บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ไขมัน (fat, oil, and grease) เกิดจากการประกอบกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ เช่น การประกอบอาหารภายในครัวเรือน ภัตตาคาร และโรงอาหาร กิจกรรมภายในโรงงานอุตสาหกรรม และการชะล้างภาชนะอาหาร (Matsui และคณะ, 2005) ไขมันที่ปนเปื้อนในน้ำมีสมบัติไม่ละลายน้ำ และรวมตัวเป็นแผ่นฟิล์มลอยบนผิวน้ำ มีผลต่อการแพร่กระจายออกซิเจนลงในน้ำ ทำให้ค่าปริมาณออกซิเจนในน้ำมีระดับลดลง ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ และเกิดน้ำเน่าเสีย (Mongkolthanaruk และ Dharmsthiti, 2002; Yoo และคณะ, 2011) ดังนั้นต้องมีการกำจัดไขมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสียก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ การบำบัดทางชีวภาพเป็นการเปลี่ยนสภาพของน้ำเสียให้อยู่ในสภาพที่ไม่ก่อให้เกิดปัญหาภาวะมลพิษต่อแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยอาศัยกระบวนการของแบคทีเรีย เพื่อกำจัดหรือลดปริมาณของไขมัน ได้ผลผลิตเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Boopathy, 2000; Matsui และคณะ, 2005) ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันของ *Serratia* sp. สายพันธุ์ W4-01 และประสบความสำเร็จในการพัฒนาสูตรแบคทีเรียอัดเม็ด *Serratia* sp. สายพันธุ์ W4-01 โดยทราบวิธีการใช้และการเก็บรักษาในระยะยาว และพบว่าประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันเทียบเคียงกับแบคทีเรียสำเร็จรูปในท้องตลาด รวมถึงสามารถใช้เร่งการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันในบ่อดักไขมันจำลอง และสามารถลดความเป็นพิษของน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วได้ นอกจากนี้ยังได้พัฒนาวิธีการตรวจติดตามแบคทีเรียที่ย่อยสลายไขมันในน้ำเสีย โดยการออกแบบไพร์เมอร์สำหรับ real-time PCR อีกด้วย

การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันถั่วเหลืองของ *Serratia* sp. สายพันธุ์ W4-01 ที่ระดับความเข้มข้น 10, 25 และ 50 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 7 วันในสภาวะที่มีการเติมอากาศ พบว่าสายพันธุ์ W4-01 สามารถย่อยสลายน้ำมันถั่วเหลืองได้ทุกระดับความเข้มข้นคือ มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ โดยย่อยสลายได้สูงสุดที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 25 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันถั่วเหลืองของสายพันธุ์ W4-01 กับงานวิจัยอื่นๆ เช่น งานวิจัยของ Tanaka และคณะ (2010) ที่ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันถั่วเหลือง ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรของ *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ Ud-4 พบว่ามีประสิทธิภาพย่อยสลายเท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 7 วัน จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ W4-01 มีประสิทธิภาพย่อยสลายได้ดีกว่า นอกจากนี้สายพันธุ์ W4-01 มีความสามารถในการย่อยสลายไขมันได้หลากหลายชนิดได้แก่ น้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันมะกอก และน้ำมันหมูเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่น ดังแสดงในตารางที่ 2.3

การตรวจสอบการมียีนประมวลรหัสเอนไซม์ไลเปสด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสคือ ยีน *lip*A (Long และคณะ, 2007) จาก *Serratia marcescens*สายพันธุ์ ECU1010 และยีน *SlLip*A (Yao และคณะ, 2008) จาก *Serratia liquefaciens* สายพันธุ์ S33 DB-1 โดย 2 ยีนนี้มีความเหมือนกัน 67 เปอร์เซ็นต์ในระดับกรดอะมิโน ซึ่งในสายพันธุ์ W4-01 พบผลิตภัณฑ์ PCR ของยีน *lip*A เท่านั้น และพบว่ามีความคล้ายคลึงกับลำดับกรดอะมิโนของเอนไซม์ไลเปส (*lip*A) ของ *Serratia* จากรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ ซึ่งมีรายงานว่ายีน *lip*A เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์ไลเปส โดยจะเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไตรกลี

เซอไรด์กลายเป็นกลีเซอรอลและกรดไขมัน (Tanaka และคณะ, 2010) ตัวอย่างจากรายงานวิจัยของ Matsumae และ Shibatani (1994) พบว่า *Serratia marcescens* สายพันธุ์ Sr41 8000 สามารถย่อยสลายน้ำมันมะกอก ได้ผลิตภัณฑ์คือ กลีเซอรอลและกรดไขมัน และ Akatsuka และคณะ (1994) ตรวจพบยีน *lip*A ใน *Serratia marcescens* สายพันธุ์ Sr41 8000 Li และคณะ (1995) ตรวจพบยีน *lip*A ใน *Serratia marcescens* สายพันธุ์ SM6 และ Long และคณะ (2007) พบยีน *lip*A ใน *Serratia marcescens* สายพันธุ์ ECU1010 โดยมีลักษณะสมบัติหลักของเอนไซม์ไลเปสคือ มี Gly-X-Ser-X-Gly เป็นส่วนอนุรักษ์อยู่ตรงตำแหน่งเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์

จากความสามารถย่อยสลายไขมันได้หลากหลายชนิดและการมีอยู่ของยีนประมวลรหัสเอนไซม์ไลเปสของสายพันธุ์ W4-01 แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ W4-01 สามารถนำไปผลิตเป็นหัวเชื้อแบคทีเรียเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันได้

งานวิจัยนี้สนใจการผลิตหัวเชื้อแบคทีเรียพร้อมใช้ในรูปแบบอัดเม็ด เนื่องจากง่ายต่อการใช้งาน ขนส่ง และเก็บรักษา และคงประสิทธิภาพการบำบัดไขมัน โดยในปัจจุบันมีการจัดจำหน่ายผลิตภัณฑ์แบคทีเรียอัดเม็ดที่ผลิตทั้งในและต่างประเทศ เป็นหัวเชื้อรูปแบบผสมและแบคทีเรียแกรมบวก และมีการเติมเอนไซม์ เพื่อช่วยเพิ่มความสามารถการย่อยสลาย โดยงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่นำเสนอการผลิตแบคทีเรียอัดเม็ดด้วยแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากคาดว่าผนังเซลล์ส่วนนอก (Outer membrane) ของแบคทีเรียแกรมลบมีสมบัติความไม่ชอบน้ำ (Bos และคณะ, 2007) ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมัน

โดยการเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียรูปแบบแห้ง เป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญสำหรับการผลิตแบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ดดังนั้นขั้นตอนการผลิตหัวเชื้อแบคทีเรียรูปแบบแห้ง ต้องเติมสารป้องกันความเย็น (Cryoprotective agent) เพื่อลดอัตราการตายของแบคทีเรียภายหลังผ่านกระบวนการไลโอฟิไลซ์ โดยการเติมสารป้องกันความเย็นต่างชนิดกัน ส่งผลให้แบคทีเรียมีอัตราการรอดชีวิตต่างกัน (Kupletskaya และ Netrusov, 2011) ดังนั้นจึงควรคัดเลือกชนิดของสารป้องกันความเย็น ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ หางนมและหางนมที่เติมโมโนโซเดียมกลูตาเมท (Monosodium glutamate; MSG) ซึ่งสารป้องกันความเย็นทั้ง 2 ชนิดนี้ นิยมใช้เพราะหาได้ง่าย ราคาถูกและมีประสิทธิภาพดี สามารถเก็บรักษาแบคทีเรียได้นาน (Cody และคณะ, 2008) การเก็บรักษาแบคทีเรียแบบแห้ง ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่าการเติมหางนม 10 เปอร์เซ็นต์ที่เติม MSG 5 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแบคทีเรียแบบแห้ง ซึ่งมากกว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของแบคทีเรียที่เติมหางนม 10 เปอร์เซ็นต์ โดยหางนมเป็นสารป้องกันความเย็นที่ช่วยทำให้ส่วนประกอบของเซลล์เมมเบรนคงตัว และช่วยทำให้เกิดโครงสร้างที่เป็นรูพรุนในการทำให้แห้ง และทำให้กลับคืนสู่สภาพเดิมได้ง่ายเมื่อนำกลับมาใช้งาน นอกจากนี้มีโปรตีนช่วยยึดเกาะกับเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดี (Abadias และคณะ, 2001; Carvalho และคณะ, 2004) และ MSG เป็นสารป้องกันความเย็นที่ช่วยเก็บกักน้ำที่เกาะติดอยู่ภายในเซลล์ ทำให้เชื้อมีการรอดชีวิตมากขึ้น (Font de Valdez และคณะ, 1983) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของสุทธิรักษ์ นิยมฤทธิ์ (2555) ศึกษาการรอดชีวิตของ *E. coli* รูปแบบแห้งที่ผ่านการเก็บรักษา เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่าการเก็บรักษาเชื้อ *E. coli* ที่เติมหางนม ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ที่เติม MSG 5 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าแบคทีเรียที่เติมหางนม 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงได้เลือกใช้หางนม 10 เปอร์เซ็นต์ที่เติม MSG 5 เปอร์เซ็นต์

เป็นสารป้องกันความเย็น เพื่อใช้ในการผลิตเป็นหัวเชื้อแบคทีเรียรูปแบบแห้ง และนำไปผลิตเป็นแบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ด

เมื่อได้สารป้องกันความเย็นที่เหมาะสมแล้ว จากนั้นคัดเลือกความเข้มข้นของส่วนผสมของแบคทีเรียอัดเม็ด เพื่อใช้ส่วนผสมเป็นแหล่งไนโตรเจนและแหล่งฟอสฟอรัสในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ในงานวิจัยนี้ได้เลือกแอมโมเนียมซัลเฟตและโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โดยพิจารณาจากราคาต้นทุน พบว่าสารสองชนิดนี้มีราคาถูกกว่าสารชนิดอื่นและส่วนผสมเพื่อทำให้ขึ้นรูปเป็นแบคทีเรียอัดเม็ดง่ายได้แก่ ซูโครส เป็นสารยึดเกาะ แมกนีเซียมสเตรียเรต เป็นสารช่วยลื่น สารกันติด และสารช่วยไหล และแป้งข้าวโพด เป็นสารช่วยแตกตัว (กรีพล แม่นวิวัฒนกุล, 2555) รวมทั้งทดสอบการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียอัดเม็ดสายพันธุ์ W4-01 ในน้ำประปา เนื่องจากวิธีใช้แบคทีเรียอัดเม็ดในการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อน ต้องเพิ่มจำนวนแบคทีเรียให้มีปริมาณมากพอกับการใช้ในถังบำบัด โดยใช้แบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ด 1 เม็ดต่อน้ำประปา 1 ลิตร ซึ่งสามารถใช้เป็นหัวเชื้อบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันได้ 10 ลิตร ผลการทดสอบเพิ่มจำนวนแบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ด พบว่าแบคทีเรียอัดเม็ดที่มีปริมาณซูโครสสูงสามารถเพิ่มจำนวนได้ดีกว่าที่มีปริมาณซูโครสต่ำ แต่เนื่องจากแบคทีเรียอัดเม็ดที่มีปริมาณซูโครสสูง ทำให้ได้เม็ดแบคทีเรียมีลักษณะไม่สมบูรณ์และเกิดความชื้นขณะอัดเม็ดแบคทีเรีย (กรีพล แม่นวิวัฒนกุล, 2555) จึงได้เลือกใช้สูตรอัดเม็ดแบคทีเรียที่มีปริมาณซูโครสต่ำกว่า และยังคงสามารถเพิ่มจำนวนแบคทีเรียได้ดี ซึ่งได้สูตรแบคทีเรียอัดเม็ดมา 2 สูตร จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพย่อยสลายน้ำมันถั่วเหลืองของแบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ด พบว่าแบคทีเรียอัดเม็ดที่มีส่วนประกอบคือ แบคทีเรียรูปแบบแห้งสายพันธุ์ W4-01 ที่มีสารป้องกันความเย็นได้แก่ หางนม 10 เปอร์เซ็นต์ที่เติม MSG 5 เปอร์เซ็นต์ 438 มิลลิกรัม แอมโมเนียมซัลเฟต 68 มิลลิกรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 68 มิลลิกรัม ซูโครส 32 มิลลิกรัม แมกนีเซียมสเตรียเรต 6 มิลลิกรัม และแป้งข้าวโพด 13 มิลลิกรัม มีความสามารถย่อยสลายไขมันได้ดีที่สุด

เมื่อได้สูตรที่เหมาะสมของแบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ดสายพันธุ์ W4-01 แล้วนำมาทดสอบวิธีการเก็บรักษาของแบคทีเรียรูปแบบอัดเม็ดใน 4 สภาวะได้แก่ 1) สภาวะที่มีออกซิเจนและอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 2) สภาวะที่มีออกซิเจนและอุณหภูมิห้อง 3) สภาวะไม่มีออกซิเจนและอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 4) สภาวะไม่มีออกซิเจนและอุณหภูมิห้อง พบว่าแบคทีเรียอัดเม็ดสามารถเก็บรักษาได้นาน 6 เดือนที่สภาวะไม่มีออกซิเจนและอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยแบคทีเรียมีอัตราการรอดชีวิต 63 เปอร์เซ็นต์และยังคงมีประสิทธิภาพย่อยสลายเท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์ การเก็บรักษาแบคทีเรียอัดเม็ดที่อุณหภูมิต่ำและไม่มีออกซิเจนช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Eley และคณะ (2006) พบว่าการเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตและเจริญได้ดีกว่าที่อุณหภูมิอื่น เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจะเป็นอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์มีกิจกรรมเกิดขึ้นในเซลล์มากกว่าที่อุณหภูมิต่ำ และ Kurtmann และคณะ (2009) พบว่าการเก็บรักษาแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* สายพันธุ์ (La-5) รูปแบบแห้งในสภาวะออกซิเจนน้อย มีจำนวนแบคทีเรียเหลือรอดมากกว่าในสภาวะที่มีออกซิเจน นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรียอัดเม็ด W4-01 มีความชื้นเพิ่มมากขึ้นหลังจากผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจึงทำให้แบคทีเรียสายพันธุ์ W4-01 มีอัตราการรอดชีวิตเพียง 60 เปอร์เซ็นต์ โดย Siaterlis และคณะ (2009) รายงานว่า ความชื้นของแบคทีเรียมีผลต่อการเก็บรักษาเชื้อให้มีชีวิตนานขึ้นซึ่งมีความชื้นเพิ่มมากขึ้น ทำให้มีจำนวนแบคทีเรียเหลือรอดชีวิตน้อยลง

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันของแบคทีเรียอัดเม็ดสายพันธุ์ W4-01 กับผลิตภัณฑ์นำเข้าจากต่างประเทศมาจำหน่ายในประเทศไทยได้แก่ ผลิตภัณฑ์ A และผลิตรภัณฑ์ B พบว่าแบคทีเรียอัดเม็ดสายพันธุ์ W4-01 มีประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันสูงกว่าผลิตภัณฑ์ B และมีประสิทธิภาพการยอยสลายไขมันเทียบเคียงกับผลิตภัณฑ์ A แสดงว่าแบคทีเรียอัดเม็ดสายพันธุ์ W4-01 มีความสามารถย่อยสลายไขมันเทียบเท่ากับผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายในท้องตลาด

การทดสอบประสิทธิภาพย่อยสลายไขมันในน้ำเสียจริงที่ยังไม่ได้ผ่านการบำบัดจากร้านอาหาร ร้านของทอด และร้านกาแฟในระดับห้องปฏิบัติการในสภาวะที่มีการเติมอากาศ พบว่าแบคทีเรียอัดเม็ดสายพันธุ์ W4-01 สามารถย่อยสลายไขมันในน้ำเสียจริงได้มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นไขมันในน้ำเสียจากร้านกาแฟที่ย่อยสลายได้ปานกลางเท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเวลาในการย่อยสลายน้อยเกินไป หากเพิ่มระยะเวลาในการย่อยสลาย ส่งผลประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมันของร้านกาแฟเพิ่มมากขึ้น

ต่อมาทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียสังเคราะห์ปนเปื้อนน้ำมันปาล์มใช้แล้วความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร ด้วยบ่อดักไขมันจำลอง ปริมาตร 4 ลิตร เป็นระบบบำบัดแบบต่อเนื่อง และมีการเติมแบคทีเรียทุกวัน พบว่าประสิทธิภาพการบำบัดเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์และในชุดควบคุม ไม่มีการลดลงของไขมัน แสดงว่าปริมาณไขมันที่หายไป ได้เกิดจากกิจกรรมการย่อยสลายของสายพันธุ์ W4-01 แน่นอน และลดค่า COD ได้ 55 เปอร์เซ็นต์จากค่า COD เริ่มต้นเท่ากับ 880 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพย่อยสลายไขมันของสายพันธุ์ W4-01 กับงานวิจัยของ Yang และคณะ (2012) ที่ศึกษาการย่อยสลายน้ำมันถั่วลิสง ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเมมเบรนจมตัว สามารถลดค่า COD ได้ 99 เปอร์เซ็นต์จากค่า COD เริ่มต้นเท่ากับ 762 มิลลิกรัมต่อลิตรในระยะเวลา 135 วัน จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ W4-01 มีประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันสูงกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าระบบบำบัดในงานวิจัยนี้สามารถใช้งานอย่างต่อเนื่องได้อย่างน้อย 20 วัน โดยยังไม่พบปัญหาการอุดตันของระบบที่เกิดจากตะกอนไขมันของน้ำเสีย ในขั้นตอนต่อไปได้เลือกน้ำเสียจริงจากร้านกาแฟมาเป็นต้นแบบในการทดสอบการใช้แบคทีเรียอัดเม็ดบำบัดน้ำเสียจริง เนื่องจากมีปริมาณไขมันไม่สูงเกินไป ทำให้น่าจะเห็นผลในการบำบัดได้อย่างมีประสิทธิภาพเริ่มต้นจากทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันในน้ำเสียของร้านกาแฟ โดยได้เพิ่มระยะเวลาการย่อยสลายเป็น 6 วัน พบว่าประสิทธิภาพการย่อยสลายของสายพันธุ์ W4-01 เพิ่มมากขึ้นเป็น 85 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียจากร้านกาแฟในบ่อดักไขมันจำลอง ปริมาตร 4 ลิตร เป็นระบบบำบัดแบบต่อเนื่อง และมีการเติมแบคทีเรียทุกวัน พบว่าสามารถบำบัดน้ำเสียจากร้านกาแฟ ความเข้มข้นไขมัน350 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ 70 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลา 21 วัน และในชุดควบคุม ไม่มีการลดลงของไขมัน แสดงว่าปริมาณไขมันที่หายไป ได้เกิดจากกิจกรรมการย่อยสลายของสายพันธุ์ W4-01 แน่นอน และลดค่า COD ได้ 46 เปอร์เซ็นต์ แต่ยังไม่สามารถลดให้อยู่ในค่าที่ยอมรับได้จากกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมคือ ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตรสาเหตุจากการให้อากาศในระบบมีน้อยเกินไป ส่งผลให้มีการลดค่า COD ไม่ค่อยดี ซึ่งค่า COD เป็นปริมาณออกซิเจนทั้งหมด เพื่อใช้ออกซิไดซ์สารอินทรีย์ในน้ำเสีย ให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ จากรายงานวิจัยของ Devi และ Dahiya (2005) พบว่าการเพิ่มปริมาณออกซิเจนด้วยการเพิ่มความเร็วรอบในการเขย่า (100 ถึง 600 รอบต่อนาที) ในการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งชุมชน สามารถลดค่า COD ได้เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการเพิ่มออกซิเจนให้ระบบ จะช่วยลดค่า COD ในระบบเพิ่มมากขึ้นดังนั้นการเพิ่มออกซิเจนให้ระบบ จะช่วยลดค่า COD ในระบบเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ในระบบบำบัดจริงได้มีระบบบำบัดแบบแอคติ

เวตเตดสลัดจ์ (Activated sludge; AS) ที่รองรับน้ำเสียจากบ่อดักไขมัน ซึ่งสามารถลดค่า COD ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

งานวิจัยนี้มีประสิทธิภาพการบำบัดปานกลางเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการบำบัดกับงานวิจัยของ Backer และคณะ (1999) ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากการล้างขนสัตว์ในถังปฏิกิริยาแบบกวนอย่างต่อเนื่อง ขนาด 2 ลิตร มีการให้อากาศ 0.3 ลิตรต่อนาทีด้วย *Bacillus thermoleovorans* สายพันธุ์ IHI-91 พบว่าปริมาณไขมันลดลง 20 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลา 10 ชั่วโมง โดยมีไขมันเริ่มต้นเท่ากับ 15 ถึง 20 กรัมต่อลิตร และลดค่า COD ได้ 15 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับค่า COD เริ่มต้นเท่ากับ 77,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และในงานวิจัยดังที่แสดงในตารางที่ 2.7 เนื่องจากในระบบบำบัดนี้มีการให้อากาศน้อย ซึ่งเป็นการให้อากาศเพื่อให้เกิดน้ำวนเท่านั้น และไม่ได้ปรับปริมาณสารอาหารคือ ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสให้เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย โดยค่า C:N:P ที่เหมาะเท่ากับ 100:10:1 แต่จากการวิเคราะห์ค่า C:N:P ในน้ำเสียเท่ากับ 100:1.38:0.01 ซึ่งค่า N:P มีค่าต่ำกว่าที่ควรจะเป็น 10 เท่า จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียและการย่อยสลายไขมัน จากรายงานวิจัยของ Lowry (1994) เปรียบเทียบวิธีการบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันระหว่างวิธีที่ไม่มีการให้อากาศกับวิธีที่ให้อากาศในระบบบำบัด แล้ววัดค่าปริมาณไขมันที่เหลือด้วยค่า BOD และปริมาณของแข็งแขวนลอย (TSS) พบว่าระบบบำบัดที่เติมอากาศสามารถลดค่า BOD และ TSS ได้ดีกว่าเท่ากับ 86 และ 82 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการการเติมอากาศช่วยเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำและเพิ่มจำนวนแบคทีเรียได้ดี นอกจากนี้ทำให้กลิ่นเหม็นของน้ำเสียหายไปและทำให้น้ำสะอาดขึ้น และจากรายงานวิจัยของ วรรณรัก นพเจริญกุล (2554) ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนด้วยระบบบำบัดแบบเติมอากาศที่มีตัวกลาง โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 2 ชุดการทดลองได้แก่ ชุดทดลองที่ไม่ได้ปรับสารอาหารและชุดทดลองที่ปรับสารอาหาร พบว่าชุดทดลองที่ปรับสารอาหารมีประสิทธิภาพการบำบัดปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้ 99 เปอร์เซ็นต์ และสามารถลดค่า COD อยู่ในช่วง 50-70 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดทดลองที่ไม่ได้ปรับสารอาหาร มีประสิทธิภาพในการบำบัดปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้เพียง 7 เปอร์เซ็นต์และไม่สามารถลดค่า COD ได้ จะเห็นได้ว่าการปรับสารอาหารให้เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายได้ ดังนั้นระบบนี้จำเป็นต้องปรับสภาวะดังที่ได้กล่าวมา เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดของระบบ

จากการตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงประชาคมแบคทีเรียด้วยวิธี PCR-DGGE พบแถบดีเอ็นเอเด่นของสายพันธุ์ W4-01 อยู่ตลอดในการทดลอง แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ W4-01 เป็นประชากรหลักในโครงสร้างประชาคมแบคทีเรีย และเป็นแบคทีเรียที่มีบทบาทต่อการย่อยสลายไขมันในน้ำเสีย ซึ่งสอดคล้องกับผลการย่อยสลายไขมันที่มีการลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Matsumiya และคณะ (2007) ตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงประชาคมแบคทีเรียในระบบบำบัดแบบต่อเนื่อง ขนาด 3 ลิตร เป็นระยะเวลา 7 วันในการย่อยสลายน้ำมันสลัด ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร พบว่า *Burkholderia* sp. สายพันธุ์ DW2-1 มีชีวิตอยู่ตลอดการทดลองและเป็นแบคทีเรียเด่นในการย่อยสลายน้ำมันสลัด ซึ่งสอดคล้องกับผลการย่อยสลายน้ำมันสลัดที่มีการลดลงอย่างรวดเร็วในระบบบำบัด

การพัฒนาวิธีการตรวจติดตามแบคทีเรียที่ย่อยสลายไขมัน โดยการออกแบบไพร์เมอร์สำหรับ real-time qPCR ที่สามารถตรวจติดตามแบคทีเรียย่อยสลายไขมัน ทั้งแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงได้และแบคทีเรียที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการ พบว่าไพรเมอร์คู่นี้มีความเฉพาะเจาะจงกับยีน *lip*A

เท่านั้น ดังนั้นไพรเมอร์คู่นี้มีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ตรวจนับจำนวนแบคทีเรียที่มียีน *lip*A ในระบบบำบัด ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็ว มีความไวและความจำเพาะสูง (Phrommanich และคณะ, 2009)

นอกจากนี้ได้ทดสอบความเป็นพิษของน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้ว พบว่าน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดในระบบบำบัด ไม่มีความเป็นพิษต่อเมล็ดพันธุ์พืชถั่วเขียว หัวไชเท้า และแตงกวา โดยมีเกณฑ์ในการพิจารณาคือ มีค่าดัชนีการงอก (Germination Index; GI) มากกว่าหรือเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ บ่งบอกว่าไม่มีความเป็นพิษ (Silva และคณะ, 2010)

จากเหตุผลที่กล่าวมาแบคทีเรียอัดเม็ดสายพันธุ์ W4-01 เป็นหัวเชื้อแบคทีเรียพร้อมใช้ที่มีประสิทธิภาพย่อยสลายไขมันที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย สามารถเก็บรักษาได้นานและยังคงมีประสิทธิภาพในการบำบัดไขมัน และมีประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันเทียบเท่าผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด นอกจากนี้ งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่นำเสนอการผลิตแบคทีเรียอัดเม็ดสำหรับการใช้บำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันซึ่งยังไม่มีการศึกษาและวิจัยมาก่อน