

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปส
กับการใช้เอนไซม์ไลเปสทางการค้าในการกำจัดน้ำมันและไขมัน
ที่ปนเปื้อนในน้ำเสียของโรงงานผลิตอาหารแปรรูป

A Comparative Study on The Efficiency of Lipase Producing Bacteria and
Commercial Lipase Enzyme Usage in Oil Removal and Grease Contaminated
from Food Processing Industry Wastewater

กชพรรณ วรณธาดา¹, ศิราภรณ์ ชื่นบาล^{1*}, รุปน ชื่นบาล¹, ศรีกาญจนา คล้ายเรือง²
Kotchaphun Worathanathada¹, Siraporn Cheunbarn^{1*}, Tapana Cheunbarn¹, Srikanjana Klayraung²

¹หลักสูตรเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

¹Program in Environmental Technology, Faculty of Science Maejo University

²หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

²Program in Biotechnology, Faculty of Science Maejo University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างการใช้แบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสและการใช้เอนไซม์ไลเปสทางการค้าในการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียโรงงานผลิตอาหารแปรรูป รวมไปถึงการเปรียบเทียบค่าใช้จ่าย การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ ได้แก่ *Bacillus tropicus* และ *Bacillus thuringiensis* และแบบผสมของทั้ง 2 สายพันธุ์ ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เติมน้ำมันพืชร้อยละ 10 โดยปริมาตร พบว่าการเลี้ยงเชื้อ *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) มีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันได้สูงที่สุด เมื่อทำการทดสอบเปรียบเทียบการย่อยสลายไขมันและน้ำมันระหว่างแบคทีเรียและเอนไซม์ทางการค้าโดยใช้น้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็งด้วยถังปฏิกรณ์ขนาด 20 ลิตร ที่อุณหภูมิห้อง และเติมอากาศเป็นระยะเวลา 14 วัน ผลการศึกษาพบว่า *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียได้ดีกว่าเอนไซม์ทางการค้า โดยมีประสิทธิภาพเท่ากับร้อยละ 57.1 ± 0.945 และ 55.6 ± 0.082 ในการกำจัดน้ำมันและไขมัน และค่าความต้องการออกซิเจนทางเคมี ตามลำดับ ในขณะที่เอนไซม์ทางการค้ามีประสิทธิภาพเพียงร้อยละ 49.2 ± 3.323 และ 44.4 ± 0.216 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าต้นทุนการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันด้วยแบคทีเรียต่ำกว่าการใช้เอนไซม์ไลเปสทางการค้าประมาณ 5.2 เท่าต่อน้ำเสีย 1 ลูกบาศก์เมตร

คำสำคัญ: เอนไซม์ไลเปส น้ำมัน ไขมัน น้ำเสีย *B. tropicus* *B. thuringiensis*

* Corresponding author : kotchaphun152521@gmail.com

Abstract

This research aimed to compare the efficacy of using lipase-producing bacteria and commercial lipase enzyme for removing oil and grease in wastewater from food processing plants, including the cost comparison. In this study, each pure culture of *Bacillus tropicus*, *Bacillus thuringiensis* and mixed cultures of both strains were cultured in synthetic wastewater containing 10% vegetable oil by volume. It was found that the using of pure culture of *B. tropicus* 5% (v/v), showed the highest efficiency to remove oil and grease. The comparison of the oil and grease degradation between the studied bacteria and commercial enzymes was investigated. The wastewater from frozen chicken processing plants was used for the experiment with 20 liter reactors at room temperature and aerated for 14 days. The results showed that *B. tropicus* 5% (v/v) had more effective in treating wastewater than commercial enzymes with $57.1 \pm 0.945\%$ and $55.6 \pm 0.082\%$ in oil and grease degradation and chemical oxygen demand, while commercial enzymes had efficiency only $49.2 \pm 3.323\%$ and $44.4 \pm 0.216\%$, respectively. In addition, it was found that the cost of treating oily wastewater with bacteria was lower than using commercial lipases enzyme around 5.2 times per cubic meter of wastewater.

Keywords: Lipase, Oil, Grease, Wastewater, *B. tropicus*, *B. thuringiensis*

1. บทนำ

อุตสาหกรรมแปรรูปอาหารของไทยนั้น ถือเป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมการผลิตที่มีขีดความสามารถทางการแข่งขันในการส่งออกสูง โดยเฉพาะกระบวนการแปรรูปเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ ซึ่งในกระบวนการผลิตและการแปรรูปนั้นจะมีน้ำมันและไขมันปนเปื้อนออกมากับน้ำเสีย เมื่อปนเปื้อนสู่แหล่งน้ำย่อมก่อให้เกิดปัญหาเนื่องจากน้ำเสียที่มีน้ำมันหรือไขมันเจือปนอยู่มากเมื่อถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำ จะทำให้เกิดเป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ อยู่เหนือบริเวณของผิวน้ำ บดบังแสงอาทิตย์และเป็นอุปสรรคต่อการแลกเปลี่ยนก๊าซ ซึ่งส่งผลให้กระบวนการสังเคราะห์แสงลดลงทำให้ปริมาณก๊าซออกซิเจนในน้ำลดน้อยลง ส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ (Jeganathan et al., 2007; Fingas, 2015) ดังนั้นน้ำเสียจึงจำเป็นต้องได้รับการบำบัดก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันและไขมันยังส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสีย โดยทำให้เกิดภาวะบรทุกสารอินทรีย์ที่มากเกินไป และทำให้เกิดการอุดตันในโครงสร้างพื้นฐานของระบบบำบัด เป็นสาเหตุหลักของการเพิ่มขึ้นของค่าใช้จ่ายในการเดินระบบและการบำรุงรักษา (Wallace et al., 2017) มีการประมาณการว่าในการกำจัดน้ำมันและไขมันนั้นมีมูลค่าประมาณร้อยละ 25 ของราคาในการกำจัดของเสียทั้งหมด (Salimbeni & Magnolfi, 2015) สำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันเป็นองค์ประกอบนั้น โดยทั่วไปมีวิธีการบำบัดหลายรูปแบบ ได้แก่ ทางเคมี ทางกายภาพ และชีวภาพ (Izanloo et al., 2010; Salahi et al., 2014; Louhichi

et al., 2019) อย่างไรก็ตาม พบว่ากระบวนการทางกายภาพและทางเคมีนั้นก่อให้เกิดปัญหาตามมา เช่น การตกค้างของสารเคมี และค่าใช้จ่ายที่เพิ่มสูงขึ้นจากการใช้พลังงาน (Demiral et al., 2005) รวมไปถึงข้อจำกัดเมื่อน้ำมันและไขมันนั้นมีขนาดที่เล็กมาก เช่น soluble oil หรือ emulsified oil ดังนั้นกระบวนการทางชีวภาพจึงเป็นทางเลือกที่สำคัญ (Yu et al., 2017) ทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในปัจจุบัน ได้แก่ การใช้เอนไซม์ไลเปส ซึ่งสามารถย่อยสลายน้ำมันและไขมันให้เป็นกลีเซอไรด์และกรดไขมันได้ (Adulkar & Rathod, 2015) โดยในปัจจุบันมีเอนไซม์ทางการค้าหลายชนิดที่สามารถทำงานได้ดีแต่ถือเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิต เนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวมีราคาค่อนข้างสูงและเสื่อมอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิต การเพิ่มแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ในระบบบำบัดน้ำเสียจึงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดในการบำบัดน้ำมันและไขมันได้ (Salihu et al., 2011) สำหรับแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้มีด้วยกันหลายชนิด เช่น *Bacillus pumilus*, *Serratia quinivorans* (มาริสา อัดดาพงศ์, 2560) และ *Bacillus thuringiensis* (Olaposi et al., 2020) เป็นต้น ดังนั้น การใช้เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ถือเป็นการทางเลือกหนึ่งที่สามารถช่วยลดต้นทุนในการบำบัดน้ำเสีย

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างการใช้แบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสในการกำจัดน้ำมันและไขมันของน้ำเสียโรงงานผลิตอาหารแปรรูป และการใช้เอนไซม์ทางการค้า รวมไปถึงการเปรียบเทียบค่าใช้จ่าย สำหรับการศึกษาครั้งนี้ใช้น้ำเสียจากโรงงานอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็งเพื่อเป็นตัวแทนของน้ำเสียโรงงานผลิตอาหารแปรรูป โดยเลือกใช้แบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus tropicus* และ *Bacillus thuringiensis* ซึ่งคัดเลือกได้จากน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันเป็นองค์ประกอบที่พบว่ามีสามารถย่อยสลายไขมันและน้ำมันได้

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างการใช้แบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสในการกำจัดน้ำมันและไขมันของน้ำเสียโรงงานผลิตอาหารแปรรูป และการใช้เอนไซม์ทางการค้า

2.2 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันด้วยการใช้แบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสและการใช้เอนไซม์ทางการค้า

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปส

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ใช้แบคทีเรียจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. tropicus* และ *B. thuringiensis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ได้รับการทดสอบแล้วว่ามีความมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมันและน้ำมัน และเป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรค ซึ่งแบคทีเรียทั้งสอง สายพันธุ์คัดแยกได้จากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็งที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ โดยนำเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ *B. tropicus* และ *B. thuringiensis* มาศึกษาสัณฐานวิทยาด้วยการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) เพื่อศึกษาลักษณะของโคโลนี และนำมาทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส

(Lipase activity) ด้วยวิธีของ Khyami-Horani, 1996 หลังจากนั้น นำเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดมาเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวสูตร Nutrient Broth (NB) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (OD_{660}) เท่ากับ 0.5 เพื่อนำมาใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้น

3.2 การศึกษาชนิดและอัตราส่วนที่เหมาะสมของแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสียสังเคราะห์ในสภาวะห้องปฏิบัติการ

เตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ตามวิธีของ สุวัฒน์ศักดิ์, 2551 โดยให้น้ำเสียที่มีค่า COD ใกล้เคียงกับน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็ง พร้อมทั้งเติมน้ำมันถั่วเหลืองยี่ห้ออรุณ เข้มข้นร้อยละ 10 (v/v) นำน้ำเสียที่เตรียมได้ไปทดสอบการย่อยสลายไขมันและน้ำมัน โดยเติมน้ำเสีย 100 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำเชื้อ *B. tropicus* และ *B. thuringiensis* ลงในขวด อัตราส่วนร้อยละ 5 และ 10 (v/v) ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน โดยวางแผนการทดลองออกเป็น 7 ชุดการทดลอง การทดลองละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำเสียสังเคราะห์)

ชุดการทดลองที่ 2 *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v)

ชุดการทดลองที่ 3 *B. tropicus* ร้อยละ 10 (v/v)

ชุดการทดลองที่ 4 *B. thuringiensis* ร้อยละ 5 (v/v)

ชุดการทดลองที่ 5 *B. thuringiensis* ร้อยละ 10 (v/v)

ชุดการทดลองที่ 6 เชื้อแบคทีเรียผสม *B. tropicus* และ *B. thuringiensis* อัตราส่วน 1:1 ร้อยละ 5 (v/v)

ชุดการทดลองที่ 7 เชื้อแบคทีเรียผสม *B. tropicus* และ *B. thuringiensis* อัตราส่วน 1:1 ร้อยละ 10 (v/v)

วิเคราะห์ปริมาณไขมันและน้ำมันในวันเริ่มต้นและวันที่ 7 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันและไขมันของแบคทีเรียแต่ละชนิด และทำการคัดเลือกชุดการทดลองที่สามารถกำจัดน้ำมันและไขมันได้ดีที่สุดเพื่อนำไปทดลองลำดับต่อไป สำหรับประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันและไขมัน แสดงในสมการที่ 1

$$\text{ประสิทธิภาพของระบบ (\%)} = \frac{[\text{ความเข้มข้นเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)} - \text{ความเข้มข้นสุดท้าย (กรัมต่อลิตร)}] \times 100}{\text{ความเข้มข้นเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)}} \quad (1)$$

3.3 ศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสและเอนไซม์ทางการค้าในการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็ง

นำน้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็งที่ผ่านบ่อดักไขมันแล้ว ไปทดสอบการกำจัดน้ำมันและไขมันด้วยแบคทีเรียที่ได้จากชุดการทดลองที่คัดเลือกได้และเอนไซม์ทางการค้า โดยใช้ถังปฏิกรณ์เป็นพลาสติกทึบ ขนาด 20 ลิตร ใช้ น้ำเสีย 15 ลิตร เติมน้ำอากาศ เป็นเวลา 14 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 วัน และ

ศึกษาค่า pH ประสิทธิภาพของการบำบัดไขมันและน้ำมัน และค่าความต้องการออกซิเจนทางเคมี (Chemical Oxygen Demand; COD) โดยทำการวางแผนการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง การทดลองละ 3 ซ้ำ ดังนี้

- ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็ง)
- ชุดการทดลองที่ 2 แบคทีเรีย ที่สามารถกำจัดน้ำมันและไขมันได้ดีที่สุดที่คัดเลือกได้
- ชุดการทดลองที่ 3 เอนไซม์ทางการค้า จำนวน 0.5 มิลลิลิตร : น้ำตัวอย่าง 1 ลิตร (อัตราส่วนที่ใช้จริงในโรงงาน)

สำหรับประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันและน้ำมันและค่า COD แสดงในสมการที่ 1

3.4 สถิติที่ใช้ในการวิจัย

นำข้อมูลผลการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ ด้วย ANOVA เพื่อดูความแตกต่างทางสถิติ ระหว่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มของประชากร ซึ่งเปรียบเทียบความแตกต่างของประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันและน้ำมัน ระหว่างการใช้แบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปส และเอนไซม์ไลเปสทางการค้าและทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของชุดการทดลองด้วย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3.5 การเปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสีย

เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสีย (บาท/เมตร³) ระหว่างการใช้เอนไซม์ทางการค้ากับการใช้เชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสในการกำจัดน้ำมันและไขมัน โดยการคำนวณค่าใช้จ่ายแสดงดังสมการที่ 2

$$\text{ค่าใช้จ่าย (บาทต่อเมตร}^3\text{)} = \frac{\text{ปริมาณเอนไซม์}}{\text{จุลินทรีย์ (ลิตร)}} \times \text{ราคา(บาท)} \quad (2)$$

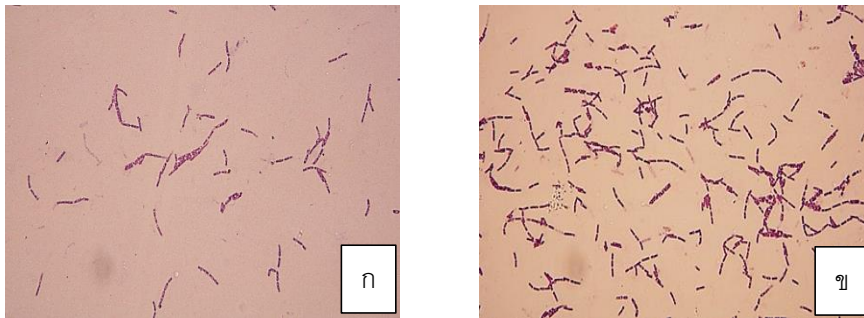
หมายเหตุ การใช้จุลินทรีย์ใช้ 3.75 ลิตร/น้ำทิ้ง 100 เมตร³ ราคา 30 บาท/เมตร³

การใช้เอนไซม์ใช้ 5.5 ลิตร/น้ำทิ้ง 100 เมตร³ ราคา 103 บาท/เมตร³

4. ผลการวิจัย และอภิปราย

4.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสที่ใช้ในการกำจัดน้ำมันและไขมัน

นำเอาแบคทีเรียจำนวน 2 ชนิด คือ *B. tropicus* และ *B. thuringiensis* มาเลี้ยงในอาหารเหลว NB ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าแบคทีเรียทั้งสองชนิดซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกมีลักษณะทางกายภาพเป็นรูปท่อน แสดงดังภาพที่ 1 เมื่อศึกษาการทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส ด้วยวิธีของ Khyami-Horani (1996) พบว่า *B. tropicus* และ *B. thuringiensis* มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่ 166.25 และ 140.75 ยูนิต/มิลลิกรัม ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ลักษณะของแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันและไขมัน ($\times 1,000$ เท่า)

(ก) *B. thuringiensis* และ (ข) *B. tropicus*

4.2 การศึกษาชนิดและอัตราส่วนที่เหมาะสมของแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสในการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ในสภาวะห้องปฏิบัติการ

จากผลการทดลองที่แสดงดัง ตารางที่ 1 พบว่าน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีปริมาณน้ำมันและไขมันเริ่มต้นการทดลองเท่ากับ 11.587 ± 0.003 กรัม/ลิตร และเมื่อทำการทดลองเป็นเวลา 7 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ 2 3 6 4 5 และ 7 มีการลดลงของไขมันและน้ำมันเรียงจากมากไปน้อย โดยลดลง 4.288 ± 0.212 , 4.285 ± 0.220 , 4.229 ± 0.104 , 3.934 ± 0.215 , 3.619 ± 0.137 , 3.546 ± 0.521 และ 0.039 ± 0.063 ตามลำดับ คิดเป็นประสิทธิภาพในการบำบัดไขมันและน้ำมันร้อยละ 37.02 ± 1.823 , 36.98 ± 1.900 , 36.51 ± 0.894 , 33.96 ± 1.850 , 31.24 ± 1.185 , 30.60 ± 0.813 และ 0.33 ± 0.471 ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า *B. tropicus* มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณน้ำมันและไขมันได้ดีกว่า *B. thuringiensis* และการใส่เชื้อผสมระหว่าง *B. tropicus* และ *B. thuringiensis* ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสของ *B. tropicus* ที่มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส 166.25 ยูนิต/มิลลิกรัม ซึ่งมากกว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสของ *B. thuringiensis* ที่มีค่า 140.75 ยูนิต/มิลลิกรัม สำหรับการใส่เชื้อผสมนั้นพบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันได้ค่อนข้างน้อยกว่าเมื่อเทียบกับเชื้อเดี่ยว อย่างไรก็ตาม พบว่าการใส่จุลินทรีย์ไม่ว่าจะชนิดเดียวหรือแบบผสมจะทำให้ประสิทธิภาพของการกำจัดน้ำมันและไขมันดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่หลังจากสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 7 มีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันได้เพียงร้อยละ 0.33 ± 0.471 เท่านั้น จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าการเพิ่มแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสในระบบบำบัดน้ำเสียสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำมันและไขมันได้ (Salihu et al., 2011) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาพบว่าชุดการทดลองที่ 2 ชุดการทดลองที่ 3 และชุดการทดลองที่ 6 มีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันสูงที่สุดเป็น 3 อันดับแรกนั้น และพบว่าที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 นั้น มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นในการนำไปใช้งานจึงเลือกใช้ชุดการทดลองที่ 2 ที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันได้ดี นอกจากนี้ยังเป็นการลดต้นทุนในการซื้อเชื้อแบคทีเรียเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสีย

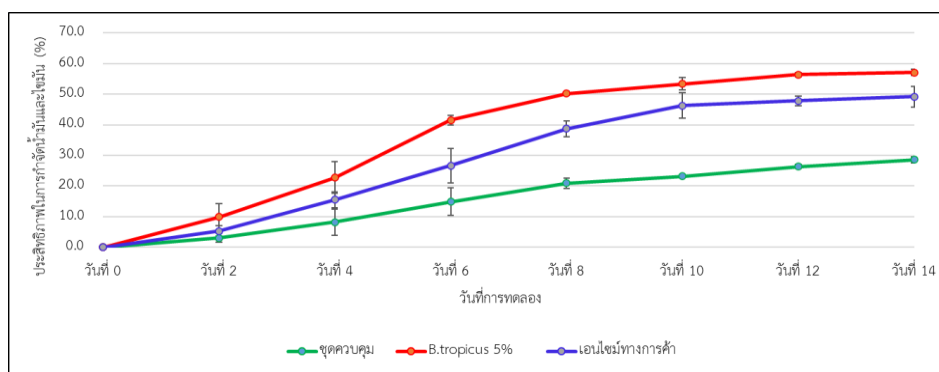
ตารางที่ 1 ชนิด อัตราส่วน และประสิทธิภาพในการลดลงของปริมาณน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ของแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสในระยะเวลา 7 วัน

ชุดทดลอง	แบคทีเรีย	น้ำมันและไขมัน (กรัมต่อลิตร)		ไขมันลดลง (กรัม)	ประสิทธิภาพ (ร้อยละ)
		วันที่ 0	วันที่ 7		
1	Control	11.587±0.003	11.559±0.061	0.039±0.063	0.33±0.471 ^d
2	<i>B.tropicus</i> (5%)	11.587±0.003	7.295±0.210	4.288±0.212	37.02±1.823 ^a
3	<i>B.tropicus</i> (10%)	11.587±0.003	7.304±0.223	4.285±0.220	36.98±1.900 ^a
4	<i>B.thuringiensis</i> (5%)	11.587±0.003	7.650±0.216	3.934±0.215	33.96±1.850 ^b
5	<i>B.thuringiensis</i> (10%)	11.587±0.003	7.967±0.136	3.619±0.137	31.24±1.185 ^c
6	<i>B.tropicus</i> + <i>B.thuringiensis</i> (5%)	11.587±0.003	7.355±0.104	4.229±0.104	36.51±0.894 ^a
7	<i>B.tropicus</i> + <i>B.thuringiensis</i> (10%)	11.587±0.003	8.042±0.097	3.546±0.521	30.60±0.813 ^c

4.3 การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียและการใช้เอนไซม์ทางการค้าในการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็ง

ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) กับเอนไซม์ทางการค้าในการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็งในสภาวะห้องปฏิบัติการ ถึงปฏิกิริยาพื้นที่ทำการ 20 ลิตร ใช้ น้ำเสีย 15 ลิตร เป็นเวลา 14 วัน โดยตรวจสอบ ปริมาณไขมันและน้ำมัน ค่า COD และ ค่า pH ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

น้ำเสียที่ใช้ในการทดลองเริ่มต้นมีปริมาณน้ำมันและไขมันเท่ากับ 6.559±0.263 กรัม/ลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 14 ชุดการทดลองที่ 2 *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) มีปริมาณน้ำมันและไขมันเท่ากับ 2.801±0.151 กรัม/ลิตร คิดเป็นประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมัน เท่ากับ 57.1±0.945% ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 3 (Commercial enzyme) มีปริมาณไขมันและน้ำมันเท่ากับ 3.343±0.331 กรัม/ลิตร คิดเป็นประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมัน เท่ากับร้อยละ 49.2±3.323 และชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) มีปริมาณน้ำมันและไขมันเท่ากับ 4.696±0.322 กรัม/ลิตร คิดเป็นประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันและไขมัน เท่ากับร้อยละ 28.6±1.000 สรุปได้ว่า ผลการการบำบัดน้ำมันและไขมันของน้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็ง โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำมันและไขมันได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองอื่น ๆ (ภาพที่ 2) และจากผลการทดสอบทางสถิติพบว่า ประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันของชุดการทดลองทั้ง 3 ชุดการทดลอง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียโรงงานผลิตอาหารแช่แข็งของ *B. tropicus* และเอนไซม์ทางการค้า

จากผลการทดลองพบว่า ในช่วงแรกของการทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันของทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นแบบเป็นเส้นตรงจนถึงวันที่ 8 ของการทดลอง และค่อย ๆ ลดน้อยลง โดยเฉพาะในชุดการทดลองที่ใส่ *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) และชุดการทดลองที่ใส่เอนไซม์ทางการค้า เนื่องจากในช่วงแรกในน้ำเสียมีปริมาณของไขมันอยู่มาก ในขณะที่เอนไซม์ไลเปสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ทำให้ความเข้มข้นของกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปพบว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสมีค่าลดลง ทำให้ประสิทธิภาพในการลดน้ำมันและไขมันมีค่าน้อยลง ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของน้ำมันและไขมันในน้ำเสียในระบบมีปริมาณที่น้อยลงเมื่อระยะเวลาผ่านไปรวมถึงปริมาณผลผลิตหรือกรดไขมันที่เกิดขึ้นเหล่านี้อาจทำให้เกิดการขัดขวางในตำแหน่งการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้ (Puthli et al., 2006; Rathod and Pandit, 2009)

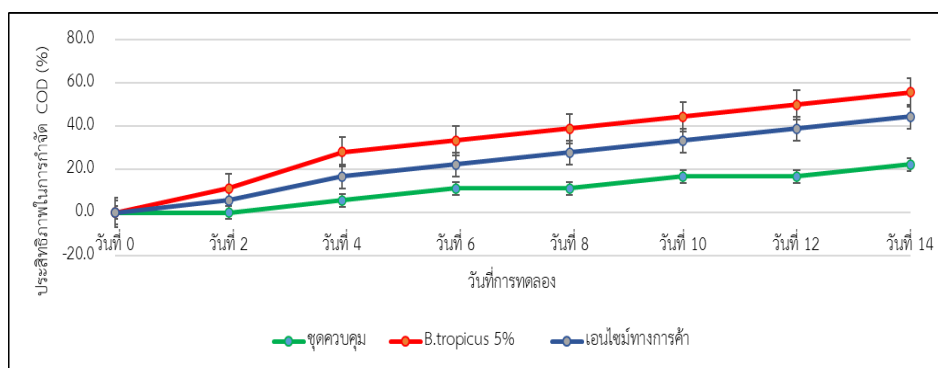
เมื่อพิจารณาชุดการทดลองที่ใส่ *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) พบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันมากที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสได้เรื่อย ๆ ตามปริมาณของการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียและปริมาณสารอินทรีย์ที่ลดลง โดยในช่วงแรกเป็น Lag phase นั้นค่อนข้างสั้น แสดงถึงการปรับตัวที่รวดเร็วของแบคทีเรียที่เป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากน้ำเสียโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็งอยู่แล้ว จึงมีความคุ้นเคยกับลักษณะและองค์ประกอบของน้ำทิ้ง ทำให้สามารถเจริญเติบโตได้ดี และใช้สารอาหารต่าง ๆ ในน้ำทิ้งโดยเฉพาะน้ำมันและไขมันได้ดี สำหรับระยะ Exponential นั้นจะใช้ระยะเวลาค่อนข้างนาน และยังไม่พบระยะ Stationary ที่ชัดเจน เนื่องจากแบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสได้เรื่อย ๆ จนกว่าสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในน้ำจะหมดลง ในขณะที่เอนไซม์ทางการค้าในชุดการทดลองที่ 3 พบว่าเมื่อเริ่มแรกก็สามารถทำงานได้ในทันทีเช่นกัน แสดงได้จากมีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันเพิ่มมากขึ้น และจะเริ่มคงที่ในวันที่ 10-14 ของการทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการลดลงจนหมดไปของปริมาณของเอนไซม์ไลเปสเนื่องจากระบบใช้เพียงเอนไซม์ที่มีอยู่เท่านั้น และไม่สามารถสร้างขึ้นมาใหม่ได้ ดังนั้นถ้าปริมาณไขมันมีจำนวนมากอาจจำเป็นต้องใส่เอนไซม์เพิ่มลงไป ทำให้ในการทดลองชุดดังกล่าวมีประสิทธิภาพน้อยกว่าในชุดการทดลองที่มี

แบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสได้ตลอดเวลา ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลของโรงงานอุตสาหกรรมที่ต้องมีการใส่เอนไซม์ไลเปสทุก 2 สัปดาห์ ซึ่งถ้าระบบมีปริมาณไขมันมากกว่านี้ก็อาจไม่เพียงพอ หรือหากระบบมีปริมาณไขมันน้อยกว่านี้ การใส่ปริมาณเท่าเดิมนอกจากจะเป็นการสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายแล้ว เอนไซม์ส่วนเกินเหล่านี้จะอยู่ในระบบบำบัดน้ำเสียและจะไปเพิ่มความหนืดหรืออุดตันในระบบบำบัดน้ำเสีย อาจเกิดปัญหาในการถ่ายเทของสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสีย ซึ่งอาจทำให้เกิดปัญหาในการย่อยสลาย สารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียได้ (Gharat and Rathod, 2013) สำหรับชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) พบว่ามีประสิทธิภาพน้อยที่สุดในทุกชุดการทดลอง เมื่อพิจารณาจากกราฟพบว่าในช่วง Lag phase ที่ค่อนข้างยาวกว่าในชุดการทดลองที่ใส่ *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) ทั้งนี้เนื่องจากในน้ำเสียมีปริมาณจุลินทรีย์แวกเริ่มอยู่ค่อนข้างน้อย โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ไลเปส ทำให้จุลินทรีย์ค่อย ๆ เจริญเติบโตไปอย่างช้า ๆ ซึ่งเห็นได้จากประสิทธิภาพของระบบที่เป็นไปอย่างช้า ๆ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองยังไม่พบระยะ Stationary ที่ชัดเจน

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า การทดลองที่ใช้ น้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็ง จะมีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำมันและไขมันได้ดีกว่าในการทดลองที่ใช้ น้ำเสียสังเคราะห์ โดยชุดควบคุมมีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันถึงร้อยละ 28.6 ± 1.000 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองในการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่พบว่าชุดควบคุมมีประสิทธิภาพน้อยมากเพียงร้อยละ 0.33 ± 0.471 เท่านั้น เช่นเดียวกับชุดการทดลองที่ใช้ *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) ในชุดการทดลองที่ 2 มีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันร้อยละ 57.1 ± 0.945 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองในการใช้น้ำเสียสังเคราะห์ที่พบว่ามีประสิทธิภาพร้อยละ 37.02 ± 1.823 ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองต้องจำลองสถานการณ์ของการบำบัดน้ำเสียจากระบบจริงจึงไม่ได้ทำการฆ่าเชื้อน้ำเสียก่อนทำการทดลอง ทำให้ในน้ำเสียเริ่มต้นและในชุดควบคุมยังมีจุลินทรีย์ปะปนอยู่หลากหลายชนิด ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้เป็นส่วนหนึ่งที่สามารถกำจัดน้ำมันและไขมันได้เช่นกัน Prasad and Manjunath (2011) ได้ศึกษาถึงแบคทีเรียที่มีความสามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมัน เช่น *Staphylococcus warneri*, *Bacillus cereus* และ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นต้น จากที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นว่า เชื้อแบคทีเรียหลายชนิดในธรรมชาติมีความสามารถในการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันได้ ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการกำจัด อาจมีความแตกต่างกันตามชนิดของแบคทีเรียและน้ำเสียจากแหล่งกำเนิดต่าง ๆ รวมถึงการเติมอากาศและเติมจุลินทรีย์มีผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมันและไขมัน (วิจิตรา พิกุลแก้ว, 2563) แต่สำหรับ *B. tropicus* นั้นยังไม่มีรายงานว่ามีกรนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันมาก่อน แต่มีงานวิจัยหลายชิ้นที่แสดงให้เห็นว่ามี *Bacillus* sp. หลายชนิดมีประสิทธิภาพในการย่อยไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย เช่น *B. pumilus* strain UBU5 (รัชวุฒิ โคตรคำ และคณะ, 2563) *B. subtilis* TP8 และ *P. fluorescens* G7 (อภิขญา และคณะ, 2563) ซึ่งจะเห็นว่าที่ผ่านมามีการนำเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดมาใช้อย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียและมีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันได้ดี ทั้งนี้ประสิทธิภาพอาจมีความแตกต่างกันตามชนิดของแบคทีเรียและน้ำเสียจากแหล่งกำเนิดต่าง ๆ

จากผลการทดลองประสิทธิภาพในการกำจัด COD พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัด COD ของชุดการทดลองทั้ง 3 ชุด มีความแตกต่างกัน โดยน้ำเสียที่ใช้ทดลองมีค่า COD เริ่มต้นเท่ากับ 165.3 ± 0.087 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 14 ชุดการทดลองที่ 2 ที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย (*B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v))

มีค่า COD 73.4 ± 0.1000 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัด COD มากที่สุดคือ เท่ากับร้อยละ 55.6 ± 0.034 รองลงมา คือ ชุดการทดลองที่ 3 (Commercial enzyme) มีค่า COD 91.9 ± 0.100 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัดเท่ากับร้อยละ 44.4 ± 0.027 และชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) มีค่า COD 128.6 ± 0.200 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพในการกำจัด COD ได้น้อยที่สุดคือร้อยละ 22.2 ± 0.074 (ภาพที่ 3) ทั้งนี้เนื่องจากในชุดการทดลองที่ 2 นั้น จุลินทรีย์ที่ใส่ลงไปจะเริ่มใช้สารอินทรีย์ที่ละลายอยู่ในน้ำเสีย พร้อมทั้งสร้างเอนไซม์ไลเปสเพื่อย่อยสลายไขมันและน้ำมันให้เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมัน ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการสร้างเซลล์และเป็นแหล่งพลังงาน ส่งผลให้ปริมาณของ COD ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเสียนั้นถูกย่อยสลายและมีปริมาณที่ลดลง ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 3 (Commercial enzyme) มีการเติมเอนไซม์ไลเปสเพื่อกำจัดน้ำมันและไขมัน แต่จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นมีอยู่น้อย การเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์และการย่อยสลายสารอินทรีย์จึงเกิดได้น้อยกว่าชุดการทดลองที่เติมจุลินทรีย์ สำหรับชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) มีประสิทธิภาพในการกำจัด COD ได้น้อยที่สุดเนื่องจากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำเสียน้อย โดยเฉพาะการย่อยสลายไขมันที่เป็นไปได้ค่อนข้างยาก อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าประสิทธิภาพในการกำจัด COD มีค่าไม่สูงนัก โดยพบว่าชุดการทดลองที่มีค่าการกำจัด COD ที่มีค่ามากที่สุดคือชุดที่เติมจุลินทรีย์ ร้อยละ 55.6 ในขณะที่การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสในการกำจัดน้ำมันและไขมันในงานวิจัยอื่น ๆ นั้น อาจมีประสิทธิภาพสูงกวานี้ เช่น จุลินทรีย์ผสมของ *Pseudomonas* sp. *Acinetobacter* sp. และ *Bacillus* sp. ในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตปลาซึ่มมีประสิทธิภาพในการกำจัด COD ถึงร้อยละ 70.8 (สุวัฒน์ศักดิ์ ด่านศักดา, 2551) และ *Pseudomonas* sp. มีประสิทธิภาพถึงร้อยละ 95.81 ในการกำจัดน้ำทิ้งจากโรงครัวที่ปนเปื้อนน้ำมันและไขมันบนตัวกลางพลาสติกที่มีการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ (Bhumibhamon & Phattayakorn, 2003) ทั้งนี้เนื่องจากน้ำเสียของโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็งที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นน้ำที่ผ่านระบบดักไขมันแล้ว ทำให้สารอินทรีย์เริ่มต้นมีค่าน้อย นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการกำจัด COD ยังขึ้นกับชนิดของสายพันธุ์ของจุลินทรีย์



ภาพที่ 3 ประสิทธิภาพในการกำจัด COD ในน้ำเสียโรงงานผลิตอาหารแช่แข็งของ *B. tropicus* และเอนไซม์ทางการค้า

สำหรับการศึกษาค่า pH น้ำเสียมีค่า pH ในวันเริ่มต้น 8.07 ± 0.02 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 14 พบว่าทุกชุดการทดลองมีค่า pH ลดลง โดยชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) มีค่า pH 7.59 ± 0.18 ชุดการทดลองที่ 2 เติมเชื้อแบคทีเรีย *B.tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) มีค่า pH 7.25 ± 0.31 และชุดการทดลองที่ 3 มีค่า pH 7.36 ± 0.27 จะเห็นได้ว่าทุกชุดการทดลองมีค่า pH ลดลง ทั้งนี้เนื่องมาจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียของเชื้อจุลินทรีย์ รวมไปถึงไขมันและน้ำมันให้เป็นกรดไขมันและไขมันอิสระ (Free fatty acids) ถ้าผลจากผลผลิตของกรดไขมันอิสระที่เกิดขึ้นจากขบวนการย่อยสลายน้ำมันและไขมันเพิ่มมากขึ้น จะทำให้ค่า pH ลดลงมากขึ้นเช่นกัน จากผลการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่ 2 ที่เติมเชื้อแบคทีเรีย (*B.tropicus* ร้อยละ 5 (v/v)) มีค่า pH ลดลงมากที่สุด จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันได้มากที่สุด รองลงมาคือชุดการทดลองที่ 3 (Commercial enzyme) ถึงแม้จะไม่มี การเติมจุลินทรีย์ แต่ก็มีปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เกิดขึ้น (Adulkar & Rathod, 2015) และท้ายสุดคือชุดทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม) เนื่องจากมีเฉพาะจุลินทรีย์ดั้งเดิมในระบบเท่านั้น จึงเกิดการย่อยน้ำมันและไขมันได้ค่อนข้างช้า แต่อย่างไรก็ตามการลดลงของค่า pH ที่มากเกินไปอาจขัดขวางและลดกิจกรรมการย่อยสลายน้ำมันและไขมันของแบคทีเรียได้ (Azhdarpoor et. al., 2014) โดยพบว่าแบคทีเรียสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีค่า pH ที่ต่ำสุด 4-4.5 สูงสุดคือ 8.0-9.0 และสามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีค่า pH ประมาณ 6.8-7.2 (นฤมล มาแทน, 2562)

4.4 การเปรียบเทียบค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสีย

สำหรับการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันเป็นองค์ประกอบโดยเฉพาะน้ำเสียของโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณไขมันปะปนอยู่เป็นจำนวนมากนั้น โดยทั่วไปจะมีการกำจัดน้ำมันและไขมันเบื้องต้นด้วยบ่อดักไขมัน (Grease trap tank) ซึ่งสามารถกำจัดไขมันที่ลอยบนผิวน้ำได้แต่ไม่สามารถกำจัดน้ำมันและไขมันในรูปที่ละลายน้ำหรือที่เรียกว่าอิมัลชันได้ ส่งผลต่อประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียของระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงาน เช่น ระบบเติมอากาศ น้ำมันที่ละลายน้ำจะเกาะกับตะกอนจุลินทรีย์ จะส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่สามารถรับออกซิเจนจากเครื่องเติมอากาศได้ โดยเฉพาะในระบบ Bio-contact หรือระบบโปรยกรอง (Trickling filter) โดยไขมันเหล่านี้จะเคลือบอยู่บนพื้นผิวของตัวกลาง (Media) ส่งผลให้น้ำเสียไหลผ่านตัวกลางไม่ได้เต็มประสิทธิภาพ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการกำจัดน้ำมันและไขมันเหล่านี้ การใช้เอนไซม์ถือเป็นทางเลือกหนึ่ง เนื่องจากเป็นเทคโนโลยีที่สะอาดและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมตรงกับกฎระเบียบด้านสิ่งแวดล้อมที่เข้มงวดในเรื่องของการเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Mendes et al., 2010) โดยในปัจจุบันเอนไซม์ไลเปสมีจำหน่ายในท้องตลาด หลายชนิดได้ถูกนำมาใช้ในการบำบัดไขมันและน้ำมัน และมีประสิทธิภาพค่อนข้างสูง แต่มีราคาค่อนข้างสูงด้วยเช่นกัน ซึ่งถือว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญทางด้านเศรษฐศาสตร์อย่างมากในการบำบัดน้ำทิ้งที่มีน้ำมันและไขมันปนเปื้อน จากการวิจัยในครั้งนี้พบว่าการใช้เอนไซม์ไลเปสทางการค้ามีค่าใช้จ่ายประมาณ 5.7 บาทต่อน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้แบคทีเรีย ที่มีค่าใช้จ่ายประมาณ 1.1 บาทต่อน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร จะเห็นได้ว่าการใช้แบคทีเรียจะถูกกว่า 5.2 เท่าต่อน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร อย่างไรก็ตามสำหรับการใช้แบคทีเรียนั้นโดยทั่วไปจำเป็นต้องมีการ Startup ระบบเป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ในระยะเริ่มแรก เพื่อให้แบคทีเรียได้ปรับตัวและเพิ่มจำนวน แต่สำหรับในการทดลองนี้พบว่ามีระยะ Lag phase หรือระยะปรับตัว

ค่อนข้างสั้น ทั้งนี้เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากน้ำเสียโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็งอยู่แล้ว ทำให้มีความคุ้นเคยแต่ก็ยังคงต้องมีการใส่เชื้อเพิ่มเติมละ 1 ครั้ง ในขณะที่การใช้เอนไซม์ทางการค้านั้นต้องมีการใส่เพิ่มในทุก 2 สัปดาห์ ขึ้นกับปริมาณน้ำเข้ามาในระบบ การใช้เอนไซม์นี้จะไม่มีการ Startup ดังนั้นจะเห็นได้ว่าระบบของการใช้เอนไซม์ไลเปสจะมีข้อดีคือระยะเวลาในการบำบัดที่เร็วกว่าการใช้จุลินทรีย์เนื่องจากระบบไม่ต้องการการ Startup ในขณะที่การใช้แบคทีเรียนั้นอาจมีระยะเวลาเริ่มต้นที่ยาวนานกว่า โดยเฉพาะไม่ใช่แบคทีเรียดั้งเดิมของระบบ เพราะจุลินทรีย์ต้องการเวลาในการปรับตัวและเพิ่มจำนวน อย่างไรก็ตามการใช้เอนไซม์ไลเปส ที่มากจนเกินไปจะทำให้เกิดเอนไซม์ส่วนเกินซึ่งจะไปเพิ่มความหนืดในระบบ ทำให้เกิดปัญหาในการดูดซึมซึ่งเป็นอุปสรรคในการถ่ายโอนมวล รวมไปถึงการมีผลิตภัณฑ์ที่สูงขึ้นอย่างมากในระยะเริ่มต้นอาจทำให้เกิดการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ทำให้ประสิทธิภาพของระบบลดลง (Gharat and Rathod, 2013) ในขณะที่การใช้จุลินทรีย์ประสิทธิภาพของการบำบัดค่อนข้างจะสม่ำเสมอเมื่อระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์มีความคุ้นชินกับระบบ

5. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองพบว่า *B. tropicus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสที่ 166.25 หน่วยต่อมิลลิกรัม เชื้อเดียวสามารถทำงานได้ดีกว่าเชื้อผสมเนื่องจากอาศัยแหล่งทรัพยากรที่คล้ายคลึงกัน ทำให้แต่ละชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตได้อย่างเต็มที่ เป็นสาเหตุให้ประสิทธิภาพในการกำจัดไขมันไม่ดีเท่ากับชุดการทดลองที่ใส่เพียงชนิดเดียว โดยเชื้อ *B. tropicus* ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 สามารถย่อยสลายไขมันและน้ำมันได้ดีที่สุด เมื่อนำมาเลี้ยงในน้ำเสียสังเคราะห์ที่เติมน้ำมันพืชร้อยละ 10 พบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมันได้ดีที่สุดร้อยละ 37.02 ± 1.823 เมื่อนำมาเลี้ยงในน้ำเสียจากโรงงานผลิตอาหารแปรรูปเนื้อไก่แช่แข็งโดยเปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์ทางการค้า พบว่า *B. tropicus* ร้อยละ 5 (v/v) มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งได้ดีกว่าการใช้เอนไซม์ทางการค้า โดยประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันและไขมัน เท่ากับร้อยละ 57.1 ± 0.945 และมีประสิทธิภาพในการกำจัด COD เท่ากับร้อยละ 55.6 ± 0.034 ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสได้เรื่อย ๆ ตามปริมาณของการเพิ่มขึ้นของแบคทีเรียและปริมาณสารอินทรีย์ที่ลดลง ในขณะที่การใช้เอนไซม์ทางการค้านั้นไม่สามารถสร้างเอนไซม์ขึ้นมาใหม่ได้ ถ้าปริมาณไขมันมีจำนวนมาก จำเป็นต้องใส่เพิ่มลงไปทำให้มีประสิทธิภาพน้อยกว่าในชุดการทดลองที่มีแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ไลเปสได้ตลอดเวลา จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการใช้แบคทีเรียมีค่าใช้จ่ายน้อยกว่าการใช้เอนไซม์ไลเปสทางการค้าประมาณ 5.2 เท่าต่อน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร ดังนั้นจะพบว่าการใช้จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดต้นทุนในการบำบัดน้ำเสียที่มีน้ำมันและไขมันได้ดีและยังมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้เอนไซม์ทางการค้า

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้บริหารรวมถึงเจ้าหน้าที่ของบริษัทแปรรูปอาหารเนื้อสัตว์แช่แข็งในเขตพื้นที่ อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่ ในการให้ความอนุเคราะห์น้ำตัวอย่าง เอ็นไซม์ไลเปสเพื่อการค้า รวมไปถึงข้อมูลเกี่ยวกับค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสียเพื่อใช้ในการทำวิจัย จนสามารถทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

7. เอกสารอ้างอิง

- นฤมล มาแทน. (2562). ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์. <https://essentialoil.wu.ac.th/wp-content/uploads/2009/02=ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์>
- มาริสา อັถถาพงศ์. (2560). การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสในการย่อยสลายน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ [วิทยานิพนธ์ปริญญา ดุษฎีบัณฑิต]. มหาวิทยาลัยพะเยา.
- รัชฎา โคตรลาคำ, นิธิมา สุทธิพันธุ์, และ ณัฐพล ทองปลิว. (2563). การเพิ่มประสิทธิภาพของถังดักไขมันโดยการเติมแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสสำหรับการจัดการน้ำเสียในตลาดสด [วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต]. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
- วิจิตรา พิกุลแก้ว. (2563). ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียด้วยจุลินทรีย์ประสิทธิภาพสูงและจุลินทรีย์จากตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสียจากโรงอาหาร [วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต]. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.
- สุวัฒน์ศักดิ์ ต่านศักดิ์. (2551). การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสในการทำดักไขมันและน้ำมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียของโรงงานปลาสด [วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต]. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- อภิษฎา พัฒนิน, พิมประไพ ขาวขำ, และ พิทักษ์ ปอกสอน . (2563). การคัดแยกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสจากน้ำเสียในบ่อดักไขมันโรงอาหารมหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สทวท)*, 7(1), 69-79. https://research.kpru.ac.th/journal_science/journal/20802020-06-9.pdf
- Adulkar, T. V., & Rathod, V. K. (2015). Pre-treatment of high fat content dairy wastewater using different commercial lipases. *Desalination and Water treatment*, 53(9), 2450-2455. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.871582>
- Azhdarpoor, A., Mortazavi, B., & Moussavi, G. (2014). Oily wastewaters treatment using *Pseudomonas* sp. isolated from the compost fertilizer. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 12(77), 1-6. <http://www.ijehse.com/content/12/1/77>
- Bhumibhamon, O., & Phattayakorn, K. (2003). Lipase-Producing Microorganisms for Use in Contaminated Fat and Oil Kitchen Wastewater Treatment. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 37(3), 327- 333. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/anres/article/download/242876/165719/834299>
- Demiral, B., Yenigun, O., & Onay, T. (2005). Anaerobic treatment of dairy wastewaters: A review. *Process Biochemistry*, 40(8), 2583-2595. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.12.015>

- Fingas, M. (2015). *Vegetable oil spills: oil properties and behavior*. In: FINGAS, M. (Ed.). Handbook of oil spill science and technology. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc. 79–91. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781118989982>
- Gharat, N., & Rathod, V.K. (2013). Enzyme catalyzed transesterification of waste cooking oil with dimethyl carbonate. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 88, 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2012.11.007>
- Izanloo, H., Mesdaghinia, A., Nabizadeh, R., Nasser, S., Naddafi, K., Mahvi, AH., & Nazmara, S. (2010). Effect of organic loading on the performance of aerated submerged fixed-film reactor (ASFFR) for crude oil-containing wastewater treatment. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 3(2), 85–90. <https://www.researchgate.net/publication/26488533>
- Jeganathan, J., Nakhla, G., & Bassi, A. (2007). Hydrolytic pretreatment of oily wastewater by immobilized lipase. *Journal of Hazardous Materials*, 145(1-2), 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.11.004>
- Khyami-Horani, H. (1996). Thermotolerant strain of *Bacillus licheniformis* producing lipase. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 12, 399–401. <https://doi.org/10.1007/BF00340219>
- Louhichi, G., Boussemlı, L., Ghrabi, A., & Khouni, I. (2019). Process optimization via response surface methodology in the physicochemical treatment of vegetable oil refinery wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(19), 18993–19011. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2657-z>
- Mendes, A. A., Pereira, E. B., Furigo Jr., A., & Ferreira de Castro, H. (2010). Anaerobic biodegradability of dairy wastewater pretreated with porcine pancreas lipase, Brazilian archives of biology and technology. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53(6), 1279–1284. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132010000600003>
- Olaposi, A., Sarafadeen, K., Saka, B., & Adeniyi, A. (2020). Production of lipase by immobilized *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus* and their biodegradation potential on diesel. *Bacterial empire*, 3(3), 52–57. <https://doi.org/10.36547/be.2020.3.3.52-57>
- 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. <https://www.researchgate.net/publication/285808021>

- Puthli, M. S., Rathod, V.K., & Pandit, A. B. (2006). Enzymatic hydrolysis of castor oil: Process intensification studies. *Biochemical Engineering Journal*, 31(1), 31-41. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2006.05.017>
- Rathod, V. K., & Pandit, A. B. (2009). Effect of various additives on enzymatic hydrolysis of castor oil. *Biochemical Engineering Journal*, 47(1–3), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.07.008>
- Salahi, A., Mohammadi, T., Rekabdar, F., & Mahdavi, H. (2014). Reverse osmosis of refinery oily wastewater effluents. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 7(5), 413–422. <https://www.researchgate.net/publication/299075066>
- Salihu, A., Alam, Md. Z., AbdulKarim, M. I., & Salleh, H. M. (2011). Suitability of using palm oil mill effluent as a medium for lipase production. *African Journal of Biotechnology*, 10(11), 2044-2205. <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/93111/82521>
- Salimbeni, A., & Magnolfi, V. (2015). *Transformation of used cooking oil into biodiesel: From waste to resource*. The European Biomass Industry Association. The technical report. <https://www.researchgate.net/publication/285596298>
- Wallace, T., Gibbons, D., O'Dwyer, M., & Curran, T.P. (2017). International evolution of fat, oil and grease (FOG) waste management: a review. *Journal of Environmental Management*, 187, 424-435. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.11.003>
- Yu, L., Han, M., & He, F. (2017). A review of treating oily wastewater. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, 1913–1922. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.07.020>