บทความวิจัย

การเพิ่มประสิทธิภาพของถังดักไขมันโดยการเติมแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสสำหรับการจัดการน้ำเสียในตลาดสด

รัชวุฒิ โคตรลาคำ[1*] นิธิมา สุทธิพันธุ์[2] และ ณฐพล ทองปลิว[1]

ได้รับบทความ: 12 กุมภาพันธ์ 2563
ได้รับบทความแก้ไข: 28 มิถุนายน 2563
ยอมรับตีพิมพ์: 23 กรกฎาคม 2563

บทคัดย่อ

น้ำเสียจัดว่าเป็นประเด็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่สำคัญที่เกิดขึ้นในตลาดสด การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของถังดักไขมันด้วยแบคทีเรียที่เหมาะสมสำหรับบำบัดน้ำเสียจากตลาดสดเพื่อยกระดับการจัดการของน้ำเสียในตลาดสดเทศบาล 3 และตลาดดอนกลาง จังหวัดอุบลราชธานี ผลการศึกษาพบว่า *Bacillus pumilus. strain* UBU5 มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ดีที่สุด โดยมีค่าดัชนีและค่ากิจกรรมเอนไซม์ไลเปสเฉลี่ยเท่ากับ 2.99±0.47 และ 287.14±2.86 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสามารถย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำมันและไขมันเท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และที่ระยะเวลา 40 ชั่วโมง โดยมีประสิทธิภาพเฉลี่ยเท่ากับ 99.47±0.25%, 82.54±0.51% และ 86.11±0.53% ตามลำดับ และจากการศึกษาการเติมเชื้อ *B. pumilus. strain* UBU5 ในถังดักไขมันขนาด 100 ลิตร ที่ร้านอาหารพบว่า กรณีไม่ตักไขมันมีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันเฉลี่ย 73.20±9.05% แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *B. pumilus. strain* UBU5 ที่ผ่านการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์สามารถกำจัดน้ำมันและไขมัน และมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียของถังดักไขมันจากร้านอาหารได้ นอกจากนี้ผลการศึกษายังแสดงให้เห็นอีกว่าการเติม *B. pumilus. strain* UBU5 ในถังดักไขมันช่วยลดความถี่ในการตักไขมันออกจากถังดักไขมันโดยที่ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียไม่ลดลง และมีแนวโน้มที่จะสามารถนำมาใช้ในการยกระดับการจัดการน้ำเสียของตลาดสดได้

คำสำคัญ: น้ำเสีย น้ำมันและไขมัน ถังดักไขมัน ตลาดสด

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
[2]ภาควิชาเภสัชเคมีและเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, email: ratchawut.k@ubu.ac.th

Enhancing Efficiency of Grease Traps through the Addition of Lipase Producing Bacteria for Wastewater Management in the Fresh Markets

Ratchawut Kotlakome[1*] Nitima Suttipanta[2] and Natapol Thongplew[1]

Received: 12 February 2020
Revised: 28 June 2020
Accepted: 23 July 2020

ABSTRACT

Wastewater is regarded as main environmental problem fresh markets. This research aims to identify and test suitable biological technologies for enhancing the efficiency of wastewater treatment of the Municipal Fresh Market 3 and Don Klang Market in Ubon Ratchathani, Thailand. The empirical results from the laboratory and pilot testing revealed that the identified bacterium *Bacillus pumilus. strain* UBU5 had the highest capacity to generate lipase enzyme with the lipase index and lipase activity of 2.99±0.47 and 287.14±0.86 unit/ml, respectively. The bacterium showed the highest efficiency for degrading oil and grease in artificial wastewater at the initial concentration of oil and grease of 250 ml/l (99.47±0.25%), at the temperature of 30°C (82.54±0.51%), and at the detention time of 40 hours (86.11±0.53%). The study also revealed that adding *B. pumilus. strain* UBU5 in 100-liter grease traps installed at restaurants degraded oil and grease for 73.20±9.05% without cleaning activity. Therefore, *B. pumilus.* strain UBU5 was efficient to reduce oil and grease in grease traps at restaurants. In addition, *B. pumilus.* strain UBU5 was able to minimize the cleaning activity of the grease traps without compromising the treatment efficiency. In summary, this study demonstrated that *B. pumilus.* strain UBU5 has a high potential to be used in grease traps in fresh markets for enhancing the wastewater treatment efficiency.

Keywords: wastewater, oil and grease, grease trap, fresh market

[1]Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University
[2]Department of Pharmaceutical Chemistry and Technology, Faculty of Pharmaceutical Science, Ubon Ratchathani University
[*]Corresponding author, email: ratchawut.k@ubu.ac.th

1. บทนำ

ประเทศในทวีปเอเชียหลายประเทศรวมถึงประเทศไทยมีตลาดสดเป็นสถานที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมให้เกิดการบริโภคอาหารที่ปลอดภัยและยังเป็นสถานที่ให้บริการเพื่อการซื้อขายสินค้าทั้งอาหารสด อาหารปรุงสุก และสินค้าที่เกี่ยวข้องกับอาหาร ซึ่งหน้าที่หลักของตลาดสด คือ การให้บริการในรูปแบบของการจัดการส่งมอบสินค้าซึ่งถูกจัดว่าอยู่ในช่วงการขนส่งขาออก (outbound logistics) [1] นอกจากนี้ตลาดสดยังทำหน้าที่สำคัญในฐานะสถานที่ที่สร้างความสัมพันธ์ของคนในพื้นที่ที่มาพบปะกันเป็นประจำ [2] ซึ่งนับว่าตลาดสดเป็นสถานที่สำคัญที่แสดงให้เห็นถึงสภาพเศรษฐกิจ สังคม และวัฒนธรรมเฉพาะถิ่นของพื้นที่นั้นๆ [2-3]

สถานการณ์ปัจจุบันของประเทศไทยพบว่าระบบค้าปลีกสมัยใหม่ เช่น ซุปเปอร์มาเก็ต ไฮเปอร์มาเก็ต และร้านสะดวกซื้อ ได้เข้ามามีบทบาทอย่างมากในฐานะสถานที่ซื้อขายสินค้าโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมืองขนาดใหญ่ เช่น กรุงเทพมหานครและปริมณฑล รวมถึงจังหวัดอุบลราชธานี แต่ทว่าระบบค้าปลีกสมัยใหม่ดังกล่าวทำหน้าที่เพียงแค่สถานที่แลกเปลี่ยนสินค้า ไม่สามารถทำหน้าที่เป็นแหล่งสร้างความสัมพันธ์ของคนในพื้นที่หรือสถานที่ที่สะท้อนให้เห็นถึงสภาพสังคมและวัฒนธรรมของท้องถิ่นได้ จังหวัดอุบลราชธานีเป็นจังหวัดขนาดใหญ่ในเขตอีสานใต้มีตลาดสดมากกว่า 40 แห่ง ซึ่งตลาดสดยังคงเป็นแหล่งแลกเปลี่ยนสินค้าและพบปะของคนท้องถิ่นที่สำคัญ แต่ทว่ากิจกรรมต่างๆ ที่เกิดขึ้นในตลาดสดก่อให้เกิดมลพิษทางสิ่งแวดล้อมหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำเสีย (wastewater) นับว่าเป็นมลพิษทางสิ่งแวดล้อมที่สำคัญของตลาดสดในจังหวัดอุบลราชธานี หากมลพิษดังกล่าวได้รับการจัดการให้ถูกต้องตามหลักวิชาการจะสามารถช่วยเสริมการบริโภคที่ปลอดภัย ส่งเสริมการใช้ทรัพยากรให้เกิดประโยชน์สูงสุด และส่งเสริมให้การดำเนินงานของตลาดสดมีความทัดเทียมกับระบบค้าปลีกสมัยใหม่

ตลาดสดมักประสบปัญหาน้ำเสียเนื่องจากมีร้านอาหารที่มีการประกอบอาหารและร้านขายเนื้อสัตว์ ซึ่งทำให้น้ำเสียในตลาดมีค่าความเข้มข้นของน้ำมันและไขมัน (oil and grease) สูง โดยในกรณีน้ำเสียของตลาดสดในประเทศมาเลเซียมีค่าความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันสูงถึง 13-43 มิลลิกรัมต่อลิตร [4] สารประกอบเหล่านี้เมื่อปนเปื้อนกับน้ำจะลอยอยู่บนผิวน้ำทำให้เป็นมลพิษทางน้ำและก่อให้เกิดน้ำเน่าเสียได้ เพราะน้ำมันและไขมันมีความถ่วงจำเพาะต่ำกว่าโมเลกุลของน้ำทำให้การถ่ายเทออกซิเจนในน้ำลดลง ในปัจจุบันวิธีการบำบัดน้ำเสียของตลาดสดมีหลายวิธี วิธีที่ได้รับความนิยมคือถังดักไขมัน ซึ่งเป็นถังพักที่มีแผ่นกั้นขวางอยู่ในบ่อเพื่อดักไขมันไว้ให้ได้ปริมาณมาก โดยต้องมีขนาดพื้นที่ผิวของถังเพียงพอกับปริมาณไขมันที่จะลอยขึ้นมาและความเร็วของน้ำไหลภายในถังต้องมีความเร็วต่ำ บริเวณทางออกต้องป้องกันไม่ให้ไขมันหลุดออกไปได้และต้องเก็บกวาดหรือตักไขมันที่ลอยอยู่บนผิวหน้าให้หมดทุกวัน เวลาเก็บกักน้ำในถังดักไขมันควรมากกว่า 30 นาที แต่ไม่ควรนานเกินไปเพราะจะทำให้เกิดการเน่าเหม็นและส่งกลิ่นเหม็น [5] ซึ่งวิธีดังกล่าวต้องอาศัยใช้แรงงานคนตักไขมันออกทิ้งทุกวัน

จากปัญหาของระบบถังดักไขมันทำให้มีการศึกษาการกำจัดไขมันโดยวิธีทางชีววิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้จุลินทรีย์ที่เจริญได้ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของไขมัน เนื่องจากอุณหภูมิมีบทบาทสำคัญอย่างมากต่อการบำบัดไขมัน เนื่องจากระบบการบำบัดมักมีการให้ความร้อนสูงเพื่อให้อัตราการละลายของไขมันเพิ่มขึ้น ความเหนียวหนืดของของเสียลดลงและมีผลให้จุลินทรีย์สามารถใช้สารตั้งต้นได้มากขึ้น [6] จากรายงานพบว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถย่อยสลายไขมันได้ด้วยการ

ผลิตเอนไซม์ไลเปส ซึ่งเอนไซม์ไลเปสจัดอยู่ในกลุ่มของไฮโดรเลส (hydrolase) หรือเรียกว่า กลีเซอรอล-เอสเทอร์ไฮโดรเลส (glycerol ester hydrolase) หรือไตรเอซิลกลีเซอรอลเอซิลไฮโดรเลส (triacylglycerol acylhydrolase) เอนไซม์ไลเปสจะจับกับโมเลกุลของน้ำมันและไขมันและเร่งให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (hydrolysis) โดยสลายพันธะเอสเทอร์ของโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ได้เป็นกลีเซอรอล (glycerol) และกรดไขมัน (fatty acid) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมัน เช่น *Staphylococcus warneri, Bacillus cereus* และ *Pseudomonas aeruginosa* [7] *Pseudomonas aeruginosa* [8] *Pseudomonas sp.* [9] *Candida cyindracea* [10] *Candida maltose, Candida tropicalis, Yarrowia lipolytica* [11] *Bacillus sp.* [12] *Bacillus thermaleovorans* [13] และ *Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus subtilis* [14] รวมทั้งแบคทีเรียที่ยังไม่ทราบชนิด คือไอโซเลต (isolate) PTL36, PTL38, PTL41 และ PTL44 [6] โดยมีรายงานว่า ยีสต์ *Candida maltose, Candida tropicalis* และ *Yarrowia lipolytica* สามารถลดปริมาณไขมันจากน้ำเสียโรงงานปลากระป๋องได้ 53, 51 และ 82% ตามลำดับ [11] แบคทีเรีย *Bacillus-thermaleovorans* สามารถลดปริมาณไขมันจากน้ำล้างพื้นโรงงานฆ่าสัตว์ได้ 20-30% [10] แบคทีเรีย *Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus subtilis* สามารถลดความหนาของชั้นไขมันจากบ่อดักไขมันโรงครัวได้ 87.26 และ 87.34% ตามลำดับ [14] แบคทีเรีย *Bacillus pumilus* ไอโซเลท LWW5 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ได้ $85.9 \pm 0.27\%$ [15]

จากสถานการณ์การจัดการน้ำเสียของตลาดในจังหวัดอุบลราชธานีแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของปัญหาน้ำเสีย อุปสรรคในการบำบัดน้ำเสียที่เกิดจากการไม่มีการดำเนินการบำบัดน้ำเสียอย่างเต็มรูปแบบ และปัญหาในเรื่องของกำลังคนที่ใช้ในการดูแลรักษาระบบบ่อดักไขมันในการตักไขมัน จึงทำให้พบช่องว่างในการศึกษาและการนำนวัตกรรมและเทคโนโลยีเข้ามาใช้ในการจัดการน้ำเสียจากตลาดสด คือนำแบคทีเรียมาเพิ่มประสิทธิภาพของถังดักไขมันเพื่อยกระดับการจัดการน้ำเสียในตลาดสดในจังหวัดอุบลราชธานี สำหรับการวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของชุดโครงการภายใต้ชุดโครงการ นวัตกรรมและเทคโนโลยีแปรรูปอาหารปลอดภัยครบวงจร ที่เลือกตลาดสดเทศบาล 3 และตลาดดอนกลางเป็นสถานที่ดำเนินงานวิจัยโดยมีวัตถุประสงค์ 2 ข้อ คือ 1) เพื่อศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของถังดักไขมันในการบำบัดน้ำเสียด้วยแบคทีเรีย *Bacillus sp.* และ 2) เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการลดขั้นตอนการปฏิบัติงานการตักไขมันจากถังดักไขมัน

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง (Materials and methods)

การคัดแยกสายพันธุ์ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการคัดเลือกสายพันธุ์ *Bacillus sp.* การคัดแยแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปส

เก็บตัวอย่างน้ำเสียจากบ่อรวบรวมน้ำเสียของโรงอาหารมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 3 จุด (random sampling) โดยดูดตัวอย่างน้ำเสียปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ screening medium (ประกอบด้วย: แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) 5 กรัม แบคโตเปบโตน 5 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$) 1 กรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 5 กรัม, ผงสกัดจากยีสต์ 1 กรัม โบรโมครีซอล เพอร์เพิล (bromocresol purple) 0.064 กรัม และน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร) ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่แล้วนำไปบ่มและเขย่าในตู้บ่มเชื้อแบบเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaking incubator)

ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นนำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 10^{-1} ถึง 10^{-7} ด้วยน้ำกลั่นแล้วดูดน้ำเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ไปแยกเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ screening medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีที่มีการเปลี่ยนสีของโบรโมครีซอล เพอร์เพิล ในอาหารแข็งจากสีม่วงเป็นสีเหลือง จากนั้นนำโคโลนีที่มีการเปลี่ยนสีของอาหารมาทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ screening medium และนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เก็บรักษาแบคทีเรียบริสุทธิ์ไว้ในอาหารเหลว ที่มีกลีเซอรอล 20% [16] จากนั้นทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไลเปสและคำนวณดัชนีเอนไซม์ไลเปส (lipase index)

การทดสอบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส (Lipase activity)

นำแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ไลเปสทุกไอโซเลทมาทดสอบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส โดยเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว (nutrient broth) บ่มที่อุณหภูมิ37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วปรับความเข้มข้นของแบคทีเรียให้เท่ากับ 1.5×10^{8} CFU/มิลลิลิตร ดูดเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ screening medium ปริมาตร 9 มิลลิลิตร บ่มและเขย่าในตู้บ่มเชื้อแบบเขย่าควบคุมอุณหภูมิ ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 19,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใส (supernatant) ที่ได้ไปทดสอบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส

วิธีทดสอบกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส

เตรียมสารตั้งต้น ดังนี้ โพลีไวนิลแอลกอฮอล์ 2% ปริมาตร 45 มิลลิลิตร น้ำกลั่นปริมาตร 45 มิลลิลิตร และน้ำมันมะกอกปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมในบีกเกอร์ให้เข้ากัน จากนั้นนำสารตั้งต้น 2 มิลลิลิตร ผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 โมลาร์ ที่ pH 7 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสารละลายเอนไซม์ไลเปส (supernatant) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในขวดรูปชมพู่ (สำหรับการทดสอบ blank เติมอะซิโตน:เอทานอล อัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติมอะซิโตน:เอทานอล ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากนั้นเติมฟีนอฟทาลีน 4-5 หยด นำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดอกไซด์ 0.05 นอร์มอล จนเป็นสีชมพูอ่อน ทิ้งสารละลายไว้ประมาณ 30 วินาที หากพบว่าสีชมพูไม่เปลี่ยนถือว่าเป็นจุดยุติ จากนั้นคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ไลเปส [17] เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสูงที่สุดสำหรับนำไปทดสอบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ต่อไป

การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์

นำแบคทีเรียที่มีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสูงที่สุดมาเพิ่มปริมาณเซลล์ในอาหารเหลวจากนั้นนำไปบ่มและเขย่าในตู้บ่มเชื้อแบบเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรียให้เท่ากับ 1.5×10^{8} CFU/มิลลิลิตร ถ่ายเชื้อแบคทีเรียลงในขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำเสียสังเคราะห์ปริมาตร 90 มิลลิลิตร [18] จากนั้นนำมาใส่บีกเกอร์ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเติมน้ำมันปาล์มปริมาตร 0.28, 0.56, 1.11, 1.67 และ 2.2 มิลลิลิตร ละลายให้เข้ากัน นำไปใส่ขวดปรับปริมาตร เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จะได้น้ำเสียสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำมันและไขมัน เท่ากับ 250, 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากนั้นนำมาศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์

โดยอุณหภูมิที่ใช้ในการทดลอง เท่ากับ 20, 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส และระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง เท่ากับ 8, 16, 24, 32 และ 40 ชั่วโมงตามลำดับ โดยมีชุดควบคุม (control) คือ น้ำเสียสังเคราะห์ที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย นำน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและไขมันคงเหลือแล้วคำนาณหาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันและไขมัน

การระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ผลิตไลเปสด้วยวิธีการทางชีวเคมีและวิธีทางพันธุศาสตร์โมเลกุล

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้โดยดูการติดสีแกรม (gram's stain) แล้วทดสอบด้วยวิธีการทางชีวเคมีโดยชุดทดสอบ API 20E และศึกษาข้อมูลพันธุกรรมของยีนบริเวณ 16S rDNA ของเชื้อแบคทีเรียโดยสกัดดีเอ็นเอ และการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยีนบริเวณ 16S rDNA ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ 27F: 5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3' และ 1492R: 5' TACGGYT ACCTTGTTACGACTT 3' [19] ตรวจผลการเพิ่มจำนวน DNA แล้วส่งตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท IDT Technology ณ ประเทศสิงคโปร์ จากนั้นนำ rDNA ของตัวอย่างแบคทีเรียที่ได้ไปเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐาน GenBank จาก National Center for Biotechnology Information Server (NCBI) โดยใช้โปรแกรม BLASTn Algorithm และสร้างแผนภูมิลำดับวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) และสร้างความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogeny) โดยใช้โปรแกรม Mega Version 7.0

การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่ได้ในการเพิ่มประสิทธิภาพของถังดักไขมันการจัดทำและติดตั้งถังดักไขมัน

เนื่องจากตลาดสดเทศบาล 3 และตลาดดอนกลางอยู่ระหว่างการตรวจรับบ่อดักไขมันและติดตั้ง ทำให้ผู้วิจัยไม่สามารถใช้บ่อดักไขมันจากตลาดสดทั้งสองแห่งในการทดลองได้ ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงได้ทดลองขั้นต้น (preliminary experiment) โดยใช้น้ำเสียจากถังดักไขมันของร้านอาหารและครัวเรือนโดยรอบมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี เพื่อเป็นตัวแทนในการทดลองน้ำเสียของตลาดทั้งสอง

ในการทดลอง ผู้วิจัยนำถังน้ำพลาสติกเก็บน้ำขนาด 100 และ 60 ลิตร อย่างละ 3 ถัง มาดัดแปลงเป็นถังดักไขมันเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสีย (รูปที่ 1a และ 1b) แล้วนำไปติดตั้งที่บ้านเรือน 3 แห่ง และร้านค้า 3 แห่ง โดยพิจารณาเลือกขนาดถังดักไขมันตามความเหมาะสมของสถานที่

(a) (b)

รูปที่ 1 ถังดักไขมัน (a) ภายนอกของถังดักไขมัน และ (b) ภายในของถังดักไขมัน

จากนั้นทำการเติมแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในถังดักไขมันขนาด 100 ลิตร ที่ติดตั้งที่ร้านอาหาร จำนวน 1 ครั้ง สำหรับถังดักไขมันขนาด 60 ลิตร ที่ติดตั้งไว้ที่ครัวเรือนไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย กำหนดความถี่ในการตักไขมันออกจากถังในแต่ละสถานที่ให้มีความแตกต่างกัน และเก็บตัวอย่างน้ำเสียจากถังดักไขมันสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รายละเอียดของรูปแบบการทดลอง ขนาด สถานที่ติดตั้ง และความถี่ในการตักไขมันในถังดักไขมัน

ลำดับ	รูปแบบการทดลอง	ขนาดถังดักไขมันที่ติดตั้ง	สถานที่ติดตั้ง	ความถี่ของการตักไขมัน
ถังที่ 1	น้ำเสีย	60 ลิตร	ครัวเรือน	ทุกวัน
ถังที่ 2	น้ำเสีย	60 ลิตร	ครัวเรือน	ตักทุกสัปดาห์
ถังที่ 3	น้ำเสีย	60 ลิตร	ครัวเรือน	ไม่ตักไขมัน
ถังที่ 4	น้ำเสียร่วมกับการเติม *Bacillus sp.*	100 ลิตร	ร้านอาหาร	ทุกวัน
ถังที่ 5	น้ำเสียร่วมกับการเติม *Bacillus sp.*	100 ลิตร	ร้านอาหาร	ตักทุกสัปดาห์
ถังที่ 6	น้ำเสียร่วมกับการเติม *Bacillus sp.*	100 ลิตร	ร้านอาหาร	ไม่ตักไขมัน

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียในถังดักไขมัน

การวิเคราะห์น้ำมันและไขมัน

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันและไขมันทำโดยใช้วิธีพาร์ทิชั่น-ชั่งน้ำหนัก (partition-gravimetric method) โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน (hexane) [20] สกัดน้ำมันและไขมันออกจากตัวอย่างน้ำ แล้วแยกตัวทำละลายออกโดยนำไประเหยให้เหลือแต่น้ำมันและไขมัน จากนั้นนำไปชั่งหาน้ำหนักแล้วคำนวณค่าน้ำมันและไขมันได้จากสมการ

$$\text{น้ำมันและไขมัน (มิลลิกรัม/ลิตร} = \frac{(\text{น้ำหนักถ้วยกระเบื้องหลัง-น้ำหนักถ้วยกระเบื้องก่อน}) \times 10^6}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มล.)}}$$

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลดัชนีและกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสใช้ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน การวิเคราะห์ข้อมูลประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการย่อยสลายน้ำมัน และไขมันในน้ำเสียใช้ค่าเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ F-test (One-way ANOVA) โดยทดสอบที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ส่วนการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียในบ่อดักไขมันใช้ค่าเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3. ผลการทดลอง (Results)

การคัดแยกสายพันธุ์ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการคัดเลือกสายพันธุ์ *Bacillus sp.*

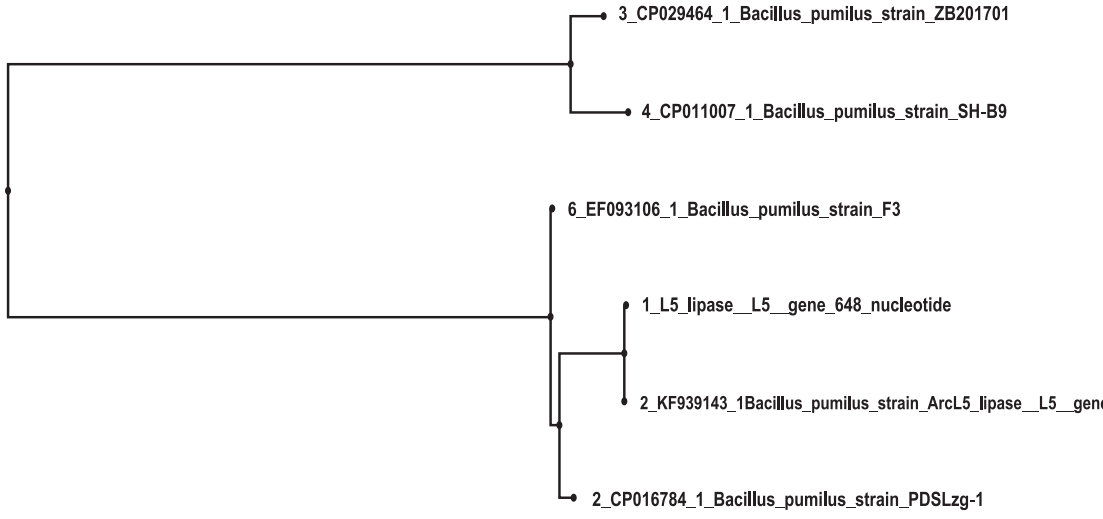
สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสจากบ่อรวบรวมน้ำเสียของโรงอาหารมหาวิทยาลัยอุบลราชธานีได้ 5 ไอโซเลท คือ L1, L2, L3, L4 และ L5 พบว่าเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลท มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ คือ สีขาวขุ่น รูปร่างกลม (circular) ผิวหน้าโคโลนีเรียบ (smooth) ขอบเรียบ (entire) สีขาวทึบไม่ให้แสงผ่าน (opaque) โคโลนีเละคล้ายเนยเหลว (butyrous) แต่ลักษณะโคโลนีของ L1-L4 จะนูน (convex) จากอาหารเล็กน้อย ขณะที่ L5 โคโลนีจะแบนราบ (flat) บนผิวอาหารเมื่อย้อมแกรม พบว่า L1, L2, L3, L4 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น (rod) การจัดเรียงตัวกระจัดกระจาย (scatter) ส่วนไอโซเลท L5 เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อนสั้น การจัดเรียงตัวเป็นเส้นสาย (chain) สำหรับการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสวัดโดยการดูบริเวณใส (clear zone) บนอาหารไตรบูไทริน อาการ์ (tributyrin agar) พบว่า ไอโซเลท L1, L2, L3, L4 และ L5 มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสเฉลี่ยเท่ากับ 1.27 ± 0.07, 1.31 ± 0.67, 2.22 ± 0.63, 1.28 ± 0.08 และ 2.99 ± 0.47 ตามลำดับ และพบว่ามีค่ากิจกรรมเอนไซม์ไลเปส เฉลี่ยเท่ากับ 144.14 ± 4.50, 109.17 ± 9.45, 128.31 ± 5.20, 137.77 ± 4.50 และ 287.14 ± 2.86 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้ไอโซเลท L5 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสูงที่สุด จึงนำไปใช้ในการศึกษาหาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ของแบคทีเรียไอโซเลท L5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยความเข้มข้นเริ่มต้น 250, 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันเฉลี่ยเท่ากับ $99.47 \pm 0.25\%$, $95.33 \pm 0.65\%$, $87.58 \pm 0.64\%$, $75.21 \pm 0.34\%$ และ $70.87 \pm 0.21\%$ ตามลำดับ เมื่อประเมินค่าทางสถิติแสดงให้เห็นว่า ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำมันและไขมันมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันและไขมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value ≤ 0.05) โดยความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ผลการทดลองด้านอุณหภูมิพบว่า ที่อุณหภูมิ 20, 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำมันและไขมัน 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันที่ใกล้เคียงกับในน้ำเสียจริงและใช้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันเฉลี่ย เท่ากับ $61.24 \pm 0.20\%$, $65.31 \pm 0.25\%$, $82.54 \pm 0.51\%$, $74.40 \pm 0.57\%$ และ $67.64 \pm 0.73\%$ ตามลำดับ เมื่อประเมินค่าทางสถิติแสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิ

มีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันและไขมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value ≤ 0.05) โดยอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ผลการทดลองด้านของระยะเวลาที่ใช้พบว่า ที่ระยะเวลา 8, 16, 24, 32 และ 40 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำมันและไขมัน 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตร และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันเฉลี่ยเท่ากับ $30.53 \pm 0.28\%$, $50.86 \pm 0.37\%$, $82.54 \pm 0.51\%$, $85.91 \pm 0.64\%$ และ $86.11 \pm 0.53\%$ ตามลำดับ ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันสูงที่ระยะเวลา 32 และ 40 ชั่วโมง แต่ประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันและไขมันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value ≤ 0.05) หลัง 24 ชั่วโมง

จากการระบุสายพันธุ์จากข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียไอโซเลท L5 โดยใช้เทคนิค 16S rDNA gene sequencing และได้ทำการฝากไว้ใน GenBank โดยระบุ Accession no : 7458124 ซึ่งแสดงผลออกมาในรูปแบบแผนภูมิ phylogenetic tree (รูปที่ 2) และนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ *Bacillus sp.* ในฐานข้อมูลของ Genbank และสร้างความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ พบว่าไอโซเลท L5 เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ใน *Bacillaceae* มีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *Bacillus pumilus*

แบคทีเรียไอโซเลท L5 มีลำดับนิวคลีโอไทด์คล้ายกับ (sequence homology) KF939143 ซึ่งเป็นเชื้อ *Bacillus puminis strain ARL 5lipase* โดยมีค่า identity เท่ากับ 99.69% (ตารางที่ 2) จึงเรียกแบคทีเรียไอโซเลท L5 ว่า *Bacillus pumilus. strain* UBU5 และจากการทดสอบด้วยวิธีทางชีวเคมีพบว่าแบคทีเรียไอโซเลท L5 มีความใกล้เคียงกับ *Bacillus pumilus* เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 3)



รูปที่ 2 Phylogenetic Tree

ตารางที่ 2 Sequence Producing Significant Alignments

Accession No.	Description	E-value	Percent identity
KF939143.1	*Bacillus pumilus* strain ArcL5 lipase (L5) gene, complete cds	0.0	99.69%
CP029464.1	*Bacillus pumilus* strain ZB201701 chromosome, complete genome	0.0	93.98%
CP011007.1	*Bacillus pumilus* strain SH-B9, complete genome	0.0	93.52%
CP016784.1	*Bacillus pumilus* strain PDSLzg-1, complete genome	0.0	92.90%
EF093106.1	*Bacillus pumilus* strain F3 lipase precursor, gene, complete cds	0.0	92.59%

ตารางที่ 3 การระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียด้วยวิธีการทางชีวเคมี (biochemical test)

การทดสอบ	ผลการทดสอบ	*Bacillus pumilus* (William, B. W. et al., 2009)
การติดสีแกรม	+ve	+ve
D–ribose	+	+
D–glucose	+	+
D–mannitol	+	+
D–maltose	–	–
L–arabinose	+	+
D–sorbital	–	–
Glycogene	–	–
L–arabitol	–	–
D–trehalose	+	+

หมายเหตุ: +ve = gram positive, ให้ผลเป็น = –negative, ให้ผลเป็น = +positive

การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการบำบัดน้ำเสียในถังดักไขมัน

จากการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการบำบัดน้ำเสียในถังดักไขมันขนาด 100 ลิตร จากร้านอาหารที่มีการเติมเชื้อ *B. pumilus. strain* UBU5 ปริมาณ 500 มิลลิลิตร พบว่ากรณีที่ไม่มีการตักไขมัน (ถังที่ 6) มีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันดีที่สุด รองลงมาคือ กรณีตักไขมันทุกสัปดาห์ (ถังที่ 5) และตักไขมันทุกวัน (ถังที่ 4) มีประสิทธิภาพในการบำบัดเฉลี่ยเท่ากับ $73.2 \pm 9.05\%$, $53.66 \pm 17.52\%$ และ $46.28 \pm 18.93\%$ ตามลำดับ สำหรับประสิทธิภาพในการบำบัดไขมันและน้ำมันในถังดัก

ไขมันขนาด 60 ลิตร จากครัวเรือนที่ไม่มีการเติมเชื้อ *B. pumilus. strain* UBU5 พบว่ากรณีที่ไม่มีการตักไขมัน (ถังที่ 3) มีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันดีที่สุดรองลงมาคือ กรณีตักไขมันทุกสัปดาห์ (ถังที่ 2) และตักไขมันทุกวัน (ถังที่ 1) มีประสิทธิภาพในการบำบัดเฉลี่ยเท่ากับ 60.09 ± 10.86%, 52.00 ± 7.21% และ 47.91 ± 25.32% ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมันและไขมัน ของน้ำเสียในบ่อดักไขมันด้วยถังดักไขมันอย่างง่าย

ลำดับ	รูปแบบการทดลอง	ความถี่ของการตักไขมัน	ประสิทธิภาพการกำจัดไขมันและน้ำมัน (%)
ถังที่ 1	น้ำเสีย	ทุกวัน	47.91 ± 25.32
ถังที่ 2	น้ำเสีย	ตักทุกสัปดาห์	52.00 ± 7.21
ถังที่ 3	น้ำเสีย	ไม่ตักไขมัน	60.09 ± 10.86
ถังที่ 4	น้ำเสีย + *Bacillus pumilus. strain* UBU5	ทุกวัน	46.28 ± 18.93
ถังที่ 5	น้ำเสีย + *Bacillus pumilus. strain* UBU5	ตักทุกสัปดาห์	53.66 ± 17.52
ถังที่ 6	น้ำเสีย + *Bacillus pumilus. strain* UBU5	ไม่ตักไขมัน	73.20 ± 9.05

4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง (Conclusion and discussion)

จากการคัดแยกแบคทีเรีย *Bacillus pumilus. strain* UBU5 จากน้ำเสียพบว่ามีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ดีที่สุด โดยมีค่าดัชนีและค่ากิจกรรมเอนไซม์ไลเปสเฉลี่ยเท่ากับ 2.99 ± 0.47 และ 287.14 ± 2.86 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำมันและไขมันเท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร แบคทีเรีย *B. pumilus. strain* UBU5 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันสูงสุดเฉลี่ย 99.47 ± 0.25% และประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันลดลงเมื่อความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำมันและไขมันเพิ่มขึ้น และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมของแบคทีเรียชนิดนี้ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันเฉลี่ยดีที่สุดคือ 82.54 ± 0.51% เนื่องจากอุณหภูมิที่ต่ำหรือสูงมากเกินไปส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย นอกจากนี้พบว่าที่ระยะเวลา 40 ชั่วโมง แบคทีเรีย *B. pumilus. strain* UBU5 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันเฉลี่ยดีที่สุดคือ 86.11 ± 0.53% แสดงให้เห็นว่าเมื่อระยะเวลามากขึ้นมีผลทำให้ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมันและไขมันเพิ่มขึ้นด้วย

จากการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการบำบัดน้ำมันและไขมันในถังดักไขมันขนาด 100 ลิตร จากร้านอาหารที่มีการเติมเชื้อ *B. pumilus. strain* UBU5 ปริมาณ 500 มิลลิลิตร และถังดักไขมันขนาด 60 ลิตร จากครัวเรือนที่ไม่มีการเติมเชื้อ *B. pumilus. strain* UBU5 กรณีไม่มีการตักไขมันออกจากถังดักไขมัน พบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันเฉลี่ยดีที่สุด คือ 73.20 ± 9.05% และ 60.09 ± 10.86%

ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าความถี่ในการตักไขมันในถังดักไขมันน้อยครั้งมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันมากขึ้น อาจเนื่องมาจากการตักไขมันออกในแต่ละครั้งมีโอกาสทำให้เชื้อ *B. pumilus. strain* UBU5 หลุดออกไปกับไขมันที่ตักออกและจากการติดตั้งถังดักไขมันในบ้านเรือนและร้านอาหารในการวิจัยครั้งนี้เป็นการติดตั้งถังดักไขมันที่ต่อจากอ่างล้างจานโดยตรงซึ่งเป็นการไหลของน้ำเสียแบบไหลตามกัน (plug flow) อาจทำให้ปริมาณเชื้อ *B. pumilus. strain* UBU5 ที่เติมลงไปในถังดักไขมันในครั้งแรกเพียงครั้งเดียวไหลรวมออกไปกับน้ำทิ้งได้และเมื่อพิจารณาขนาดของถังดักไขมันจากครัวเรือนขนาด 60 ลิตร และจากร้านอาหารขนาด 100 ลิตร พบว่า ขนาดของถังดักไขมันมีผลต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำมันและไขมัน เนื่องจากความจุของถังที่แตกต่างกันทำให้น้ำเสียภายในถังมีระยะเวลาพักตัว (hydraulic retention time) ที่ต่างกันด้วยซึ่งในการทดลองครั้งนี้อัตราการไหลของน้ำเสียที่เข้าถังดักไขมันขึ้นอยู่กับปริมาณการใช้น้ำจริงของแต่ละสถานที่ที่ทำการติดตั้งถังดักไขมันและในน้ำเสียที่ไหลเข้าถังดักไขมันอาจมีแบคทีเรียชนิดอื่นที่มีความสามารถในการกำจัดน้ำมันและไขมันรวมอยู่ด้วย ซึ่งในประเด็นนี้ทางผู้วิจัยยังไม่สามารถที่จะควบคุมคุณลักษณะของน้ำเสียที่เข้าถังดักไขมันได้เนื่องจากเป็นการใช้งานจริง จากผลการวิจัยนี้ร้านอาหารสามารถนำถังดักไขมันไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนน้ำมันและไขมันได้และนอกจากนี้ยังช่วยลดความถี่ในการตักน้ำมันและไขมันออกจากถังดักไขมัน ซึ่งเป็นการลดขั้นตอนในการปฏิบัติงานในการตักไขมันจากถังดักไขมันออกทุกวันเป็นการตักออกอย่างน้อยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

ในสภาวะที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำมันและไขมันเพิ่มขึ้นพบว่า *B. pumilus. strain* UBU5 มีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันและไขมันมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำมันและไขมันที่มีปริมาณมาก ทำให้มีแรงตึงผิวของน้ำมันเคลือบที่ผิวน้ำมากทำให้การหลั่งเอนไซม์ไลเปสลดลงส่งผลให้แบคทีเรียมีการเจริญและมีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสลดลง [21] ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Abooalfazl และคณะ [22] พบว่า *Pseudomonas stutzeri, Acinetobacter baumannii* และ *Bacillus cereus* มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันและไขมันเพิ่มมากขึ้น แบคทีเรีย *B. pumilus. strain* UBU5 มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายไขมันอยู่ที่ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่ระบุว่า แบคทีเรียส่วนใหญ่จะเจริญเติบโตและผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ดีในอุณหภูมิสูง [6] และสอดคล้องกับผลการทดลองของ Abooalfazl และคณะ [22] ที่พบว่า อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แบคทีเรีย *Pseudomonas sp.* มีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันและไขมันเท่ากับ $88 \pm 2.50\%$ และเมื่ออุณหภูมิมากกว่า 30 องศาเซลเซียส แบคทีเรียชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันลดลง

การบำบัดน้ำเสียโดยใช้ถังดักไขมันที่มีการเติมแบคทีเรีย *B. pumilus. strain* UBU5 เพื่อใช้ในร้านอาหารนั้นมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำมันและไขมัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ พรพิมล มุขขันธ์ และคณะ [23] ที่พบว่า *Bacillus Subtilis* มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมันพืชและไขมันหมูในน้ำเสียสังเคราะห์ได้ 7.20% และ 10.72% และประชุมพร เลาห์ประเสริฐ และคณะ [24] พบว่า แบคทีเรียคัดสายพันธุ์ *Bacillus Subtilis* มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมันของน้ำเสียจากโรงอาหารมหาวิทยาลัยมหาสารคามได้ 32.65% ตามลำดับ

จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่างานวิจัยในอนาคตควรมุ่งเน้นเพื่อศึกษาหาปริมาณสัดส่วนที่เหมาะสมของแบคทีเรีย *B. pumilus. strain* UBU5 เพื่อระบุปริมาณการใช้ในสภาพบ่อดักไขมันจริง และเปรียบเทียบกับแบคทีเรียชนิดอื่นที่สามารถกำจัดน้ำมันและไขมันได้โดยเปรียบเทียบความถี่ของจำนวนครั้ง

ที่ทำการเติมเชื้อแบคทีเรียและอาจใช้วิธีการตรึงแบคทีเรียหรือเอนไซม์ร่วมด้วยเนื่องจากระบบน้ำในถังดักไขมันที่ไม่นิ่งจากการที่มีน้ำเข้าและออกจากถังตลอดเวลา รวมถึงศึกษาประสิทธิภาพการนำแบคทีเรียชนิดนี้ไปใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของระบบถังดักไขมันของตลาดต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Porter, M. E. (2011). *Competitive advantage of nations.* Free Press, New York.
2. Wertheim-Heck, S. C. O., Spaargaren, G., & Vellema, S. (2014). Food safety in everyday life: Shopping for vegetables in a rural city in Vietnam. *Journal of Rural Studies, 35,* 37-48.
3. Chaiwanichaya, S. (2018). Development of provincial markets in the Ubon Ratchathani municipality area. *Humanities and Social Sciences. 35,* 142–169. (in Thai)
4. Jais, N. M., Mohamed, R. M. S . R., Apandi, W. A. W. M., and Paralta, H. M. M. (2015). Removal of nutrients and selected heavy metal in wet market wastewater by using microalgae Scenedesmus sp. Journal of Applied Mechanics and Materials, 773-774, 1210-1214.
5. Udomsinroj, K. (2009). Wastewater Treatment (2nd ed.). Bangkok, Mitrnaraprin. (in Thai)
6. Pattanapipitpaisal, P. (2005). Screening of lipase-producing thermotolerant bacteria. *Journal of Ubonratchathani University, 7*(1), 98-114. (in Thai)
7. Prasad, M. P., & Manjunath, K. (2011). Comparative study on biodegradation of lipid-rich wastewater using lipase producing bacterial species. *Indian Journal of Biotechnology, 10*(1), 121-124.
8. Martinez, A., & Sober, G. (2001). Characterization of the *lipA* gene encoding the major lipase from *Pseudomonas aeruginosa* strain IGB83. *Applied Microbiology and Biotechnology, 56*(5-6), 731-735.
9. Rashid N., Shimada Y., Ezaki S., Atomi H., & Imanaka, T. (2001). Low-temperature lipase from psychrotrophic *Pseudomonas sp.* Strain KB700A. *Applied and Environmental Microbiology, 67,* 4064–4069.
10. Becker, P., Koster, D., Popov, M. N., Markossian, S., Antranikian, G., & 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.
11. Nonthirach, I. & Pungrasmi, W. (2011). Treatment of oily wastewater by yeast. *Journal of Environmental Management, 7*(2), 1-9 (in Thai)
12. Nascimento, W.C.A., & Martins, M.L.L. (2004). Production and properties of an extracellular protease from thermophilic *Bacillus sp. Brazilian Journal of Microbiology, 35,* 91-96.
13. Markossian, S., Becker, P., Marc, H., & Antranikian, G. (2000). Isolation characterization of lipid degrading *Bacillus thermoleovorans* IHI91 from an ice landing hot spring. *Extremophiles, 4,* 365-371.

14. Tongpitak, T., Lauprasert, P., & Dungkokruad, N. (2012). Kitchen grease trap wastewater treatment using *Staphylococcus epidermidis, Bacillus subtilis,* AND Effective Microorganisms (EM). *Research and Development Health System Journal, 5*(2), 1-6. (in Thai)
15. [Thongkrua, S., Attapong, M., & Sunpa, S. (2018). The efficiency of bacteria in degradation of fat, oil and grease in synthetic wastewater. *Journal of Science and Technology Nakhon Sawan Rajaphat University, 10*(11), 75-88. (in Thai)
16. Matsumiya, Y., Wakita, D., Kimura A., Sanpa, S. & Kubo, M. (2007). Isolation and characterization of a lipid-degrading bacterium and its application to lipid containing wastewater treatment. *Journal of Bioscience and Bioengineering, 103*(4), 325–330.
17. Horoni, H. K., (1996). Thermotolerant strain of *Bacillus licheniformis* producing lipase. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 12*(4), 399-401.
18. Chigusa, K., Hasegawa, T., Yamamoto, N., & Wanabe, Y. (1996). Treatment of wastewater from oil manufacturing plant by yeasts. *Water Science and Technology, 34*(11), 51-58.
19. Lane, D. J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. In E. Stackebrandt, & M. Goodfellow (Eds.), *Nucleic acid techniques in bacterial systematics* (pp. 115-175). Wiley, Chichester, UK
20. Tanthunwet, M. (2000). *Water quality analysis guides* (4^{th} ed.). Bangkok. Chulalongkorn University. (in Thai)
21. Gerardo, C., & Sergio, R. (1999). Production and characteristic of the lipase from *Yarrowia lipolytica 681. Journal of Bioresourse Technology, 70*(2), 173-180.
22. Abooalfazl, A., Bagher, M., & Gholamreza, M. (2014). Oily wastewaters treatment using *Pseudomonas sp.* isolated from the compost fertilizer. *Journal of Environmental Health Science & Engineering, 12*(77), 1-7.
23. Mukkun, P., Arsa, P., & Noidadang, P. (2017). Isolation and lipid decomposition efficiency of bacteria isolated from canteen wastewater. *Journal of Science and Technology RMUTT, 7*(2), 241-250. (In Thai)
24. Lauprasert, P., Paengjan, P., Chansirirattana, J., & Khunaprom, K. (2015). Treatment of fat-oil and grease in wastewater from canteen grease traps by selected bacteria. *Journal of Science and Technology, 7*(13), 41-49. (in Thai)