

ประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันที่แยกได้จากถังดักไขมัน ในการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย

Efficiency of Lipolytic Bacteria from Grease Traps in Removal of Grease and Oil in Wastewater

อูน ตะสิงห์ (Oun Tasing)* ดร.กาญจนา ครองธรรมชาติ (Dr.Kannitha Krongthamchat)**

ดร.ประสาธ โพนินมแดง (Dr.Prasart Phonimdaeng)***

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกระจาย ชนิด คุณสมบัติ และประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่แยกได้จากบ่อดักไขมันในการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย โดยเก็บตัวอย่างจากบ่อดักไขมันของโรงอาหาร และบ่อดักไขมันโรงงานแปรรูปเนื้อสุกร แยกและคัดเลือกแบคทีเรียเลี้ยงเป็นหัวเชื้อและทดสอบประสิทธิภาพในขวดปฏิกิริยาแบบไม่เติมอากาศ ผลการศึกษาพบว่า บ่อดักไขมัน โรงงานแปรรูปเนื้อสุกรมีการกระจายของแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันมากกว่าบ่อดักไขมันของโรงอาหาร แบคทีเรียที่ผ่านการทดสอบย่อยสลายไขมันขึ้นชั้นบน มีวงใสบน Tributyrin Agar อยู่ที่ 3.05 - 13.18 mm. ประสิทธิภาพการบำบัดที่ความเข้มข้นไขมันปานกลาง ระยะเวลา 5 วัน ชุดเติมหัวเชื้อ FT049 ชุดเติมแบคทีเรียรวม ชุดเติม Lypo-Ex และชุดควบคุม มีประสิทธิภาพการบำบัดเฉลี่ย เท่ากับ 69.78%, 66.06%, 64.24 % และ 25.94% ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นของไขมันสูง ชุดเติมหัวเชื้อ FT049 ชุดเติมแบคทีเรียรวม ชุดเติม Lypo-Ex และชุดควบคุม มีประสิทธิภาพการบำบัดเฉลี่ย เท่ากับ 44.87 %, 45.83 %, 43.10 % และ 24.05 % ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rRNA gene พบว่า แบคทีเรียที่มีวงใสกว้างที่สุด มีความคล้ายคลึงกับ *Acinetobacter gerneri*

ABSTRACT

This research aimed to study distribution, type, characteristic, and oil and grease removal efficiency of lipolytic bacteria which were separated from grease traps. Twelve samples of grease sludge were collected from grease traps of canteen and a pork processing factory. The selected lipolytic bacteria were isolated and selected to cultivate as seeds. The seeds were filled in the synthetic wastewater. The grease and oil reduction efficiency were observed in non-aeration reactor. The result show that the distribution of lipolytic bacteria from the pork processing factory was higher than the grease trap of canteen. The Bacteria passed confirmation test had ability to produce clear zone around 3.1 - 13.2 mm. width on tributyrin agar. After 5 days at moderate concentration, Category I was added FT049 seeds, Category II was added mixed bacteria, Category III was added Lypo-Ex , and the control had grease and oil reduction efficiency were 69.78%, 66.06%, 64.24%, and 25.94%, respectively. The clear zone widest bacteria identity by 16S rRNA gene sequencing is similar to *Acinetobacter gerneri*

คำสำคัญ: แบคทีเรียย่อยสลายไขมัน ไขมันและน้ำมัน ถังดักไขมัน

Keywords: Lipolytic bacteria, Grease and Oil, Grease trap

* นักศึกษา หลักสูตรสาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานามัยสิ่งแวดล้อม คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชานามัยสิ่งแวดล้อม อาชีวอนามัยและความปลอดภัย คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

น้ำเสียเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่สำคัญซึ่งสามารถส่งผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์ โดยจากรายงานคุณภาพแหล่งน้ำผิวดินที่มีการตรวจติดตามของกรมควบคุมมลพิษ ปี 2557 มีแหล่งน้ำที่มีคุณภาพเป็นไปตามเกณฑ์เพียง 8 แหล่ง จาก 59 แหล่งที่ทำการตรวจวัด คิดเป็นร้อยละ 13.6 เท่านั้น เมื่อพิจารณาคุณภาพน้ำย้อนหลัง 10 ปี แหล่งน้ำมีแนวโน้มเสื่อมโทรมลง (กรมควบคุมมลพิษ, 2558) ซึ่งการปนเปื้อนไขมันและน้ำมันก็เป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของแหล่งน้ำ ขัดขวางการแพร่ของออกซิเจนลงสู่แหล่งน้ำ ห่อหุ้มตัวสัตว์น้ำหรือสิ่งมีชีวิตเล็กๆ ทำให้หายใจไม่ได้และตาย เกิดสภาพไม่น่าดู เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของเชื้อโรค โดยปกติแล้วการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันสูงมักใช้การบำบัดทางกายภาพ เช่น บ่อดักไขมัน เป็นต้น แต่ประสิทธิภาพการบำบัดยังต่ำหากขาดการดูแลที่เหมาะสม ซึ่งบ่อดักไขมันที่มีเวลาเก็บกักไม่น้อยกว่า 6 ชั่วโมง จะสามารถกำจัดไขมันได้ประมาณร้อยละ 60 เท่านั้น หากขาดการดูแลประสิทธิภาพจะต่ำลง (สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ, 2555) การใช้จุลินทรีย์ช่วยบำบัดไขมันในน้ำเสียจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันสูงได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาการกระจาย ชนิด คุณสมบัติ และประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันที่แยกได้จากบ่อดักไขมันในการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย

วิธีการวิจัย

แบคทีเรียที่ใช้ในการวิจัย

เป็นแบคทีเรียที่เพาะแยกเชื้อได้จากของเสียจากบ่อดักไขมัน จาก 2 แห่ง ได้แก่ บ่อดักไขมันของโรงอาหาร คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และบ่อดักไขมันของโรงงานแปรรูปเนื้อสุกรแห่งหนึ่ง เก็บตัวอย่างเพื่อการเพาะแยกเชื้อบ่อละ 3 จุด ได้แก่ กากไขมันด้านบน กากไขมันด้านล่าง และน้ำเสีย จุดละ 2 ตัวอย่าง รวม 12 ตัวอย่าง และใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์บำบัดไขมัน ยี่ห้อ Lypo-Ex อีก 1 ผลิตภัณฑ์สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดไขมันในน้ำเสีย

การเพาะแยกเชื้อ การคัดเลือก และศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียจากบ่อดักไขมัน

เจือจางตัวอย่างจากบ่อดักไขมันด้วย 0.85% NaCl เลือกกระดับการเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับ นำมานับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดบน Nutrient agar พร้อมกับเพาะแยกเชื้อแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมัน บนอาหาร Tributyrin Agar ด้วยวิธี Spread Plate ระดับความเจือจางละ 3 ซ้ำ บ่มที่ 35 °C นาน 48 ชั่วโมง คัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างวงใสตั้งแต่ 3 มิลลิเมตร ขึ้นไป วัดความกว้างวงใส ด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ ความละเอียด 0.05 มิลลิเมตร (กิจจา, ปธานัน, 2555) คัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายไขมันและน้ำมันได้ดีขึ้นขึ้นบน Chromogenic Agar ที่มีน้ำมันมะกอกเป็นสารอาหาร บ่มที่ 37 °C นาน 15 นาที (Singh et al., 2006) คัดเลือกแบคทีเรียกลุ่มแฟลคัลเททีฟในอาหาร Nutrient Broth ที่ปิดทับด้านบนด้วย Mineral Oil บ่มที่ 35 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง คัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิห้องในอาหาร Nutrient Broth บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ศึกษา pH ที่เหมาะสม ในอาหาร Nutrient Broth ที่ pH 6, 7, และ 8 บ่มที่ 35 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดความขุ่น (Turbidity) ตามวิธี Nephelometric Method พิจารณาอาหารเลี้ยงเชื้อที่ช่วง pH ที่มีค่าความขุ่นสูงที่สุดแสดงว่าแบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีที่สุดและเทียบความเข้มข้นแบคทีเรียจาก Mcfarland scale ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการย้อมติดสีแกรมของเชื้อที่ผ่านการ

คัดเลือกและระบุชนิดของแบคทีเรียที่สามารถสร้างวงใสได้กว้างที่สุดจากบอดักไขมันทั้งสองบ่อ โดยวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rRNA gene

การเตรียมแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือกเป็นหัวเชื้อแบคทีเรียเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการบำบัดไขมัน

เตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียโดยดัดแปลงจากวิธีการเตรียม EM (คิวเซ®) ขยาย ของ วีระพล (2547) ด้วยการเลี้ยงเชื้อในสารละลายกากน้ำตาลที่มีฟอสเฟตบัพเฟอร์ ในอัตราส่วน จุลินทรีย์ : กากน้ำตาล : น้ำสะอาดที่มีฟอสเฟตบัพเฟอร์ 1 % เท่ากับ 1 : 1 : 20 บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

ตัวอย่างน้ำเสีย

ใช้น้ำเสียสังเคราะห์ โดย 1 ลิตร ประกอบด้วย Peptone 0.6 กรัม, Beef extract 0.4 กรัม, Urea 0.1 กรัม, Na_2HPO_4 0.1 กรัม, NaCl 0.03 กรัม, CaCl_2 0.014 กรัม, KCl 0.014 กรัม, และ MgSO_4 0.01 กรัม ปรับ pH 7.0-7.2 ด้วย NaOH หรือ H_2SO_4 1 N ตวงน้ำเสียสังเคราะห์ 475 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วปากกว้างขนาด 750 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน และเติมน้ำมันผสมปลอดเชื้อที่ประกอบด้วยน้ำมันหมู 50% น้ำมันปาล์ม 25% และน้ำมันถั่วเหลือง 25% ให้ความเข้มข้นไขมันตามที่กำหนด (ดัดแปลงจาก อรุณา, ปราณี, 2557)

การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียสังเคราะห์

การศึกษาประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียสังเคราะห์ซึ่งเติมน้ำมันปลอดเชื้อที่ระดับความเข้มข้นไขมันและน้ำมันปานกลาง (122.1 ± 23.34 mg/L) และความเข้มข้นสูง (288.5 ± 18.39 mg/L) ในขวดปฏิกิริยาแบบไม่เติมอากาศ บ่มที่ 35°C เป็นเวลา 5 วัน ปรับ pH ที่ 7.0 – 7.2 และกวนผสมด้วย Magnetic stirrer ทุก 24 ชั่วโมง โดยแบ่งชุดทดลองเป็น 4 ชุด ได้แก่ ชุดควบคุม เติมหาอาหารเหลวปลอดเชื้อ 5 % (v/v) ชุดทดลองที่ 1 เติมหักเชื้อ FT049 5% (v/v) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สร้างวงใสได้กว้างที่สุดที่ผ่านการคัดเลือกจากบอดักไขมัน ชุดทดลองที่ 2 เติมหักเชื้อแบคทีเรียรวม 5 % (v/v) ซึ่งผสมแบคทีเรียทั้งหมดที่ผ่านการคัดเลือกจากบอดักไขมันของโรงงานแปรรูปเนื้อสุกรและโรงอาหาร และชุดทดลองที่ 3 เติมผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์บำบัดไขมัน ยี่ห้อ Lypo-Ex ตามข้อบ่งใช้ของผลิตภัณฑ์ ทุกชุดทดลองทำ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ปริมาณไขมันในน้ำเสียด้วยวิธี Soxhlet Extraction Method โดยค่าปริมาณไขมันและน้ำมันคำนวณจากสูตร

$$\text{ไขมันและน้ำมัน (มิลลิกรัมต่อลิตร ; mg/L)} = \frac{(w_r)}{V_s}$$

เมื่อ w_r คือ น้ำหนักบีกเกอร์พร้อมไขมันคงเหลือ - น้ำหนักบีกเกอร์เปล่า ; มิลลิกรัม

V_s คือ ปริมาตรน้ำตัวอย่าง ; ลิตร

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ชนิด คุณสมบัติของแบคทีเรีย และปริมาณไขมันและน้ำมันในน้ำเสียวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติพรรณนาโดยนำเสนอ จำนวน ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติพรรณนา โดยนำเสนอด้วยค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการบำบัด (% Removal) คู่กับส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการบำบัด ด้วยสถิติ One-way analysis of variance (One-way ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์ทางสถิติ STATA version 10.1 ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การกระจายของแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันในบ่อดักไขมัน

จากการศึกษาพบว่า บ่อดักไขมันโรงงานแปรรูปเนื้อสุกรมีจำนวนแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันมากกว่า บ่อดักไขมันของโรงอาหาร อย่างเห็นได้ชัด โดยตามจุดต่างๆในบ่อ ได้แก่ กากตะกอนด้านบน กากตะกอนด้านข้าง และน้ำเสีย บ่อดักไขมันโรงงานแปรรูปเนื้อสุกร มีจำนวนแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมัน เฉลี่ย เท่ากับ 5.90×10^7 CFU/mL, 1.30×10^7 CFU/mL, และ 9.75×10^5 CFU/mL ตามลำดับ ส่วนบ่อดักไขมันของโรงอาหาร มีจำนวนแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมัน เท่ากับ 7.3×10^4 CFU/mL, 8.5×10^4 CFU/mL, และ 1.38×10^5 CFU/mL ตามลำดับ ดังภาพที่ 1 เนื่องจากของเสียจากบ่อดักไขมันของโรงงานแปรรูปเนื้อสุกรมีอาหารที่ส่งเสริมให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีกว่า เช่น เลือด เนื้อเยื่อ และสิ่งขับถ่ายจากสุกร เป็นต้น นอกจากนี้ในบ่อดักไขมันของโรงอาหารมีการสะสมตัวของชั้นไขมันบนผิวน้ำสูงทำให้ออกซิเจนไม่สามารถผ่านเข้าสู่ของเสียได้แบคทีเรียจึงเจริญเติบโตได้ช้ากว่าอีกด้วย เมื่อพิจารณาสัดส่วนแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันต่อแบคทีเรียทั้งหมด พบว่า ในบ่อดักไขมันโรงงานแปรรูปเนื้อสุกร มีสัดส่วนการกระจายของแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันมากที่สุดในกากตะกอนด้านบน รองลงมาคือกากตะกอนด้านข้างบ่อ และในน้ำเสีย คิดเป็นร้อยละ 46.00, 20.91, และ 14.03 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างในบ่อดักไขมันของโรงอาหารที่มีสัดส่วนมากที่สุดในน้ำเสีย รองลงมาคือกากตะกอนด้านข้างบ่อ และกากตะกอนด้านบน คิดเป็นร้อยละ 33.74, 10.94, และ 3.85 ตามลำดับ ดังตารางที่ 1

คุณสมบัติของแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันที่แยกได้จากบ่อดักไขมัน

แบคทีเรียที่มีวงใส บน Tributyrin Agar กว้างกว่า 3 มิลลิเมตร สามารถแยก ได้ทั้งหมด 198 ไอโซเลท โดยแยกได้จากบ่อดักไขมันของโรงอาหาร 29 ไอโซเลท และจากบ่อดักไขมันโรงงานแปรรูปเนื้อสุกร 169 ไอโซเลท มีเชื้อผ่านการคัดเลือกการย่อยสลายไขมันขึ้นย่นขึ้น จำนวน 82 ไอโซเลท มีความกว้างวงใส อยู่ที่ 3.05 ± 0.38 ถึง 13.18 ± 0.45 มิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ กิจจา, ปธานิน (2555) ที่คัดแยกแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันจากสิ่งแวดล้อมและดักไขมันแล้วนำมาเพาะและวัดวงใสบน Tributyrin Agar พบว่ามีแบคทีเรียที่ให้ความกว้างวงใส สูงสุด 13 มิลลิเมตร เมื่อนำมาคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่มแฟลคคิลเททฟี มีแบคทีเรียผ่านการคัดเลือก จำนวน 20 ไอโซเลท เป็นเชื้อจากบ่อดักไขมันของโรงอาหาร 5 ไอโซเลท แบคทีเรียที่มีวงใสกว้างที่สุด คือ ไอโซเลท GTCW009/02/59 ความกว้างวงใส 9.90 ± 0.85 มิลลิเมตร และจากบ่อดักไขมันโรงงานแปรรูปเนื้อสุกร 15 ไอโซเลท แบคทีเรียที่มีวงใสกว้างที่สุด คือ ไอโซเลท GTFT049/06/59 มีความกว้างวงใส 12.48 ± 0.18 มิลลิเมตร เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญได้ดีที่อุณหภูมิห้องซึ่งมีอุณหภูมิช่วงกลางวัน เฉลี่ย 28.8 ± 0.5 °C พบว่าแบคทีเรียทั้ง 20 ไอโซเลท ผ่านการทดสอบโดยมีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด ไม่น้อยกว่า 3×10^8 CFU/mL ดังตารางที่ 2 แต่ระหว่างเก็บแบคทีเรียรอการศึกษา มีเชื้อตาย จำนวน 4 ไอโซเลท เหลือแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือก 16 ไอโซเลท แบคทีเรียทั้งหมดสามารถเจริญได้ในช่วง pH 6-8 โดยส่วนใหญ่ (7 ไอโซเลท) เจริญได้ดีที่สุดใน pH 7.0 คิดเป็นร้อยละ 43.8 มี 4 ไอโซเลท ที่เจริญได้ดีที่สุดใน pH 6.0 คิดเป็นร้อยละ 25.0 และมี 5 ไอโซเลทที่เจริญได้ดีที่สุดใน pH 8.0 คิดเป็นร้อยละ 31.2 เมื่อแปลงค่าความขุ่นเป็นความเข้มข้นของแบคทีเรียจาก Mcfarland scale ได้ผลดังตารางที่ 3 ซึ่งสอดคล้องกับหลักกระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพเรื่องปัจจัยด้านกรด-ด่าง ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสมพงษ์ (2552) ที่ระบุว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่มีช่วงค่า pH สำหรับการเจริญเติบโตอยู่ที่ 4-9 โดยมีค่าที่เหมาะสมที่ 6.5-7.5 นอกจากนี้การศึกษาของวีระสิทธิ์ และคณะ (2549) ยังพบว่าเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อ *Staphylococcus warneri* สามารถทำงานได้ดีที่ค่า pH เป็นกลางเท่ากับ 7.0 เช่นกัน

เมื่อนำเชื้อที่ผ่านการคัดเลือกมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการย้อมติดสีแกรม พบว่าส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ 12 ไอโซเลท ในจำนวนนี้มีรูปร่างกลม 3 ไอโซเลท รูปร่างกลมรี 3 ไอโซเลท รูปแท่งสั้นๆ 5 ไอโซเลท และรูปแท่ง 1 ไอโซเลท มีแบคทีเรียแกรมบวก 4 ไอโซเลท มีรูปร่างกลม 3 ไอโซเลท และรูปแท่ง 1 ไอโซเลท ทั้งนี้พบว่า แบคทีเรียที่มีวงแหวนความกว้างที่สุดจากบอดักไขมันทั้งสองแห่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างกลม

ประสิทธิภาพในการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นไขมันปานกลาง

ที่ระดับความเข้มข้นไขมันและน้ำมันปานกลาง (122.1 ± 23.34 mg/L) ประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียสังเคราะห์ในขวดปฏิกิริยาแบบไม่เติมอากาศ ระยะเวลาการบำบัด 24 ชั่วโมง พบว่า ชุดควบคุม, ชุดทดลองที่ 1 เดิม FT049, ชุดทดลองที่ 2 เดิมแบคทีเรียรวม, และชุดทดลองที่ 3 เดิม Lypo-Ex มีประสิทธิภาพการบำบัดเฉลี่ย เท่ากับ 18.87 %, 39.43 %, 17.51 %, และ 0.00 % ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการบำบัด 72 ชั่วโมง ชุดควบคุม, ชุดทดลองที่ 1 เดิม FT049, ชุดทดลองที่ 2 เดิมแบคทีเรียรวม, และชุดทดลองที่ 3 เดิม Lypo-Ex มีประสิทธิภาพการบำบัดเฉลี่ย เท่ากับ 0.00 %, 52.62 %, 24.58 %, และ 23.76 % ตามลำดับ และที่ระยะเวลาการบำบัด 120 ชั่วโมง พบว่าการเติมหัวเชื้อ FT049 มีประสิทธิภาพการบำบัดเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 69.78 % รองลงมาคือ ชุดเดิมแบคทีเรียรวม เท่ากับ 66.06 % และชุดเดิมผลิตภัณฑ์ Lypo-Ex เท่ากับ 64.24 % ขณะที่ชุดควบคุมมีค่าประสิทธิภาพการบำบัดเฉลี่ย เท่ากับ 25.94% โดยมีปริมาณไขมันและน้ำมันคงเหลือ เท่ากับ 76.1 ± 9.07 mg/L, 45.7 ± 5.83 mg/L, 44.5 ± 15.04 mg/L, 36.9 ± 5.00 mg/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 2 และภาพที่ 3

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการบำบัด ด้วยสถิติทดสอบ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่า ที่ระยะการบำบัด 24 ชั่วโมง ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระยะการบำบัด 72 ชั่วโมง พบชุดทดลองที่เดิม FT049 มีประสิทธิภาพการบำบัดแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และที่ระยะการบำบัด 120 ชั่วโมง พบว่า ชุดทดลองทั้ง 3 ชุด มีประสิทธิภาพการบำบัดแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มชุดทดลอง ดังตารางที่ 5

ประสิทธิภาพในการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียสังเคราะห์ที่ความเข้มข้นไขมันสูง

ที่ความเข้มข้นของไขมันและน้ำมันสูง (288.5 ± 18.39 mg/L) ระยะเวลาการบำบัด 24 ชั่วโมง พบว่า ชุดควบคุม, ชุดทดลองที่ 1 เดิม FT049, ชุดทดลองที่ 2 เดิมแบคทีเรียรวม, และชุดทดลองที่ 3 เดิม Lypo-Ex มีประสิทธิภาพการบำบัดเฉลี่ย เท่ากับ 0.00 %, 18.36 %, 17.97 %, และ 13.28 % ตามลำดับ ที่ระยะเวลาการบำบัด 72 ชั่วโมง ชุดควบคุม, ชุดทดลองที่ 1 เดิม FT049, ชุดทดลองที่ 2 เดิมแบคทีเรียรวม, และชุดทดลองที่ 3 เดิม Lypo-Ex มีประสิทธิภาพการบำบัดเฉลี่ย เท่ากับ 15.36 %, 34.12 %, 37.79 %, และ 32.52 % ตามลำดับ และที่ระยะเวลาการบำบัด 120 ชั่วโมง ชุดควบคุม, ชุดทดลองที่ 1 เดิม FT049, ชุดทดลองที่ 2 เดิมแบคทีเรียรวม, และชุดทดลองที่ 3 เดิม Lypo-Ex มีประสิทธิภาพการบำบัดเฉลี่ย เท่ากับ 24.05 %, 44.87 %, 45.83 %, และ 43.10 % ตามลำดับ โดยมีปริมาณไขมันและน้ำมันคงเหลือ เท่ากับ 213.6 ± 7.44 mg/L, 169.5 ± 14.84 mg/L, 154.6 ± 27.20 mg/L, 159.2 ± 14.73 mg/L ตามลำดับ ดังภาพที่ 2 และภาพที่ 3

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการบำบัด ด้วยสถิติทดสอบ One-way ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบว่า ที่ระยะเวลาการบำบัด 24 ชั่วโมง 72 ชั่วโมง และ 120 ชั่วโมง ชุดทดลองทั้ง 3 ชุด มีประสิทธิภาพการบำบัดแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มชุดทดลอง ดังตารางที่ 5

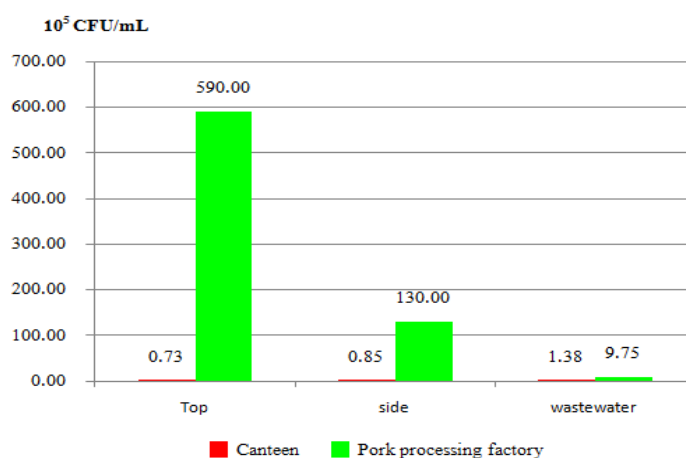
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันและน้ำมันคงเหลือ กับเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งอาคาร ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (2548) ที่กำหนด ปริมาณน้ำมันและไขมันในน้ำทิ้งอาคารบางประเภท ต้องไม่เกิน

20 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้ว พบว่า ที่ระยะเวลาการบำบัด 5 วัน ทั้ง 4 ชุดการทดลองยังไม่สามารถบำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นไขมันและน้ำมันปานกลางและสูงให้ผ่านเกณฑ์มาตรฐานได้ ทั้งนี้จากผลการศึกษาทำให้ทราบว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากถังดักไขมันและผลิตภัณฑ์ Lypo-Ex สามารถลดปริมาณไขมันและน้ำมันในน้ำเสียสังเคราะห์ได้จริง แต่ด้วยธรรมชาติของการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศจะไม่สามารถทำให้น้ำเสียผ่านเกณฑ์มาตรฐานได้ซึ่งควรทำการศึกษาในการที่จะบำบัดน้ำเสียแบบใช้อากาศต่อไป

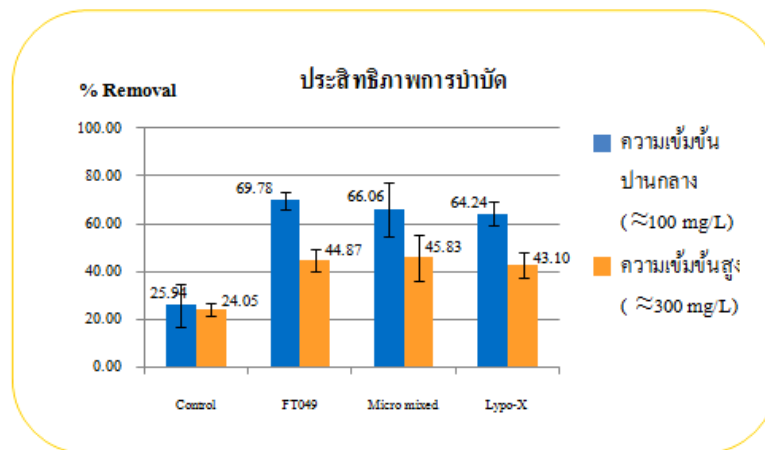
ผลการวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rRNA gene เพื่อระบุชนิดของแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่สร้างวงใสได้กว้างที่สุดซึ่งแยกได้จากบ่อดักไขมันโรงงานแปรรูปเนื้อสุกรเมื่อวิเคราะห์ลำดับเบส 16S rRNA gene พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *Acinetobacter gernerii* และแบคทีเรียที่สร้างวงใสได้กว้างที่สุดซึ่งแยกได้จากบ่อดักของโรงอาหาร พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *Klebsiella michiganensis* หรือ *Cedecea neteri* ที่ 100% identity by 500 bp. ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Musa, Adebayo-Tayo (2012) ที่แยกจุลินทรีย์จากตัวอย่างน้ำมันที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมเพื่อการผลิตเอซตราเซลล์ลูลาร์ไลเปส พบแบคทีเรียกลุ่ม *Acinetobacter* sp. มีค่ากิจกรรมไลเปสสูงที่สุดรองลงมาคือ *Serratia marcescens*, *Citrobacter* sp., *Bifidobacterium* sp., และ *Yersinia* sp. ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการเป็นเชื้อก่อโรคตามรายชื่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในคนและสัตว์ ซึ่งรวบรวมโดย Synchrotron Light Research Institute (2011) แล้ว *Acinetobacter gernerii* และ *Klebsiella michiganensis* ไม่พบว่าเป็นเชื้อก่อโรค แต่พบว่า *Cedecea neteri* เป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์ที่มีความเสี่ยงระดับ 2 (ระดับปานกลาง)

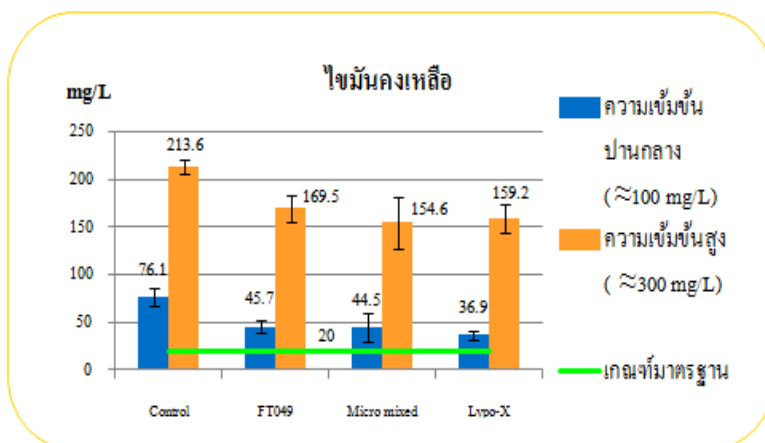
Distribution of lipolytic bacteria in grease traps



ภาพที่ 1 เปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันในบ่อดักไขมัน



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพการบำบัดไขมันและน้ำมัน ที่เวลา 120 ชั่วโมง



ภาพที่ 3 ปริมาณไขมันและน้ำมันคงเหลือ ที่เวลา 120 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 การกระจายของแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมัน (Lipolytic Bacteria) ในปอดักไขมัน

รายการ	จำนวนแบคทีเรีย (10^5 CFU/mL $\pm$ sd)		ร้อยละของ
	Total Bact.	Lipolytic Bact.	Lipolytic Bact.
1. ปอดักไขมันโรงพยาบาลศรีนครินทร์			
กากไขมันด้านบน	19.06 $\pm$ 0.58	0.73 $\pm$ 0.05	3.85
กากไขมันด้านล่าง	7.77 $\pm$ 0.09	0.85 $\pm$ 0.24	10.94
น้ำเสีย	4.10 $\pm$ 1.51	1.38 $\pm$ 0.31	33.74
2. ปอดักไขมันโรงงานแปรรูปเนื้อสุกรแห่งหนึ่ง			
กากไขมันด้านบน	1282.50 $\pm$ 357.09	590.00 $\pm$ 28.28	46.00
กากไขมันด้านล่าง	621.67 $\pm$ 91.92	130 $\pm$ 10.00	20.91
น้ำเสีย	69.50 $\pm$ 21.92	9.75 $\pm$ 1.77	14.03

ตารางที่ 2 ผลจัดอันดับความกว้างวงใสของเชื้อที่ผ่านการคัดเลือก

อันดับที่	ชื่อไอโซเลท	ความกว้าง วงใส (mm) - ($\bar{X} \pm sd$)	Chromogenic Agar Test (+, -)	Facultative Test (+, -)	Room Temperature Growth Test (+, -)
1	GTFT049/06/59	12.48±0.18	+	+	+
2	GTCW009/02/59	9.90±0.85	+	+	+
3	GTFS048/03/59	8.47±0.84	+	+	+
4	GTCW006/02/59	8.35±0.09	+	+	+
5	GTFT085/03/59	8.04±0.77	+	+	+
6	GTFS008/03/59	7.88±1.32	+	+	+
7	GTFT052/03/59	7.10±0.26	+	+	+
8	GTFT077/03/59	6.88±1.03	+	+	+
9	GTCS011/02/59	6.61±0.11	+	+	+
10	GTFT008/06/59	6.56±0.55	+	+	+
11	GTFW054/03/59	6.46±0.95	+	+	+
12	GTFT076/03/59	6.08±0.73	+	+	+
13	GTCT010/02/59	5.95±0.17	+	+	+
14	GTFS015/03/59	5.10±0.43	+	+	+
15	GTFS014/03/59	4.34±0.56	+	+	+
16	GTFT042/03/59	3.93±0.84	+	+	+
17	GTFS020/03/59	3.73±0.14	+	+	+
18	GTCW004/02/59	3.43±0.46	+	+	+
19	GTFW003/03/59	3.34±0.01	+	+	+
20	GTFW032/03/59	3.22±0.13	+	+	+

หมายเหตุ: + หมายถึง ผ่านการคัดเลือก, - หมายถึง ไม่ผ่านการคัดเลือก

ชื่อไอโซเลทเป็นชื่อที่ตั้งขึ้นมาโดยผู้วิจัย กำหนดจากแหล่งที่มาของเชื้อที่แยกได้ ดังนี้

1. ตัวอักษร 3 ตัวแรก หากเป็น GTC หมายถึง บ่อดักไขมันของโรงอาหาร (Grease Traps of Canteen)
หากเป็น GTF หมายถึง บ่อดักไขมันของโรงงานแปรรูปเนื้อสุกร (Grease Traps of Pork Processing Factory)

2. ตัวอักษรที่ 4 ระบุตำแหน่งจุดเก็บตัวอย่าง T หมายถึง กากตะกอนด้านบน (Top sludge) S หมายถึง
กากตะกอนด้านข้าง (Side sludge) และ W หมายถึง น้ำเสียในบ่อ (Wastewater)

3. ตัวเลข 3 ตัวแรกคือลำดับที่แยกเชื้อได้ / เดือน/ปี ที่แยกเชื้อได้

ตารางที่ 3 ผลการศีกษา pH ที่เหมาะสมในการเจริญของแบคทีเรียที่เรืยที่ผ่านการคัดเลือก

ลำดับ	ชื่อไอโซเลท	pH = 6.0 CFU/mL	pH = 7.0 CFU/mL	pH = 8.0 CFU/mL
1	GTFT049/06/59	2.74x10 ⁸	3.69x10 ⁸ **	3.68x10 ⁸
2	GTCW009/02/59	6.98 x10 ⁸ **	6.50x10 ⁸	6.69x10 ⁸
3	GTCW006/02/59	<1.50x10 ⁸	2.81x10 ⁸ **	<1.50x10 ⁸
4	GTFT085/03/59	3.90x10 ⁸ **	3.44x10 ⁸	3.41x10 ⁸
5	GTFS008/03/59	3.31x10 ⁸ **	3.14x10 ⁸	3.09x10 ⁸
6	GTFT052/03/59	4.99x10 ⁸	5.89x10 ⁸ **	5.45x10 ⁸
7	GTFT077/03/59	<1.50x10 ⁸	3.81x10 ⁸	7.14x10 ⁸ **
8	GTCS011/02/59	4.03x10 ⁸	4.23x10 ⁸ **	3.30x10 ⁸
9	GTFT008/06/59	7.14x10 ⁸	7.56x10 ⁸ **	7.16x10 ⁸
10	GTFW054/03/59	<1.50x10 ⁸	<1.50x10 ⁸	4.21x10 ⁸ **
11	GTCT010/02/59	2.93x10 ⁸	3.68x10 ⁸	4.18x10 ⁸ **
12	GTFS015/03/59	3.33x10 ⁸	3.83x10 ⁸ **	3.44x10 ⁸
13	GTFS014/03/59	2.81x10 ⁸	2.98x10 ⁸	3.21x10 ⁸ **
14	GTFT042/03/59	2.74x10 ⁸	4.18x10 ⁸	4.91x10 ⁸ **
15	GTCW004/02/59	6.98x10 ⁸	8.21x10 ⁸ **	7.99x10 ⁸
16	GTFW032/03/59	3.01x10 ⁸ **	2.89x10 ⁸	2.86x10 ⁸

หมายเหตุ: ** ความเข้มข้นของแบคทีเรียสูงที่สุด แสดงถึงการเจริญของแบคทีเรียได้ดีที่สุด

- ความเข้มข้นของแบคทีเรีย คำนวณจากสมการเส้นตรง คือ $185.2439 + 1.555993X = Y$ เมื่อ X คือ ความขุ่น เป็น NTU และ Y คือ ความเข้มข้นของแบคทีเรีย เป็น 10⁶ CFU/mL โดยใช้สถิติ Linear regression ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ความแม่นยำในการทำนายค่า เท่ากับ ร้อยละ 95.07 ($R^2 = 0.9507$) ช่วงความขุ่นที่สามารถใช้ทำนายค่า 53.2 – 830.3 NTU หากค่า ≤ 53.2 NTU จะแปลผลเป็นความเข้มข้น <1.50x10⁸ CFU/mL

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพในการบำบัดไขมันและน้ำมันในน้ำเสียสังเคราะห์

สรุปผลการทดลอง	ไขมันและ	ไขมันและน้ำมันที่ 24 ชั่วโมง			ไขมันและน้ำมันที่ 72 ชั่วโมง			ไขมันและน้ำมันที่ 120 ชั่วโมง		
	น้ำมันเริ่มต้น	ไขมันคงเหลือ	% Removal		ไขมันคงเหลือ	% Removal		ไขมันคงเหลือ	% Removal	
	mg/L ($\bar{X} \pm sd$)									
1. ความเข้มข้นไขมันเริ่มต้น 100 mg/L (122.1±23.34)										
Control	102.8±19.91	83.4±13.02	18.87±12.66		108.3±11.16	0.00*		76.1±9.07	25.94±8.82	
FT049	151.1±9.02	91.5±10.59	39.43±7.01	(0.276)	71.6±18.86	52.62±12.48	(0.003)	45.7±5.83	69.78±3.86	(0.001)
Micro mixed	131.0±5.92	108.1±14.06	17.51±10.74	(1.000)	98.8±1.21	24.58±0.93	(0.106)	44.5±15.04	66.06±11.48	(0.001)
Lypo-Ex	103.3±2.86	111.1±11.84	0.00*	(0.098)	78.7±18.81	23.76±18.21	(0.120)	36.9±5.00	64.24±4.84	(0.002)
2. ความเข้มข้นไขมันเริ่มต้น 300 mg/L (288.5±18.39)										
Control	281.2±19.89	284.4±21.79	0.00*		238.0±13.14	15.36±4.67		213.6±7.44	24.05±2.65	
FT049	307.4±10.30	251.0±3.46	18.36±1.13	(0.011)	202.5±15.07	34.12±4.90	(0.023)	169.5±14.84	44.87±4.83	(0.018)
Micro mixed	285.5±21.91	234.2±6.59	17.97±2.31	(0.006)	177.6±14.02	37.79±4.91	(0.008)	154.6±27.20	45.83±9.53	(0.014)
Lypo-Ex	279.9±11.67	242.7±3.34	13.28±1.19	(0.030)	188.9±21.63	32.52±7.73	(0.037)	159.2±14.73	43.10±5.26	(0.030)

หมายเหตุ: ค่า P-value เปรียบเทียบความแตกต่างประสิทธิภาพการบำบัดระหว่างกลุ่มทดลองกับชุด Control

* กรณีที่ค่าเฉลี่ย % Removal มีค่าน้อยกว่า 0 จะรายงานค่าเป็น 0.00 %

- ประสิทธิภาพการบำบัด (% Removal) คำนวณโดยเปรียบเทียบกับปริมาณไขมันเริ่มต้นของแต่ละชุดทดลอง

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การกระจายของแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันในบ่อดักไขมันแตกต่างกันไปตามจุดต่างๆในบ่อ และลักษณะของของเสียในบ่อ ทั้งนี้พบบ่อดักไขมันโรงงานแปรรูปเนื้อสุกรมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันมากกว่าบ่อดักไขมันของโรงอาหารอย่างเห็นได้ชัด

แบคทีเรียกลุ่มย่อยสลายไขมันแบคทีเรียที่ผ่านการทดสอบการย่อยไขมันขึ้นขึ้นชั้น มีความกว้างวงใส บน Tributyrin Agar อยู่ที่ 3.05 ± 0.38 ถึง 13.18 ± 0.45 มิลลิเมตร

แบคทีเรียที่แยกได้จากบ่อดักไขมันโรงงานแปรรูปเนื้อสุกร ซึ่งสร้างวงใสได้กว้างที่สุด เท่ากับ 12.48 ± 0.18 มิลลิเมตร มีความคล้ายคลึงกับ *Acinetobacter gernerii*

แบคทีเรียที่แยกได้จากบ่อดักของโรงอาหาร ซึ่งสร้างวงใสได้กว้างที่สุด เท่ากับ 9.90 ± 0.85 มิลลิเมตร มีความคล้ายคลึงกับ *Klebsiella michiganensis* หรือ *Cedecea neteri*

ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำเสียที่ความเข้มข้นไขมันปานกลาง ที่ระยะเวลา 5 วัน การเติมหัวเชื้อ FT049 ชุดทดลองที่ 2 เติมแบคทีเรียรวม ชุดทดลองที่ 3 เติม Lypo-Ex และชุดควบคุม มีประสิทธิภาพการบำบัดเฉลี่ยเท่ากับ 69.78 % , 66.06 % , 64.24 % , และ 25.94 % ตามลำดับและที่ความเข้มข้นของไขมันและน้ำมันสูง การเติมหัวเชื้อ FT049 ชุดเติมแบคทีเรียรวม ชุดเติม Lypo-Ex และชุดควบคุม มีประสิทธิภาพการบำบัดเฉลี่ยเท่ากับ 44.87 % , 45.83 % , 43.10 % และ 24.05 % ตามลำดับ โดย ชุดทดลองทั้ง 3 ชุด มีประสิทธิภาพการบำบัดแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มชุดทดลอง

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก “ทุนอุดหนุนและส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์สำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปีการศึกษา 2558” โดย บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น และได้รับทุนสนับสนุนบางส่วนจากสาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม อาชีวอนามัยและความปลอดภัย และกลุ่มวิจัยการบำบัดและนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์ด้วยจุลินทรีย์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และได้รับการอนุเคราะห์ใช้เครื่องมือบางส่วนจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และสำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 10 จังหวัดขอนแก่น ได้รับความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างในบ่อดักจาก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และเทศบาลนครขอนแก่น ตลอดจนโรงงานแปรรูปเนื้อสุกรขอนแก่น ขอขอบพระคุณทุกหน่วยงานและทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์อย่างสูงยิ่ง

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. (ร่าง) รายงานสถานการณ์มลพิษของประเทศไทย

ปี 2557 [ออนไลน์] 2558. [อ้างเมื่อ 20 สิงหาคม 2558]. จาก http://infofile.pcd.go.th/mgt/pcdreport_draft2557.pdf?CFID=21555452&CFTOKEN=56817448

กิจจา จิตรภิรมย์ และปธานิน แสงอรุณ. การตรวจหาแบคทีเรียย่อยไขมันจากตัวอย่างสิ่งแวดล้อม. วารสาร

สาธารณสุขศาสตร์ 2555; 42(3): 3-18.

ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคาร

บางประเภทและบางขนาด. (2548, 29 ธันวาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 122 ตอนที่ 125 ง.

- วีระพล วงษ์ประพันธ์. ประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมันและไขมันในน้ำเสียจากโรงครัวโรงพยาบาลด้วยจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ EM [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานาฏยสิ่งแวดล้อม]. ขอนแก่น: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2547.
- วีระสิทธิ์ กัลยาณกุล, อนันต์ บุญปาน, และปรียานุช บวรเรืองโรจน์. การจำแนกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสที่ชอบเกลือและศึกษาสมบัติของเอนไซม์. การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 44 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 30 มกราคม - 2 กุมภาพันธ์ 2549; กรุงเทพฯ. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2549.
- สมพงษ์ หิรัญมาสสุวรรณ. กระบวนการบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ พื้นฐานและการคำนวณออกแบบ. กรุงเทพฯ: สยามสแตชันเนอรีซ์พลาซัส; 2552.
- สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. คู่มือการจัดการน้ำเสียสำหรับบ้านเรือน [ออนไลน์] 2555. [อ้างเมื่อ 26 กุมภาพันธ์ 2558]. จาก http://infofile.pcd.go.th/water/water_Manual_2555.pdf?CFID=21555452&CFTOKEN=56817448
- อรอุษา รุ่งเรือง และ ปราณี พัฒนพิพัชไพศาล. การบำบัดน้ำเสียปนเปื้อนไขมันด้วยเซลล์แบคทีเรียตรึงรูปและไลเปสตรึงรูปต่างๆ. งานประชุมวิชาการ ม.อ. ภูเก็ตวิจัยนานาชาติ ครั้งที่ 3 (The 3rd Annual PSU Phuket International Conference 2014) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต; 13-14 พฤศจิกายน 2557; ภูเก็ต. ภูเก็ต: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต; 2557.
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), and Water Environment Federation (WEF). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22nd Edition. Washington, D.C.: APHA, AWWA, and WEF; 2012.
- Musa H. and Adebayo-Tayo B.C... Screening of Microorganisms Isolated from Different Environmental Samples for Extracellular Lipase Production. AU J.T. 2012; 15(3): 179-186.
- Singh R., Gupta N., Goswami V.K., and Gupta R. A simple activity staining protocol for lipases and esterases. Appl Microbiol Biotechnol 2006; 70: 679-682.
- Synchrotron Light Research Institute.. เหน็จการให้ระดับอันตรายเชื้อจุลินทรีย์ในการก่อโรค [ออนไลน์] 2554. [อ้างเมื่อ 30 พฤศจิกายน 2559]. จาก http://www.slri.or.th/th/index.php?option=com_attachments&task=download&id=1208