครัวของโรงพยาบาล โรงอาหารตามหน่วยงานต่างๆ ส่วนประกอบที่สำคัญคือไขมัน น้ำมันและกรีส (Fat Oil and Grease) โดยน้ำเสียจากร้านจำหน่ายอาหารมีความเข้มข้นของสารอินทรีย์จำพวกน้ำมันและไขมันโดยเฉลี่ย 2,712 มิลลิกรัมต่อลิตร [1] สารประกอบเหล่านี้เมื่อปนเปื้อนกับน้ำจะลอยอยู่ตามผิวน้ำ ทำให้เป็นอุปสรรคต่อการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำ เพราะน้ำมันและไขมันมีความถ่วงจำเพาะต่ำกว่าโมเลกุลของน้ำไม่ละลายน้ำพร้อมทั้งกีดขวางการถ่ายเทของออกซิเจนลงสู่แหล่งน้ำ ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำลดลงในที่สุด วิธีการบำบัดมีหลายวิธี เช่น วิธีการทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ สำหรับวิธีการทางกายภาพ นิยมใช้กลไกความแตกต่างระหว่างความหนาแน่นของไขมันและน้ำมันกับน้ำ เช่นระบบการลอยไขมัน ส่วนวิธีการทางเคมีนิยมทำโดยการเติมสารเคมีบางชนิดเพื่อลดแรงตึงผิว ซึ่งทั้งวิธีการทางกายภาพและเคมีมีข้อจำกัดคือสิ้นเปลืองพลังงานและต้นทุนในการดำเนินการสูง [2] นอกจากนี้ยังพบว่าสถานประกอบการบางแห่งใช้วิธีการกำจัดไขมันด้วยการเติมสารเคมีชนิด Sodium Hydroxide (NaOH หรือโซดาไฟ) ซึ่งสารเคมีดังกล่าวทำให้จุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียตายเป็นการแก้ไขปัญหาที่ไม่ถูกต้อง แต่หากไม่มีการกำจัดไขมันในการจัดทำบ่อดักไขมันโดยการเติมสารเคมี Sodium Hydroxide ก็มีใช้วิธีการทางกายภาพโดยแรงงานคนในการตักไขมันที่ลอยอยู่บริเวณผิวหน้าบ่อดักไขมัน ซึ่งทำให้เป็นการเสียเวลาและต้องใช้แรงงานคนในการมาคอยตักไขมันที่ลอยอยู่บริเวณผิวหน้าบ่อดักไขมันทุกวัน [3] จากปัญหาดังกล่าวจึงทำให้มีความนิยมในการกำจัดไขมันโดยวิธีทางชีววิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้จุลินทรีย์ที่เจริญได้ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของไขมัน เนื่องจากอุณหภูมิมีบทบาทสำคัญอย่างมากต่อการบำบัดไขมัน เนื่องจากระบบการบำบัดต้องมีการให้ความร้อนสูง (อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสขึ้นไป) เพื่อให้อัตราการแตกตัวของไขมันเพิ่มขึ้น ความเหนียวหนืดของของเสียลดลง ไขมันจะอยู่ในรูปอีมัลชั่นซึ่งง่ายต่อการย่อยสลายโดยเอนไซม์และจุลินทรีย์ [4] มีรายงานว่าจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถย่อยสลายไขมันได้เพราะสามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* [5], *Pseudomonas* sp. [6], *Candida cyindracea* [7], *Candida maltose*, *Candida tropicalis*, *Yarrowia lipolytica* [8] *Bacillus* sp. [9], *Bacillus thermaleovorans* [4,10] และ *Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus subtilis* [1] รวมทั้งแบคทีเรียที่ยังไม่ทราบชนิดคือ isolate PTL36, PTL38, PTL41 และ PTL44 [11] โดยมีรายงานพบว่า ยีสต์ *Candida maltose*, *Candida tropicalis* และ *Yarrowia lipolytica* สามารถลดปริมาณไขมันจากน้ำเสียโรงงานปลากระป๋องได้ร้อยละ 53 51 และ 82 ตามลำดับ [8] แบคทีเรีย *Bacillus thermaleovorans* สามารถลดปริมาณไขมันจากน้ำล้างพื้นโรงงานฆ่าสัตว์ได้ร้อยละ 20-30 [4] *Bacillus* sp. Isolate NP4 สามารถลดปริมาณไขมันปลาจากน้ำเสียโรงงานผลิตปลาส้มได้ร้อยละ 55.6 [12] *Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus subtilis* สามารถลดความหนา

ของชั้นไขมันจากบ่อดักไขมันโรงครัวได้ร้อยละ 87.26 และ 87.34 ตามลำดับ [1] อย่างไรก็ตาม การนำเซลล์จุลินทรีย์มาประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย มีข้อควรพิจารณาคือจุลินทรีย์ชนิดนั้นต้องมีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม จุลินทรีย์ต้องอยู่ได้ ในสภาวะที่มีสารอาหารค่อนข้างจำกัด และสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคที่มีอยู่ในน้ำเสียได้ รวมทั้งต้องสามารถปรับตัวในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ เช่น อุณหภูมิ และมีสารพิษในปริมาณสูง [13] ดังนั้นงานวิจัยนี้เป็นการใช้เอนไซม์ย่อยสลายไขมันหรือเอนไซม์ไลเปส (Lipase) ที่ผลิตโดยแบคทีเรียมาประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนไขมันสูงโดยศึกษาเกี่ยวกับการนำไลเปสที่ถูกตรึงมาประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนไขมัน งานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาแนวทางการบำบัดไขมันและน้ำมันในบ่อดักไขมันและที่แพร่กระจายในน้ำเสีย ก่อนที่จะนำน้ำเสียนั้นเข้าสู่กระบวนการบำบัดของหน่วยงานเพื่อให้การบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันปนเปื้อนมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus subtilis, Staphylococcus epidermidis* และ *Pseudomonas aeruginosa* ในการบำบัดน้ำเสียและย่อยสลายไขมันในบ่อดักไขมัน

วิธีดำเนินการวิจัย

แผนการวิจัย

การวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ของน้ำเสียดำเนินการตามวิธีมาตรฐานที่ระบุใน Standard Methods for Examination of Water and Wastewater [14] โดยทำการคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีการทดสอบการผลิตเอนไซม์ไลเปสขั้นปฐมภูมิแล้ว ได้แก่ *Bacillus subtilis* (TISTR1248), *Staphylococcus epidermidis* (TISTR518) และ *Pseudomonas aeruginosa* (TISTR1287) ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์ (Pure Culture) จากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายไขมันในบ่อดักไขมัน ในการทดลองใช้น้ำเสียจริงจากบ่อดักไขมันของโรงอาหารมหาวิทยาลัย ดำเนินการทดลองแบบแบทช์ในขวดเขย่าซึ่งมีปริมาณออกซิเจนเพียงพอ โดยมีรายละเอียดดังนี้

น้ำเสียที่ใช้ในการศึกษา

นำน้ำเสียจากบ่อดักไขมันโรงอาหารของมหาวิทยาลัยที่มีองค์ประกอบของไขมัน และน้ำมันในปริมาณสูงโดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำด้วยวิธี Grab sampling ทำการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ทั้งทางกายภาพและเคมี ได้แก่ ความเป็นกรด – ด่าง (pH) อุณหภูมิ ปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) ความหนาของชั้นตะกอน ความหนาของชั้นไขมัน ค่าความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (BOD) และปริมาณเอนไซม์ไลเปส

การทดสอบประสิทธิภาพขั้นต้นของการย่อยสลายไขมันของจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรีย

ถ่ายเซลล์ของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (TISTR1248), *Staphylococcus epidermidis* (TISTR518) และ *Pseudomonas aeruginosa* (TISTR1287) ที่เลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (Nutrient broth) ลงในน้ำเสียที่ผ่านการเตรียมแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 2,500 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 5 ลิตร โดยทุกเชื้อจัดแบ่งเป็น 3 ระดับ ความเข้มข้นคือ ร้อยละ 1 (v/v) ร้อยละ 2 (v/v) และร้อยละ 3 (v/v) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทุก 6 ชั่วโมง ติดต่อกันเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ค่าปริมาณเอนไซม์ไลเปสและความหนาของชั้นไขมัน จากนั้นนำผล

การทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันและน้ำมันของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์เพื่อนำสู่การทดลองลำดับต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายไขมันของจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรีย

คัดเลือกความเข้มข้นของแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงสุดของเชื้อแต่ละชนิดจากการทดลองขั้นต้นในการสร้างปริมาณเอนไซม์ไลเปสและลดความหนาของชั้นไขมัน ได้แก่ *Bacillus subtilis* 2% (v/v), *Staphylococcus epidermidis* 1% (v/v) และ *Pseudomonas aeruginosa* 3% (v/v) โดยถ่ายเซลล์ของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (TISTR1248), *Staphylococcus epidermidis* (TISTR518) และ *Pseudomonas aeruginosa* (TISTR1287) ที่เลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (Nutrient Broth) ลงในน้ำเสียที่ผ่านการเตรียมแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 2,500 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 5 ลิตร นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทุก 24 ชั่วโมง ติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน เพื่อวิเคราะห์ความเป็นกรด – ด่าง (pH) อุณหภูมิ ปริมาณของแข็งแขวนลอย (SS) ความหนาของชั้นตะกอน ความหนาของชั้นไขมัน ค่าความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (BOD) และปริมาณเอนไซม์ไลเปส ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทุกซ้ำของการทดลองมีชุดควบคุมคือน้ำเสียที่ไม่ได้เติมเชื้อแบคทีเรียใดๆ ลงไป

ผลการวิจัย

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะสมบัติเบื้องต้นของน้ำเสียจริงจากบ่อดักไขมันโรงอาหารของมหาวิทยาลัย โดยมีค่า pH เท่ากับ 3.98 อุณหภูมิ เท่ากับ 26 องศาเซลเซียส ปริมาณของแข็งแขวนลอย เท่ากับ 260 มิลลิกรัม/ลิตร ความหนาของชั้นตะกอน เท่ากับ 110 มิลลิเมตร ความหนาของชั้นไขมัน เท่ากับ 49 มิลลิเมตร ค่าความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี เท่ากับ 118.9 มิลลิกรัม/ลิตร และปริมาณเอนไซม์ไลเปสในน้ำเสีย เท่ากับ 55.56 unit/มิลลิลิตร

ตารางที่ 1 พารามิเตอร์คุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีของน้ำเสียที่ใช้ในการทดลอง

พารามิเตอร์	ปริมาณ	พารามิเตอร์	ปริมาณ
pH	3.98	Biochemical Oxygen Demand (mg/l)	118.9
Temperature (°C)	26	Thickness of the sedimentary layer (mm)	110
Suspended Solid (mg/l)	260	Thickness of the fat layer (mm)	49
Enzyme Lipase (unit/ml)	55.56		

ประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายไขมันของจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรีย

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายไขมันจากการติดตามเป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด – ด่าง อุณหภูมิ ปริมาณของแข็งแขวนลอย ความหนาของชั้นตะกอน ความหนาของชั้นไขมัน ค่าความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี และปริมาณเอนไซม์ไลเปส พบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายไขมันแตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่ากลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์สามารถลดค่า BOD_5 ได้ร้อยละ 40-65 โดยที่เชื้อ *B. subtilis* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดค่า BOD_5 คือลดได้ร้อยละ 62.66 รองลงมาคือ *S. epidermidis*

และ *P. aeruginosa* ลดได้ร้อยละ 52.31 และ 42.05 ตามลำดับ นอกจากนี้กลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์สามารถลดความหนาของชั้นไขมันได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p < 0.001$) โดยเชื้อ *P. aeruginosa* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดความหนาของชั้นไขมันคือลดได้ร้อยละ 48.98 ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่า *B. subtilis* และ *S. epidermidis* ที่ลดได้ร้อยละ 32.65 และ 26.53 ตามลำดับ (แสดงดังตารางที่ 2 และภาพที่ 1-2)

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียมาผสมรวมกัน พบว่าประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายไขมัน ให้ผลแตกต่างกัน ซึ่งกลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์ที่ถูกนำมาผสมรวมกันสามารถลดค่า BOD_5 ได้ร้อยละ 60-65 โดยที่เชื้อ *B. subtilis + S. epidermidis* มีประสิทธิภาพในการลดค่า BOD_5 เท่ากับร้อยละ 64.51 *B. subtilis + P. aeruginosa* มีประสิทธิภาพในการลดค่า BOD_5 เท่ากับร้อยละ 63.58 และ *S. epidermidis + P. aeruginosa* มีประสิทธิภาพในการลด BOD_5 เท่ากับร้อยละ 60.72 ส่วนประสิทธิภาพในการลดความหนาของชั้นไขมันพบว่ากลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์ที่ถูกนำมาผสมรวมกันสามารถลดความหนาของชั้นไขมันได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p < 0.001$) โดยที่ *B. subtilis + P. aeruginosa* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดความหนาของชั้นไขมันคือลดได้ร้อยละ 61.22 ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่า *B. subtilis + S. epidermidis* และ *S. epidermidis + P. aeruginosa* ที่ลดได้ร้อยละ 57.14 และ 53.06 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p < 0.001$) (แสดงดังตารางที่ 3 และภาพที่ 1-2)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายไขมันของจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสระหว่างเชื้อ *Bacillus subtilis* 2% (v/v) *Staphylococcus epidermidis* 1% (v/v) และ *Pseudomonas aeruginosa* 3% (v/v)

เชื้อแบคทีเรีย	pH	อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณของแข็งแขวนลอย (mg/ l)	ความหนาของชั้นตะกอน (mm)	ปริมาณเอนไซม์ไลเปส (unit/ ml)	ความหนาของชั้นไขมัน (mm)*	ค่า BOD (mg/ l)*
B. subtilis	- 10.05 %	+ 2.31 %	- 40.00 %	- 10.00 %	+379.96 %	- 32.65[a] %	-62.66[d]%
S. epidermidis	- 11.31 %	+ 1.54 %	- 14.61 %	- 10.91 %	+179.98 %	- 26.53[b] %	-52.31[d]%
P. aeruginosa	- 13.57 %	+ 1.15 %	- 5.77 %	- 12.73 %	+419.96 %	- 48.98[c] %	-42.05[d]%

หมายเหตุ - หมายถึง ร้อยละที่ลดลง + หมายถึง ร้อยละที่เพิ่มขึ้น

* กำหนดให้ ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแถวเดียวกันแทนค่าความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ 0.05

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายไขมันของจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสเมื่อนำเชื้อมาผสมกัน

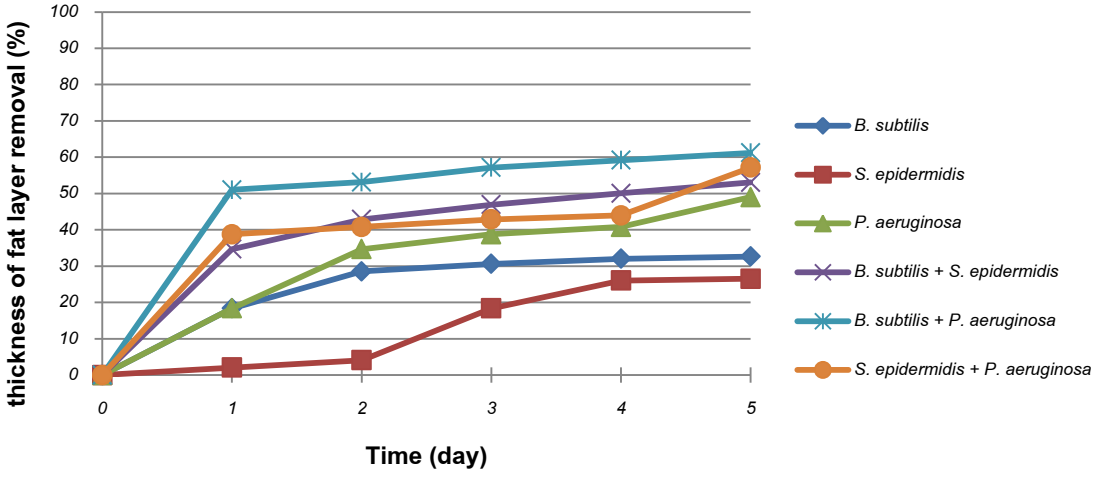
เชื้อแบคทีเรีย	pH	อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณของแข็งแขวนลอย (mg/ l)	ความหนาของชั้นตะกอน (mm)	ปริมาณเอนไซม์ไลเปส (unit/ ml)	ความหนาของชั้นไขมัน (mm)*	ค่า BOD (mg/ l)*
B + S	- 12.31 %	+ 1.54 %	- 9.23 %	- 13.64 %	+559.95 %	- 53.06^{a}%	-64.51^{d}%
B + P	- 12.56 %	+ 1.15 %	- 16.15 %	- 30.00 %	+819.92 %	- 61.22^{b}%	-63.58^{d}%
S + P	- 13.57 %	+ 1.15 %	- 17.69 %	- 31.82 %	+579.95 %	- 57.14^{c}%	-60.72^{d}%

หมายเหตุ - หมายถึง ร้อยละที่ลดลง + หมายถึง ร้อยละที่เพิ่มขึ้น

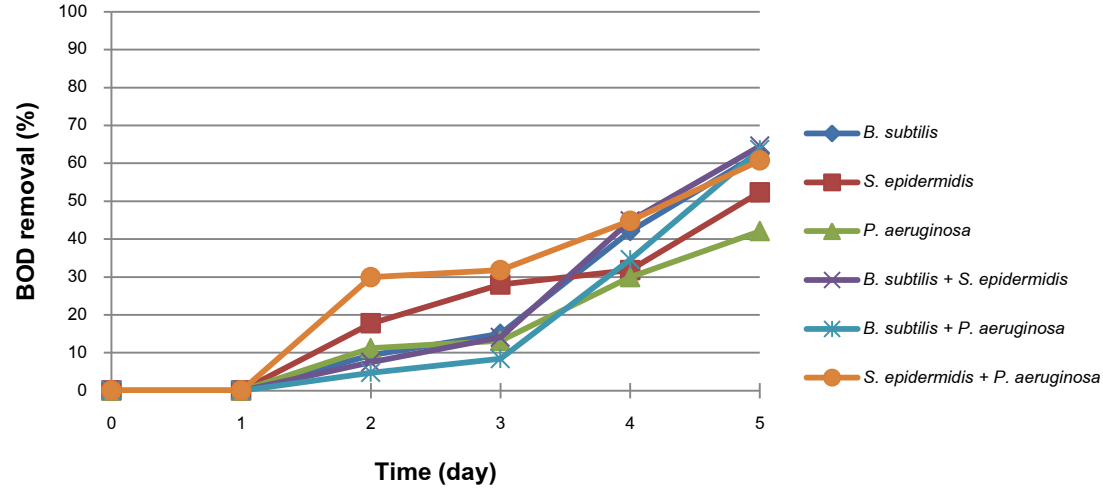
B หมายถึง *Bacillus subtilis* 2% (v/v) S หมายถึง *Staphylococcus epidermidis* 1% (v/v)

P หมายถึง *Pseudomonas aeruginosa* 3% (v/v)

* กำหนดให้ ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแถวเดียวกันแทนค่าความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ 0.05



ภาพที่ 1 ประสิทธิภาพในการลดความหนาของชั้นไขมันในน้ำเสียของกลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพในการลด BOD ในน้ำเสียของกลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์

สรุปและอภิปรายผล

จากผลการวิจัยพบว่า เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายไขมันจากการติดตามเป็นเวลา 5 วัน ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายไขมันแตกต่างกัน กลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์สามารถลดค่า BOD_5 ได้ร้อยละ 40-65 โดยที่เชื้อ *B. subtilis* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดค่า BOD_5 คือลดได้ร้อยละ 62.66 รองลงมาคือ *S. epidermidis* และ *P. aeruginosa* ลดได้ร้อยละ 52.31 และ 42.05 ตามลำดับ นอกจากนี้กลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์ที่ถูกนำมาผสมรวมกันสามารถลดค่า BOD_5 ได้ร้อยละ 60-65 โดยที่เชื้อ *B. subtilis + S. epidermidis* มีประสิทธิภาพในการลดค่า BOD_5 เท่ากับร้อยละ 64.51 *B. subtilis + P. aeruginosa* มีประสิทธิภาพในการลดค่า BOD_5 เท่ากับร้อยละ 63.58 และ *S. epidermidis + P. aeruginosa* มีประสิทธิภาพในการลด BOD_5 เท่ากับร้อยละ 60.72 จะเห็นได้ว่าในการวิจัยครั้งนี้ *B. Subtilis* เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดค่า BOD ในน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ โดยการลดลงของค่า BOD เป็นปฏิกิริยาการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรียกลุ่มที่ใช้อากาศ (Aerobic Bacteria) ในการวิจัยครั้งนี้ใช้การเขย่าความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาทีในการเติมออกซิเจนลงไปในน้ำเสีย โดยการลดลงของค่า BOD เป็นกระบวนการนำสารอินทรีย์หรือสารอาหารเข้าไปในเซลล์ โดยจุลินทรีย์จะสร้างเอนไซม์ขึ้นมาซึ่งจะทำหน้าที่เหมือน Catalyst ออกมาย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มาเกาะติดที่ผนังเซลล์เพื่อเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของสารโมเลกุลเล็กที่จะสามารถซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ จากนั้นจะเป็นกระบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์จุลินทรีย์เพื่อที่จะผลิตพลังงานไปใช้ในกิจกรรมต่างๆ และการสร้างเซลล์ใหม่ [15] เมื่อเปรียบเทียบขนาดของเซลล์พบว่า *B. subtilis* เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสปอร์ภายในตัวเองและมีขนาดเซลล์ที่ใหญ่กว่า *S. epidermidis* และ *P. aeruginosa* [16] ซึ่งหากเปรียบเทียบผลการวิจัยครั้งนี้กับการลด BOD ในน้ำเสียที่มีน้ำมันปนเปื้อนด้วยวิธีทางกายภาพ พบว่าการลด BOD ด้วยชุดทำความเย็นและการบำบัดด้วยระบบตะกอนเร่งของน้ำมันปาล์มที่ปนเปื้อนในน้ำเสียสังเคราะห์ ผลของการใช้ชุดทำความเย็นที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที สามารถลดค่า BOD_5 ในน้ำเสียได้ร้อยละ 42.66 [17]

นอกจากนี้กลุ่มแบคทีเรียคัดสายพันธุ์ สามารถลดความหนาของชั้นไขมันได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ($p < 0.001$) โดยเชื้อ *P. aeruginosa* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดความหนาของชั้นไขมันคือลดได้ร้อยละ 48.98 ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่า *B. subtilis* และ *S. epidermidis* ที่ลดได้ร้อยละ 32.65 และ 26.53 ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียมาผสมรวมกัน พบว่าประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายไขมัน ให้ผลแตกต่างกัน โดยที่ *B. subtilis + P. aeruginosa* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดความหนาของชั้นไขมันคือลดได้ร้อยละ 61.22 ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่า *B. subtilis + S. epidermidis* และ *S. epidermidis + P. aeruginosa* ที่ลดได้ร้อยละ 57.14 และ 53.06 ตามลำดับ ในการลดความหนาของชั้นไขมันสอดคล้องกับผลการวิจัยที่พบว่าปริมาณเอนไซม์ไลเปสที่เชื้อผลิตขึ้นโดยที่ *P. aeruginosa* สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้มากขึ้นร้อยละ 419.96 ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่า *B. subtilis* และ *S. epidermidis* ที่เพิ่มขึ้นร้อยละ 379.96 และ 179.98 ตามลำดับ โดยสามารถอธิบายเพิ่มเติมได้ดังนี้คือช่วงความเจริญที่เหมาะสมในการผลิต lipase จากจุลินทรีย์พบว่าจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะผลิต Lipase ได้สูงสุดในช่วงปลาย Logarithmic Phase ไปแล้ว (อยู่ในช่วง Stationary

Phase) โดยที่การผลิต Extracellularenzyme นั้น ถ้าเลี้ยงเชื้อในสภาพกึ่งอดอาหารจะเหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์มาก เพราะ Extracellularenzyme ส่วนมากรวมทั้ง Lipase จะถูกปล่อยออกมามากที่สุดในช่วง Late หรือ Post Exponential Growth Phase ซึ่งสภาพขณะนั้น Substrate ที่สำคัญจะเริ่มขาดแคลนแล้ว [18] จึงทำให้ในการทดลองครั้งนี้พบปริมาณเอนไซม์ไลเปสในการทดลองวันที่ 5 มากกว่าวันที่ 0-4 ของการทดลอง ซึ่งผลการวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับการใช้ *Bacillus* sp. Isolate NP4 สามารถลดปริมาณไขมันปลาจากน้ำเสียโรงงานผลิตปลาสัมได้ร้อยละ 55.6 [12] และ *Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus subtilis* สามารถลดความหนาของชั้นไขมันจากบ่อดักไขมันโรงครัวได้ร้อยละ 87.26 และ 87.34 ตามลำดับ [1]

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

[1] ธาดารัตน์ ทองพิทักษ์. (2554). *การบำบัดน้ำเสียจากบ่อดักไขมันโรงครัวโดย Staphylococcus epidermidis, Bacillus subtilis และจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ*. วิทยานิพนธ์ ส.ม. (อนามัยสิ่งแวดล้อม). มหาสารคาม: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

[2] มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. (2551). *เคมีวิทยาของน้ำและน้ำเสีย.* พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[3] ประชุมพร เลาห์ประเสริฐ; จินดาวัลย์ วิบูลย์อุทัย; และ คมศร เลาห์ประเสริฐ. (2553). การพัฒนาโรงอาหารมหาวิทยาลัยมหาสารคามให้เป็นเขตปลอดพาหะนำโรค (แมลงวัน แมลงสาบ และหนู). ใน *รายงานการวิจัย.* มหาสารคาม: คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

[4] Becker, P., Koster, D., Popov, M.N., Markossian, S., Antranikian, G.; and Markl, H. (1999). The biodegradation of olive oil and the treatment of lipid-rich wool scouring wastewater under aerobic thermophilic conditions. *Water Research*. 33(3): 653-660.

[5] Martínez, A.; and SoberÓn-Chávez, G. (2001). Characterization of the lipA gene encoding the major lipase from *Pseudomonas aeruginosa* IGB83. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 56: 731-735.

[6] Rashid N., Shimada Y., Ezaki S., Atomi H.; and Imanaka T. (2001). Low-temperature lipase from psychrotrophic *Pseudomonas* sp. Strain KB700A. *Appl. Environ. Microbiol*. 67: 4064-4069.

[7] ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล. (2552). *การผลิตไลเปสโดยแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงและการประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนไขมัน*. อุบลราชธานี: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

[8] อิสระ นนธิราช; และ วิบูลย์ลักษณ์ พึ่งรัศมี. (2554). การบำบัดน้ำเสียที่มีองค์ประกอบไขมันและน้ำมันในปริมาณสูงด้วยจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์. *วารสารการจัดการสิ่งแวดล้อม.* 7(2): 1-9.

[9] Nascimento, W.C.A.; and Martins, M.L.L. (2004). Production and propertires of an extracellular perotease from thermophilic *Bacillus* sp. *Braz. J. Microbiol.* 35: 91-96.

[10] Markossian, S., Becker, P., Marc, H.; and Antranikian, G. (2000). Isolation characterization of lipiddegrading *Bacillus thermoleovorans* IHI91 from an icelanding hot spring. *Extremophiles*. 4: 365-371.

[11] ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล. (2548). การคัดแยกแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงที่สร้างไลเปส. *วารสารวิชาการ ม.อบ.* 7: 95-114.

[12] นภัสพร พันธุ์ทอง. (2551). *การย่อยสลายไขมันจากกระบวนการผลิตปลาส้มโดยแบคทีเรียที่สลายลิพิดและการประยุกต์เพื่อการบำบัดน้ำเสีย*. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (ชีววิทยา). เชียงใหม่: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

[13] Lanciotti, R., Gianotti, A., Baldi, D., Angrisani, R., Suzzi, G., Mastro- cola, D., Guerzoni, M.E. (2005). Use of *Yarrowia lipolytica* strains for the treatment of olive mill wastewater. *Bioresource Technology*. 96(3): 317–322.

[14] American Public Health Association [APHA], American Water Works Association [AWWA] and Water Pollution Control Federation [WEF]. (1992). *Standard methods for the examination of water and wastewater.* Washington D.C.: American Public Health Association.

[15] วิทยา อยู่สุข. (2538). การแยกไขมันน้ำมันในน้ำทิ้ง. *The Green*. 1(8): 74-77.

[16] Hong, Huynh A., Khaneja, R. Tam, Nguyen M.K. Cazzato, A., Tan Sisareuth, Urdaci Maria, Brisson Alain, Gasbarrini Antonio, Barnes Ian.; and Cutting, Simon M. (2009). *Bacillus subtilis* isolated from the human gastrointestinal tract. *Research in Microbiology*. 160(2): 134–143.

[17] ณัฐฐิกา มาสังข์; และ จักรกฤษณ์ มหัจฉริยวงศ์. (2550). ผลของการแยกไขมันและน้ำมันจากน้ำเสียด้วยชุดทำความเย็น. ใน *เอกสารการประชุมวิชาการด้านพลังงานสิ่งแวดล้อมและวัสดุ ครั้งที่ 1*. หน้า 1-7. กรุงเทพฯ: คณะพลังงานสิ่งแวดล้อมและวัสดุ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

[18] Suzuki, T., Mushiga, Y., Yamane, T.; and Shimizu, S. (1988). Mass production of lipase by fed-batch culture of *Pseudomonas fluorescens*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 27: 417-422.