

๕๗๖

๒๕๔๒

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย  
สารในขยะและน้ำเสีย

Screening of effective microorganisms in compost  
and sewage biodegradation

งานวิจัยนี้ได้รับเงินอุดหนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน  
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประจำปี ๒๕๔๑

คณะผู้ดำเนินการวิจัย

สุมาลี เหลืองสกุล

สมใจ ศิริโชค

ขจีนาฏ โพธิเวชกุล

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

1๒4036

10 ส.ค. 2542

## คำนำ

เป็นที่ทราบกันดีว่าปัญหาขยะมูลฝอยและน้ำเสียนับวันจะมีมากขึ้นจนเป็นปัญหา ระดับชาติ ปัญหาจะเกิดรุนแรงขึ้นในเมืองใหญ่ที่มีชุมชนหนาแน่น เช่น ในกรุงเทพมหานคร เชียงใหม่ ที่เกิดปัญหาในเรื่องการขนย้ายและการฝังกลบจนเป็นข่าวอยู่เสมอ หากไม่มีการแก้ ปัญหาอาจทำให้มีขยะท่วมเมืองและอาจเกิดปัญหาต่อเนื่องไปถึงเรื่องสุขภาพของประชากรใน ชุมชนได้ ปัญหาน้ำเสียก็เช่นเดียวกัน ปัจจุบันไม่สามารถนำน้ำจากแหล่งน้ำสาธารณะมาใช้ ได้โดยตรงเหมือนแต่ก่อน เนื่องจากการปล่อยน้ำเสียจากครัวเรือน จากหน่วยงานทั้งภาครัฐ และเอกชนลงสู่แหล่งน้ำโดยตรงโดยมิได้ผ่านการบำบัดก่อน รวมทั้งการทิ้งขยะลงสู่แหล่งน้ำ สาธารณะด้วย ก่อให้เกิดการเน่าเสียของน้ำ จึงทำให้ประชาชนต้องเสียค่าใช้จ่ายในการจัดหา น้ำสะอาดมาใช้ในการอุปโภคบริโภคมากขึ้น

ดังนั้น เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว จึงได้มีการรณรงค์สร้างจิตสำนึกให้ประชาชนช่วยกัน ลดจำนวนขยะโดยการลดจำนวนการใช้ภาชนะบรรจุที่ใช้แล้วทิ้งเลย และใช้สิ่งของให้คุ้มค่า ก่อนทิ้ง หรือโดยการแยกขยะที่ยังสามารถนำกลับไปผลิตใช้ใหม่ได้นำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ ใหม่ ก็จะทำให้สามารถลดจำนวนขยะได้บางส่วน แต่ยังมีขยะอีก 2 ประเภท คือ ขยะที่เป็น พืช และขยะเปียกที่ประกอบด้วยเศษอาหาร เศษวัสดุทางการเกษตรจากครัวเรือน จากหน่วย งาน และจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร ขยะที่เป็นพืชในปัจจุบันใช้วิธีการฝังกลบซึ่งจะ ต้องทำให้ถูกวิธีและควบคุมการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้ ส่วนขยะเปียกสามารถนำไปทำ เป็นปุ๋ยหมักใช้ทดแทนการใช้สารเคมีและยังช่วยปรับปรุงโครงสร้างของดินได้ การทำปุ๋ย หมักหากใช้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารในขยะก็จะช่วยลดเวลาในการผลิต ปุ๋ยหมักได้และยังช่วยเพิ่มสารอาหารที่เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์อีกด้วย หากมีการทำ ปุ๋ยหมักโดยการใช้จุลินทรีย์ช่วยผลิตในบ้านเรือนที่มีพื้นที่ ในหน่วยงานต่างๆ แล้วนำกลับไป ใช้ในการบำรุงต้นไม้ในบ้านเรือนหรือหน่วยงานนั้น ก็จะสามารถลดจำนวนขยะที่จะต้องขน ไปฝังกลบและยังลดค่าใช้จ่ายได้อีกทางหนึ่งด้วย

ปัญหาน้ำเสียก็เช่นเดียวกัน หากทุกบ้านเรือนหรือหน่วยงานที่มีบริเวณสนใจในการ ใช้จุลินทรีย์ในการบำบัดน้ำเสีย แล้วนำน้ำที่ผ่านการบำบัดแล้วไปใช้ในการบำรุงรดน้ำต้นไม้ หรือใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ ก็จะสามารถลดจำนวนน้ำที่ทิ้งลงแหล่งน้ำสาธารณะและยังช่วยลด ค่าใช้จ่ายที่ต้องใช้ในการกิจกรรมบำรุงรักษาดินไม้ด้วย สิ่งทีกล่าวไว้นี้มีโรงงานอุตสาหกรรม บางแห่งได้นำไปใช้แล้วเกิดผลดีมาก

ในการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งมั่นที่จะหาจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสาร ประกอบในขยะเปียกและในน้ำเสียเพื่อช่วยลดระยะเวลาในการบำบัดให้ทันกับการเกิดขยะ และน้ำเสียในบ้านเรือนและหน่วยงานและทำให้ปุ๋ยหมักมีคุณภาพที่ดีขึ้น อันจะเป็นการลด

ปัญหาขยะและน้ำเสีย และลดค่าใช้จ่ายอันเกิดจากการใช้น้ำและปุ๋ยเคมีในการบำรุงรักษาต้นไม้ต่อไป

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินทุนอุดหนุนการวิจัยในงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประจำปี2541 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณฝ่ายวิจัยและวิเทศสัมพันธ์ ที่ช่วยดำเนินการจนได้ทุนอุดหนุนมาสนับสนุนในการวิจัยครั้งนี้ไว้ ณ ที่นี้ด้วย

คณะผู้วิจัย

มิถุนายน 2542



## บทคัดย่อ

จากการแยกเชื้อจากตัวอย่างน้ำเสียและดินจากแหล่งต่างๆ สามารถแยกได้เชื้อจำนวน 259 isolates และเมื่อนำไปศึกษาความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบ โพรทีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เซมิเซลลูโลส และเซลลูโลส โดยใช้ skim milk , starch, tributyrin, xylan และ carboxy methyl cellulose เป็นตัวแทนตามลำดับที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสและได้นำจุลินทรีย์ดังกล่าวมาทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารประกอบ skim milk , starch, tributyrin, xylan และ carboxy methyl cellulose อีกครั้งหนึ่ง พบว่า ได้จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลาย skim milk, starch, tributyrin, xylan และ carboxy methyl cellulose ได้ดี จำนวน 12 , 6, 19 ,13, และ 12 isolates ตามลำดับ และจากจุลินทรีย์จำนวนดังกล่าวเมื่อนำมาคัดเลือกเฉพาะเชื้อที่สามารถเจริญได้ดีและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารประกอบหลากหลายชนิดได้สูงเท่ากันอีกครั้งหนึ่ง ปรากฏว่าสามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ได้ จำนวน 20 isolates ซึ่งจะได้นำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

เมื่อคัดเชื้อ Mb22, Hba11, Hba8 และ Hbb3.1 ซึ่งสามารถย่อยสลายสารประกอบ skim milk , tributyrin , starch , xylan และ carboxy methyl cellulose ได้ดี มาใช้ในการทดลองการบำบัดขยะซึ่งประกอบด้วยเศษอาหารที่มีข้าวและกับข้าวที่เหลือจากการบริโภครวมกับขยะแห้งที่เป็นเศษหญ้าและใบไม้ในอัตราส่วน 2 : 1 พบว่า การเติมเชื้อให้เพิ่มเติมจากที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ทำให้การย่อยสลายสารประกอบเกิดได้ดีขึ้น เร็วขึ้น และน้ำหนักของขยะที่เติมเชื้อลดลงมากกว่าขยะที่ไม่เติมเชื้อถึง 2 เท่า

และเมื่อคัดเลือกเชื้อ Sk10 ซึ่งย่อยสลาย skim milk กับ starch ได้ดี และ T2 ซึ่งย่อยสลาย tributyrin ได้ดีมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสแบบไม่เติมอากาศ พบว่า การเติมเชื้อ Sk10 ชนิดเดียวมีประสิทธิภาพในการลดค่า BOD ในน้ำเสียหลังการบ่มนาน 5 วัน ได้ดีกว่าชุดควบคุมถึง 70.86 % และดีกว่าการเติมเชื้อ Sk10 ผสมกับ T2 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการลดค่า BOD ในน้ำเสียได้ดีกว่าชุดควบคุมเพียง 50.83 % ในขณะที่การบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศให้พบว่าการเติมเชื้อ Sk10 เพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพในการลดค่า BOD ในน้ำเสียได้ดีกว่าการไม่เติมเชื้อ 30.48 % และดีกว่าการใช้เชื้อผสม Sk10 กับ T2 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการลดค่า BOD ในน้ำเสียได้ดีกว่าการไม่เติมเชื้อ เพียง 21.15 %

การทดลองใช้จุลินทรีย์ในการบำบัดขยะและน้ำเสียครั้งนี้เป็นเพียงการทดลองเบื้องต้นเท่านั้น ยังคงต้องศึกษาถึงการบำบัดโดยใช้เชื้อหลายชนิดร่วมกันว่ามีศักยภาพเพียงใด ตลอดจนการใช้บำบัดขยะและน้ำเสียที่มีสัดส่วนของสารประกอบที่ต่างกันต่อไป

## Abstract

The 259 isolates of microorganisms from sewage and various soil samples were tested for protein, carbohydrate, lipid, hemicellulose and cellulose degradation activities on skim milk, starch, tributyrin, xylan and carboxy methyl cellulose respectively. The results showed that there were 12, 6, 19, 13 and 12 isolates of the microorganisms which possessed high efficiency on skim milk, starch, tributyrin, xylan and carboxy methyl cellulose degradation respectively. Among these isolates there were 20 isolates that possessed the ability to degrade various kinds of the macromolecules.

The selected bacteria Mb22, Hba11, Hba8, and Hbb3.1 which possessed high ability on skim milk, tributyrin, starch, xylan and carboxy methyl cellulose degradation were used in compost treatment. The composition of the compost was the mixture of rice, meat or vegetable residues and plant leaves at the ratio of 2:1. It was shown that the addition of these selected microorganisms increased the rate of substrate decomposition, and the weight lost was about 2 times of the control.

When the best skim milk and starch decomposer, Sk10, and the best lipid decomposer, T2, were used in sewage treatment, it was found that after 5 days of sewage treatment without aeration at 37°C, the addition of Sk10 alone reduced the BOD of the sewage more than the addition of both Sk10 and T2. The addition of Sk10 alone and the addition of both Sk10 and T2 could reduce the BOD 70.83% and 50.38% more than the control. While the addition of Sk10 alone and the addition of both Sk10 and T2 in the sewage treatment with aeration could reduce the BOD 30.48% and 21.15% more than the control.

The studies on morphology of these 6 bacteria that were used in sewage and compost treatment showed that these bacteria are *Bacillus*

The using of microorganisms in sewage and compost treatment in this research were only preliminary test. The efficiency of mixed cultures and the various proportion of substrates in sewage and compost should be further studies.

## สารบัญ

	หน้า
บทนำ	7
วัตถุประสงค์	8
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	8
การตรวจเอกสาร	9
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	12
ผลการทดลอง	15
วิจารณ์ผลการทดลอง	26
สรุปและขอเสนอแนะ	27
เอกสารอ้างอิง	28
ภาคผนวก	31



## บทนำ

ทุกวันนี้ปัญหาขยะและน้ำเสียเป็นปัญหาระดับชาติของประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเมืองใหญ่ที่มีประชากรมากและมีโรงงานอุตสาหกรรมตั้งอยู่ด้วย เช่น กรุงเทพมหานคร เชียงใหม่ เป็นต้น ขณะนั้นมีสารประกอบหลากหลายรวมกันอยู่ และแต่ละประเภทนั้นมีอายุการสลายตัวที่แตกต่างกัน บางชนิดสลายตัวได้ช้ามาก การแยกขยะจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อให้การบำบัดทำได้ดี ขยะที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ก็คือ ขยะที่นำมาย่อยสลายแล้วนำมาทำเป็นปุ๋ยหมัก แต่ที่เป็นปัญหาในทุกวันนี้ เนื่องจากปริมาณขยะมีมากและประชากรมักทิ้งกองหรือทิ้งลงในแม่น้ำลำคลองมีจำนวนมากจนธรรมชาติฟอกตัวเองไม่ทัน ส่วนน้ำเสียนั้นมักมีปัญหาเช่นกัน เมื่อมีชุมชนใหญ่ก็จะมีการปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะโดยไม่มีการบำบัดก่อน จึงทำให้น้ำในแหล่งน้ำสาธารณะฟอกตัวเองไม่ทันเช่นกัน ประกอบกับโรงงานอุตสาหกรรมบางแห่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โรงงานที่เป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือนซึ่งไม่มีพื้นที่หรือระบบการจัดการน้ำเสียที่ดีพอก็ระบายน้ำเสียสู่ท่อระบายน้ำลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ ก่อให้เกิดน้ำเสียเช่นกัน นอกจากการออกกฎหมายควบคุมการทิ้งขยะและการระบายน้ำทิ้งของโรงงานอุตสาหกรรมแล้ว การณรงค์ให้ประชาชนทั่วไปร่วมมือกันแยกขยะ และหาวิธีการนำมาใช้ใหม่แล้วเพื่อลดจำนวนก็เป็นสิ่งจำเป็น นอกจากนี้การศึกษาการกำจัดขยะและบำบัดน้ำเสียโดยการใช้จุลินทรีย์เพื่อลดระยะเวลาการสลายตัวของขยะและน้ำเสียทุกชนิดก็เป็นสิ่งที่น่าสนใจ ในต่างประเทศได้มีผู้สนใจศึกษาการนำจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้วมาเติมในขยะและน้ำเสียนอกเหนือไปจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติแล้ว เพื่อลดปริมาณของสารพิษและเพื่อให้การสลายตัวของสารอินทรีย์เป็นไปด้วยความรวดเร็วยิ่งขึ้น ในระยะนี้มีการนำเข้าจุลินทรีย์จากต่างประเทศมาใช้ในการกำจัดขยะและน้ำเสียหลายชนิด แต่ก็อยู่ในขั้นทดลองและโฆษณาการนำจุลินทรีย์จากต่างประเทศมาใช้ในประเทศอาจไม่ได้ผลเท่าที่ควรและมีราคาแพง เนื่องจากจุลินทรีย์มีเมแทบอลิซึมที่หลากหลาย และต้องการสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน และจากการที่พบว่า ที่ใดมีสารประกอบอยู่ ที่นั่นย่อมต้องมีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารประกอบนั้นอยู่ด้วยเสมอ การคัดเลือกจุลินทรีย์จากท้องถิ่นที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดขยะ และบำบัดน้ำเสียแต่ละชนิดในท้องถิ่นจึงน่าจะให้ผลที่ดีกว่า และถ้าขยะและน้ำเสียนั้นมีความซับซ้อนของสารมาก ก็อาจนำจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้วมาศึกษาการอยู่ร่วมกันเพื่อทำการกำจัดขยะหรือบำบัดน้ำเสียเกิดประสิทธิผลมากที่สุด และจัดทำให้จุลินทรีย์อยู่ในรูปแบบที่ให้แต่ละครัวเรือนหรือหน่วยงานสามารถนำไปใช้งานได้สะดวกที่สุด

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยเซลลูโลส แป้ง โปรตีน ไขมัน จาก กองปุ๋ยหมัก น้ำเสีย และน้ำทิ้งจากแหล่งต่างๆ
2. เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีในการย่อยสลายสารในขยะและน้ำเสีย
3. เพื่อศึกษากิจกรรมของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในการกำจัดขยะและบำบัดน้ำเสีย
4. เพื่อศึกษาลักษณะของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

จากการวิจัยคาดว่าจะสามารถคัดเลือก ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพดีในการย่อยสลายสารอินทรีย์ชนิดต่างๆในขยะและน้ำเสีย ซึ่งจะเป็แนวทางในการพัฒนาจุลินทรีย์ไปใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดขยะและบำบัดน้ำเสียต่อไป



## การตรวจเอกสาร

จากปัญหาการเกิดวิกฤตการณ์ขาดแคลนน้ำมัน ทำให้มีการศึกษาวิจัยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยสลายเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งมีเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบอยู่มากมาผลิตเป็นเชื้อเพลิงทดแทนน้ำมันและพบว่าจุลินทรีย์หลายชนิดที่ผลิตเอนไซม์ชนิดต่างๆ เช่น เซลลูเลส ไชแลนเนส และอื่นๆออกมาย่อยเศษวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรได้ กลูโคส และถ้าให้มีการย่อยต่อก็จะได้คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และชีวแก๊ส (3,4,10,12,20.) และจากการพัฒนาอุตสาหกรรมในด้านต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางด้านอาหารทำให้มีการศึกษาจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยแป้ง โปรตีน และไขมันชนิดต่างๆ เพื่อนำมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์มากมายหลายชนิด ตลอดจนมีการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรทีเอส อะไมเลส และไลเปสมากขึ้นและสามารถผลิตเอนไซม์บริสุทธิ์ในเชิงพาณิชย์ได้ (2) ในปัจจุบันพลเมืองของโลกเพิ่มมากขึ้นและการใช้วัสดุต่างๆเพื่อความเป็นอยู่ที่ดีสะดวกสบายมากขึ้น เป็นผลทำให้มีเศษวัสดุเหลือทิ้งเช่นเศษกระดาษ เศษผัก ผลไม้ และอื่นๆ มากขึ้นจนธรรมชาติไม่สามารถฟอกตัวเองได้ทัน ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดมลภาวะจากการที่มีขยะจำนวนมาก การจัดการที่ไม่ถูกต้องและการที่มีขยะมากจนเกินไปทำให้เกิดปัญหาเช่นทุกวันนี้ การที่มีชุมชนใหญ่ก็มีน้ำเสียจากบ้านเรือนไหลลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะมากขึ้น และการที่มีโรงงานอุตสาหกรรมมากขึ้นตามเมืองใหญ่ก็เช่นกันทำให้มีการระบายน้ำเสียลงสู่แม่น้ำ ลำคลอง โดยไม่ผ่านการบำบัดมากขึ้น ทำให้น้ำในแหล่งธรรมชาติเกิดการเน่าเสียจนไม่สามารถนำมาใช้บริโภคได้ เมื่อเกิดปัญหามากขึ้นจึงเริ่มมีการตื่นตัวในการแก้ไขปัญหาภาวะที่เกิดขึ้นโดยวิธีการต่างๆ เช่น การลดปริมาณขยะ การศึกษาวิธีกำจัดขยะ การบำบัดน้ำเสียก่อนปล่อยลงสู่แม่น้ำลำคลอง เป็นต้นในปัจจุบันมีความพยายามที่จะใช้จุลินทรีย์เร่งการสลายตัวของสารประกอบต่างๆที่มีในขยะและน้ำเสียให้เร็วยิ่งขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในต่างประเทศมีการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบในขยะและน้ำเสียได้ดี มาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในด้านการเกษตรและสิ่งแวดล้อม (5,7,11,31)

สารประกอบที่มักพบในขยะที่ย่อยสลายได้ ได้แก่

1. เซลลูโลส (cellulose) เป็นส่วนประกอบสำคัญของเซลลิวีซ เป็น polymer ของ glucose หลายพันหน่วย เกาะกันด้วย  $\alpha$ -1-4 linkage
2. เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น ไชแลน (xylan) เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชหลายชนิด ประกอบด้วย โครงสร้างพื้นฐาน (backbone) เป็น 1,4- $\beta$ -linked anhydro-D-xylose unit โดยมี degree ของ polymerization range ตั้งแต่ 50-200 units

3. โปรตีน เป็นส่วนที่พบได้มากจากขยะในครัวเรือน เป็นส่วนที่เหลือจากการประกอบอาหารและการบริโภค อาจเป็นโปรตีนจากพืช เช่น ถั่วชนิดต่างๆ หรือโปรตีนจากสัตว์ เช่น เศษเนื้อปลา สุก ร โค เป็น polypeptide

4. แป้ง เป็นส่วนที่พบได้มากจากขยะในครัวเรือน และในพืชชนิดต่างๆ เป็น polymer ของ glucose หลายพันหน่วย เกาะกันด้วย  $\beta$ -1-4 linkage

5. ไขมัน เป็นส่วนที่พบได้มากจากขยะในครัวเรือน จากเมล็ดพืช เป็นต้น ประกอบด้วย fatty acid และ glycerol

จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถย่อยสารประกอบเหล่านี้ได้ โดยการสร้างเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ หรือสร้างแล้วยังอยู่ในเซลล์ก็ได้ ซึ่งมักตรวจพบจุลินทรีย์เหล่านี้ได้จากดิน และจากแหล่งต่างๆ ที่มีสารประกอบดังกล่าวสะสมอยู่

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารประกอบในขยะและน้ำเสียต่างๆ ได้แก่

เอนไซม์ เซลลูเลส เป็น extracellular, hydrolytic enzymes, cellulases ซึ่งพบได้ในราหลายชนิด เช่น *Aspergillus* spp., *Chaetomium* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. ในแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Cellulomonas* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. และในแอคติโนมัยซีท เช่น *Streptomyces* spp. *Thermomonospora* spp. (8) เอนไซม์ดังกล่าวประกอบด้วย endo-1,4- $\beta$ -glucanases, exo-1,4- $\beta$ -glucanases และ 1,4- $\beta$ -glucosidase ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้จะร่วมกันย่อยเซลลูโลสได้กลูโคส (9,12)

มีรายงานว่า *Bacillus* หลายชนิด เช่น *Bacillus brevis*, *B. firmus*, *B. polymyxa*, *B. pulmilus*, *B. subtilis* (28), *B. licheniformis* และ *B. cereus* (32) เป็นแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้

เอนไซม์ xylanase เป็นทั้ง constitutive enzyme และ inductive enzyme ประกอบด้วย  $\beta$ -xylanase (endo 1,4- $\beta$ -D-xylan xylanohydrolase; EC 3.2.1.8) และ  $\beta$ -xylosidase (exo- 1,4- $\beta$ -D-xylan xylanohydrolase; EC 3.2.1.37) เนื่องจาก xylan ที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชโดยทั่วไปนั้น เป็น xylopyranose unit ต่อเชื่อมกันด้วย 1,4 - $\beta$ -linkage ดังนั้น เอนไซม์ xylanase ที่ได้มีผู้ทำการศึกษาในที่นี้จึงหมายถึงเฉพาะ 1,4 -  $\beta$ -D-xylanase เท่านั้น จากการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ผลิตเอนไซม์ xylanase ออกมานอกเซลล์ แต่ก็ยังมีบางชนิดที่เอนไซม์ที่ผลิตเป็นแบบ intracellular enzyme การผลิตเอนไซม์ xylanase ของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ จะเริ่มผลิตในระยะ stationary growth phase จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ xylanase มีทั้งราและแบคทีเรีย สำหรับแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus*, *Ruminococcus*, *Streptomyces*, *Bacteroides* และ *Cellulomonas* (29) จากรายงานการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย xylan ในธรรมชาติ โดยทั่วไปนิยมศึกษา

เปรียบเทียบปริมาณ reducing end -group ที่เพิ่มขึ้นโดยวิธีของ Nelson-Somogyi ( 18,14, ) ; Shaffer- Somogyi ( 13 ) การสร้างบริเวณไฮสโตรบโคโลนี ( 19,24.)

เอ็นไซม์ อะไมเลส เป็น extracellular enzyme ซึ่งประกอบด้วย exoamylase และ endoamylase (16) สามารถย่อยแป้งได้กลูโคส พบในแบคทีเรีย เช่น *Bacillus* spp. , *Pseudomonas* spp. ในแอคติโนมัยซีท เช่น *Streptomyces* spp. , *Actinomyces* spp. , *Thermomonospora* spp. (33) และในราเช่น *Mucor* spp. , *Rhizopus* spp. , *Aspergillus* spp. , อะไมเลสในแบคทีเรียมักเป็น  $\alpha$ -amylase ซึ่งเป็น endoamylase ย่อยแป้งได้มอลโทส และกลูโคส เป็นเอ็นไซม์ที่ทนความร้อนได้ดี (22) อะไมเลสอีกประเภทหนึ่งคือ exoamylase ได้แก่  $\beta$ -amylase ซึ่งจะย่อยแป้งได้มอลโทส และเด็คสทริน และ glucoamylase ซึ่งย่อยแป้งได้อย่างสมบูรณ์คือให้ผลเป็นกลูโคสเพียงอย่างเดียว

เอ็นไซม์โปรทีเอส เป็น hydrolytic enzymes จะย่อยโปรตีนได้กรดอะมิโน เนื่องจากโปรทีเอสทำงานได้ในช่วง pH กว้าง และมีความจำเพาะต่อสับสเตรตหลายชนิด จึงมีการนำไปใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น ในการเปลี่ยนแปลงรสชาติในผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหาร ในการบำบัดน้ำเสีย (15) ราที่ผลิตเอ็นไซม์โปรทีเอส ได้แก่ *Aspergillus niger* และ *A. oryzae* ส่วนแบคทีเรียที่ผลิตเอ็นไซม์นี้คือ *Bacillus* spp. และแอคติโนมัยซีท คือ *Thermomonospora viridis* (33)

เอ็นไซม์ไลเปส เอ็นไซม์นี้จากจุลินทรีย์จะมีข้อดีกว่าในพืชและในสัตว์เพราะสามารถเพิ่มผลผลิตได้รวดเร็วโดยวิธีปรับปรุงพันธุกรรม และสามารถปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการผลิตเอ็นไซม์ได้ดีกว่าในพืชและสัตว์ จุลินทรีย์หลายชนิดผลิตไลเปสได้ และอาจให้ไลเปสที่แตกต่างกัน เช่น *Alcaligenes* sp. จะผลิต alkaline lipase (17) *Chromobacterium* sp. ผลิต neutral lipase (34) และบางพวก เช่น *Hummicola lanuginosa* ก็ผลิต thermostable lipase (25) ไลเปสสามารถทำปฏิกิริยาได้ 3 ชนิด คือ hydrolysis , synthesis of ester และ tranesterification ไลเปสย่อยไขมันไตรกลีเซอไรด์ได้กรดไขมันและกลีเซอรอล โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานแตกต่างกันตามชนิดของไลเปส และอุณหภูมิยังมีผลต่อความคงตัวของเอ็นไซม์ด้วย (26)

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

### 1. การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างต่างๆ

แยกแบคทีเรีย รา และแอกติโนมัยซีตจากตัวอย่างน้ำเสียและดินจากแหล่งต่างๆ โดยการเจือจางตัวอย่างในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  แล้วใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ carboxy methyl cellulose agar (CMC agar), xylan agar, starch agar, skim milk agar และ tributyrin agar เป็นตัวคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส แป้ง โปรตีน และไขมันได้ตามลำดับ ดังนี้

การแยกเชื้อที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ โดยการใช้ carboxy methyl cellulose เป็นตัวแทน

เพาะเลี้ยงเชื้อในตัวอย่างที่เจือจางแล้วด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี carboxy methyl cellulose เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวในงานเพาะเชื้อ CMC agar ( carboxy methyl cellulose 0.4%, agar 1.5%)(20) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน เก็บเชื้อที่เจริญได้ดีและมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันไว้ในอาหารเดิมที่ทำ slant ไว้ แล้วตรวจสอบการย่อยสลายเซลลูโลสโดยการย้อมสีโคโลนีด้วย 1% congo red แล้วล้างด้วยสารละลาย NaCl 1 M. แล้วนำไปอบในโหลที่มีไอของกลอโรฟอร์มอยู่ นาน 15 นาที สังเกตการเกิดบริเวณสีเหลืองรอบโคโลนี ซึ่งแสดงว่ามีการย่อยสลายเซลลูโลส ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1 (ภาคผนวก )

การแยกเชื้อที่สามารถย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสได้ โดยการใช้ไซแลนเป็นตัวแทน

เพาะเลี้ยงเชื้อจากตัวอย่างดินที่เจือจางแล้วด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ xylan agar ( xylan 1 % ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0.2% ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.02%, yeast extract 0.02%, agar 1.5%) นาน 3 วัน เก็บเชื้อที่เจริญได้ดีและมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน เก็บไว้ในอาหารเดิมที่ทำ slant ไว้ แล้วตรวจสอบผลการย่อยสลาย xylan โดยการหยดสารละลายไอโอดีนลงบนโคโลนี ถ้าเกิดบริเวณใสแสดงว่ามีการย่อยสลาย xylan ได้ (6) ดังรูปที่ 2 (ภาคผนวก )

การแยกเชื้อที่สามารถย่อยสลายแป้งได้ โดยการใช้ starch เป็นตัวแทน

เพาะเลี้ยงเชื้อในตัวอย่างน้ำเสียที่เจือจางแล้วด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ starch agar ( peptone 0.2 % , yeast extract 0.1 % , soluble starch 1 % , agar 1.5%) ในงานเพาะเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน เก็บเชื้อที่เจริญได้ดีและมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน เก็บไว้ในอาหารเดิมที่ทำ slant ไว้ แล้วตรวจสอบผลการย่อยสลาย starch โดยการหยดสารละลายไอโอดีน( iodine 0.317 g, potassium iodide 0.1 g. , HCl 10 % 50 ml. เดิม น้ำกลั่นจนครบ 1,000 ml.) ลงบนโคโลนี ถ้าเกิดบริเวณใสแสดงว่ามีการย่อยสลาย starch ได้ ดังรูปที่ 3 (ภาคผนวก )

การแยกเชื้อที่สามารถย่อยสลายโปรตีนได้ โดยการใช้ skim milk เป็นตัวแทน  
เพาะเลี้ยงเชื้อในตัวอย่างที่เจือจางแล้วด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ skim milk agar  
(skim milk 10 ml., plate count agar 100 ml )ในงานเพาะเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศา  
เซลเซียส นาน 2 วัน เก็บเชื้อที่เจริญได้ดีและรอบๆโคโลนีมีบริเวณใส ดังรูปที่ 4 (ภาคผนวก )  
และมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน เก็บไว้ในอาหารเค็มที่ทำ slant ไว้

การแยกเชื้อที่สามารถย่อยสลายไขมันได้ โดยการใช้ tributyrin เป็นตัวแทน  
(26)

เพาะเลี้ยงเชื้อในตัวอย่างที่เจือจางแล้ว ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ tributyrin agar  
( tributyrin agar base 100 ml., glycerol tributyrin 1 ml.) ในงานเพาะเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ  
37 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน เก็บเชื้อที่เจริญได้ดีและรอบๆโคโลนีมีบริเวณใส ดังรูปที่ 5  
(ภาคผนวก ) และมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน เก็บไว้ในอาหารเค็มที่ทำ slant ไว้

## 2. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายสารประกอบ

การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายสารประกอบดังกล่าว  
จากจุลินทรีย์ที่แยกได้ในข้อ 1 โดยการวัดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีและ  
บริเวณที่มีการย่อยสลายสารประกอบรอบโคโลนีของจุลินทรีย์แต่ละชนิด

## 3 การศึกษากิจกรรมของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในข้อ 2. ในการบำบัดน้ำเสียและขยะ

นำจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้มาศึกษาการย่อยสลายสารอินทรีย์ในขยะและน้ำเสียใน  
ระดับห้องปฏิบัติการ ดังนี้

### การทดสอบกิจกรรมจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในการบำบัดขยะ

นำขยะเปียกจากโรงอาหารของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒซึ่งประกอบด้วย  
เศษอาหารที่มีข้าวและกับข้าวที่เหลือจากการบริโภค มาผสมกับขยะแห้งที่ประกอบด้วย  
เศษหญ้าและใบไม้ในอัตราส่วน 2 : 1 โดยน้ำหนัก

นำเชื้อที่คัดเลือกไว้แล้วว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย carboxy methyl  
cellulose, xylan, starch, skim milk และ tributyrin มาเลี้ยงในอาหารเค็มเพื่อเพิ่มปริมาณ แล้ว  
ทำให้เป็น suspension ด้วยฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ดูดออกมาแล้วนำไปปั่นให้เซลล์ตกตะกอน  
นำไปชั่งน้ำหนักให้ได้ชนิดละ 0.5 มิลลิกรัมแล้วทำให้เป็น suspension ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์  
10 มิลลิลิตร

นำ suspension ของเชื้อแต่ละชนิดไปเติมในส่วนผสมของขยะที่เตรียมไว้ใน โหลแก้วที่ปิดด้วยผ้าขาวบาง ซึ่งหนักเท่ากับ 300 กรัม เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เติม ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ 10 มิลลิลิตร เท่านั้น ทำ 2 ซ้ำ ตรวจหาแอมโมเนีย วัดความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิทุกวันจนครบ 12 วัน หาความเข้มข้นของ reducing sugar ( ตามวิธีของ Nelson ) ในขณะวันแรกและวันที่ 13 ของการบ่ม

#### การทดสอบกิจกรรมจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในการบำบัดน้ำเสีย

นำเชื้อที่คัดเลือกไว้แล้วว่ามีประสิทธิภาพดีในการย่อยสลายแป้ง โปรตีน และไขมันมาอย่างละ 1 loopful เลี้ยงแยกกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth ( peptone 0.5% beef extract 0.3%) 10 มิลลิลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณ บ่มนาน 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสโดยเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที แล้วนำมาวัด ค่า optical density (O.D) ที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร

#### การทดสอบ แบ่งเป็น 2 แบบ คือ

แบบไม่เขย่า ทำดังนี้ คือ เติมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยใช้น้ำเสียที่เก็บจาก ท่อระบายน้ำที่โรงอาหารของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 400 มิลลิลิตร ผสมกับเชื้อ ทดสอบ ชนิดละ 3% (v/v) บ่มนาน 5 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำมาหาค่า Biochemical Oxygen Demand (BOD) โดยวิธี Azide modification of iodometric method เปรียบเทียบกับ ค่า BOD ของน้ำเสียก่อนการเติมเชื้อและการบ่มและกับชุดควบคุม ทำ 2 ซ้ำ ชุดควบคุม ทำเช่นเดียวกันแต่ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ แต่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเดิม ลงไปแทน

แบบเขย่า ทำเช่นเดียวกันกับแบบไม่เขย่า แต่นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง

#### 4 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกจุลินทรีย์แต่ละชนิด ที่ คัดเลือกได้

ย้อมสีแกรมและทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีสำหรับแบคทีเรีย ส่วนเชื้อรา และแอกติโนมัยสีททำ slide culture เพื่อศึกษาโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์

## ผลการทดลอง

### 1. การแยกเชื้อจากตัวอย่างต่างๆ

จากการแยกเชื้อจากตัวอย่างน้ำเสีย 2 ตัวอย่าง ดินไต่กองฟาง 2 ตัวอย่าง ดินไต่กองหญ้า 2 ตัวอย่าง ดินปุ๋ยหมัก 2 ตัวอย่าง ดินโคลน 1 ตัวอย่าง และจากการปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา มศว. สามารถแยกเชื้อออกมาได้รวมทั้งหมด 259 isolates ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงแหล่งตัวอย่างและจำนวน isolates ที่แยกได้

รหัสตัวอย่าง	ชนิดของตัวอย่าง	แหล่งของตัวอย่าง	จำนวน isolates ที่แยกได้
Sa	น้ำเสีย	โรงอาหาร มศว	16
Sb	น้ำเสีย	โรงอาหาร มศว	10
Ga	ดินไต่กองหญ้า	จ. นนทบุรี	27
Gb	ดินไต่กองหญ้า	จ. นนทบุรี	17
Haa	ดินไต่กองฟาง	อ.บ้านหมี่ จ. ลพบุรี	19
Hab	ดินไต่กองฟาง	อ.บ้านหมี่ จ. ลพบุรี	12
Hac	ดินไต่กองฟาง	อ.บ้านหมี่ จ. ลพบุรี	16
Had	ดินไต่กองฟาง	อ.บ้านหมี่ จ. ลพบุรี	13
Hba	ดินไต่กองฟาง	อ.ท่าวุ้ง จ. ลพบุรี	14
Hbb	ดินไต่กองฟาง	อ.บ้านหมี่ จ. ลพบุรี	11
Hbc	ดินไต่กองฟาง	อ.บ้านหมี่ จ. ลพบุรี	15
Hbd	ดินไต่กองฟาง	อ.บ้านหมี่ จ. ลพบุรี	13
Ma	ดินปุ๋ยหมัก	จ. กาญจนบุรี	11
Mb	ดินปุ๋ยหมัก	จ. กาญจนบุรี	24
Ac	ดินโคลน	จ. สมุทรสาคร	22
Sk และ T	เชื้อปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา	ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา มศว	19
รวม			259

### 2. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายสารประกอบต่างๆ 5 ชนิด

จากการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากตัวอย่างแต่ละชนิดไปทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบต่างๆ 5 ชนิด สามารถคัดเลือกได้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารประกอบต่างๆ ได้ ดังนี้ คือ

จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลาย skim milk ได้ดี ซึ่งให้ความกว้างของโซนไฮตั้งแต่ 25 มิลลิเมตรขึ้นไป จำนวน 12 isolates ได้แก่ Gb16, Hbc13, Hbd5, Mb22, Sk1, Sk2, Sk6, Sk7, Sk9, Sk10, Sk12 และ Sk13 โดยมี Sk10 ให้ความกว้างสูงสุดเท่ากับ 44 มิลลิเมตร ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดง isolates ที่สามารถย่อยสลาย skim milk ได้ดีโดยแสดงความกว้างของโซนไฮรอบโคโลนีตั้งแต่ 25 มิลลิเมตรขึ้นไป และความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบอื่นอีก 4 ชนิด

ชนิดของสารประกอบ รหัสชื่อ	skim milk	starch	tributyrim	carboxy methyl cellulose	xylan
Gb16	**45/13=32	33.5/28.5=5	29/19=10	-	-
Hbc 13	39/13=26	-	21/4=17	90/70=20	30/30 #
Hbd 5	32/7=25	18/10=8	10/7=3	-	25/25 #
Mb 22	82/55=27	35/25=10	68/53 =15	-	45/8=37
Sk 1	50/20=30	25/18=7	-	-	35/10=25
sk 2	70/34=36	30/20=10	-	25/15=10	50/40=10
Sk 6	100/64=36	-	-	-	86/80=6
Sk 7	70/34=36	-	-	65/60=5	30/20=10
SK 9	42/10=32	-	-	-	-
Sk 10	60/16=44	25/7=18	-	-	40/10=30
Sk 12	100/64=36	-	15/10=5	-	-
Sk 13	52/15=37	28/20=8	-	40/25=15	35/19=16

\*\*เส้นผ่านศูนย์กลางของ โซนไฮ/ เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี= ความกว้างของโซนไฮ (มิลลิเมตร)

- = ไม่มีการเจริญหรือไม่เกิดโซนไฮ

# = โซนที่ย่อยสลายได้มีขนาดเท่าโคโลนี

จุลินทรีย์ที่เจริญและสามารถย่อยสลาย starch ได้ดี ซึ่งให้ความกว้างของโซนที่มีการย่อยสลาย starch ได้ตั้งแต่ 20 มิลลิเมตรขึ้นไป จำนวน 6 isolates ได้แก่ Ga15 , Ga20 , Ga24, Hba8 , Hbd9 และ Ma5 ซึ่ง Ga20 ให้ความกว้างสูงสุดเท่ากับ 34 มิลลิเมตร ดังตารางที่ 4

จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลาย tributyrin ได้ดี ซึ่งให้ความกว้างของโซนไฮตั้งแต่ 15 มิลลิเมตรขึ้นไป จำนวน 19 isolates ได้แก่ Gb5, Gb9, Gb11, Hab4, Had 6, Had 11, Hba11, Hbb1, Hbb3.1, Hbb3.2, Hbb4, Hbb6, Hbb9, Hbc13, Ma5, Mb22, T2, T4 และ T5 ซึ่ง T5 ให้ความกว้างสูงสุดเท่ากับ 32 มิลลิเมตร ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 แสดง isolates ที่สามารถย่อยสลาย starch ได้ดีโดยแสดงความกว้างของโซนที่มีการย่อยสลายสารรอบโคโลนีตั้งแต่ 20 มิลลิเมตรขึ้นไป และความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบอื่นอีก 4 ชนิด

รหัสชื่อ ชนิดของสารประกอบ	skim milk	starch	tributylin	carboxy methyl cellulose	xylan
Ga15	**22/18=4	70/40=30	17/15=2	56/34=22	50/35=15
Ga20	35/20=15	50/16=34	-	45/15=30	35/18=17
Ga23	23.5/12.5=11	-	20/19=1	40/10=30	40/8=32
Ga24	-	60/40=20	-	40/28=12	30/30 #
Hba 8	48/25=23	38/18=25	31/26=5	11/1=10	32/20=12
Hbd 9	30/14=16	40/10=30	36/28=8	-	20/15=5
Ma 5	-	36/30=24	60/45=15	25/6=19	55/43=12

\*\* เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนที่มีการย่อยสลายสาร/ เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี= ความกว้างของโซนที่มีการย่อยสลายสาร (มิลลิเมตร)

- = ไม่มีการเจริญหรือไม่เกิดโซนใส

# = โซนที่ย่อยสลายได้มีขนาดเท่าโคโลนี

จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลาย xylan ได้ดี ซึ่งให้ความกว้างของโซนที่มีการย่อยสลาย xylan ตั้งแต่ 30 มิลลิเมตรขึ้นไป จำนวน 13 isolates ได้แก่ Sb1, Sb4, Ga23, Ga26, Hab12, Had11, Hbb1, Hbb2, Hbb3.1, Ma15, Mb22, Sk4 และ Sk10 ซึ่ง Sb4 ให้ความกว้างสูงสุดเท่ากับ 50 มิลลิเมตร ดังตารางที่ 6

จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลาย carboxy methyl cellulose ได้ดี ซึ่งให้ความกว้างของโซนที่ย่อยสลาย carboxy methyl cellulose ได้ตั้งแต่ 35 มิลลิเมตรขึ้นไปจำนวน 12 isolates ได้แก่ Sb8, Hab9, Hac2, Hac6, Hac8, Hac11, Had11, Hbb2, Hbb3.1, Hbb3.2, Ma2 และ Ga15 ซึ่ง Hbb3.1 ให้ความกว้างสูงสุดเท่ากับ 63 มิลลิเมตร ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 5 แสดง isolates ที่สามารถย่อยสลาย tributyrin ได้ดีโดยแสดงความกว้างของโซนไฮรอปโตโลนี ตั้งแต่ 15 มิลลิเมตรขึ้นไป และความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบอื่นอีก 4 ชนิด

ชนิดของสารประกอบ รหัสชื่อ	skim milk	starch	tributyrin	carboxy methyl cellulose	xylan
Gb5	**80/70=10	-	21/2=19	-	-
Gb9	35/20=15	-	23/2=21	-	-
Gb11	12/6=6	-	25/2=23	-	-
Hab 4	24/10=14	-	27/5=22	-	50/25=25
Had 6	50/35=15	33/30=3	39/14=25	40/6=34	50/25=25
Had 11	60/51=9	22/18=4	38/20=18	50/13=37	50/13=37
Hba 11	33/18=15	32/21=11	30/10=20	20/2=18	45/35=10
Hbb 1	25/10=15	-	22/2=20	-	40/12=38
Hbb 3.1	20/12=8	25/10=15	40/25=15	72/9=63	44/6=38
Hbb 3.2	30/19=11	34/28=6	40/25=15	60/8=52	46/18=28
Hbb 4	45/40=5	-	45/30=15	55/22=33	44/10=34
Hbb 6	-	-	21/5=16	-	13/7=6
Hbb 9	36/32=4	30/27=3	23/5=18	-	48/15=33
Hbc 13	39/13=26	-	21/4=17	90/70=20	30/30 #
Ma 5	-	36/30=24	60/45=15	25/6=19	55/43=12
Mb22	82/55=27	35/25=10	68/53 =15	-	45/8=37
T 4	-	-	18/2=16	-	-
T 5	80/60=20	-	45/13=32	-	-

\*\*เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนไฮรอปโตโลนี/ เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี= ความกว้างของโซนไฮรอปโตโลนี (มิลลิเมตร)

- = ไม่มีการเจริญหรือไม่เกิดโซนไฮรอปโตโลนี

# = โซนที่ย่อยสลายได้มีขนาดเท่าโคโลนี

ตารางที่ 6 แสดง isolates ที่สามารถย่อยสลาย xylan ได้ดีโดยแสดงความกว้างของโซนที่มีการย่อยสลาย  
รอบโคโลนีตั้งแต่ 30 มิลลิเมตรขึ้นไป และความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบอื่นอีก  
4 ชนิด

ชนิดของสารประกอบ รหัสชื่อ	skim milk	starch	tributylin	carboxy methyl cellulose	xylan
Sb1	**37/27=10	39/25=14	23.5/16.5=7	21/10.5=10.5	70/30=40
Sb4	34/18=16	30/17=13	28/19.5=8.5	30/24=6	65/15=50
Ga23	23.5/12.5=11	-	20/19=1	40/10=30	40/8=32
Ga26	25/20=5	40/25=15	20/15=5	44/36=8	70/35=35
Hab 12	42/32=10	74/70=4	21/19=2	33/8=25	55/38=17
Had 11	60/51=9	22/18=4	38/20=18	50/13=37	50/13=37
Hbb 1	25/10=15	-	22/2=20	-	40/12=38
Hbb 2	30/11=19	-	26/12=14	72/23=49	43/8=35
Hbb 3.1	20/12=8	25/10=15	40/25=15	72/9=63	44/6=38
Ma 15	-	48/44=4	-	16/3=13	44/4=40
Mb22	82/55=27	35/25=10	68/53=15	-	45/8=37
Sk 4	15/1=14	25/7=18	-	35/24=11	40/10=30
Sk 10	60/16=44	25/7=18	-	-	40/10=30

\*\* เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนที่มีการย่อยสลายสาร/ เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี= ความกว้างของโซนที่มีการย่อยสลายสาร  
(มิลลิเมตร)

- = ไม่มีการเจริญหรือไม่เกิด โชนใส

ตารางที่ 7 แสดง isolates ที่สามารถย่อยสลาย carboxy methyl cellulose ได้ดี โดยแสดงความกว้างของโซน ที่มีย่อยสลายรอบโคโลนีตั้งแต่ 35 มิลลิเมตรขึ้นไป และความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบอื่นอีก 4 ชนิด

ชนิดของสารประกอบ รหัสชื่อ	skim milk	starch	tributyrim	carboxy methyl cellulose	xylan
Sb8	** 35.5/28.5=7	25/20=5	47/45=2	50/13=37	47.5/19=28.5
Hab 9	45/40=5	39/27=12	27/18=9	67/9=58	55/28=27
Hac 2	50/33=17	32/30=2	25/10=15	70/30 =40	40/30=10
Hac 6	51/31=20	32/30=2	26/12=4	60/17 =43	45/30=15
Hac 8	35/17=18	32/25=7	25/14=11	60/18 =42	35/9=26
Hac 11	40/21=19	30/25=5	30/24=6	65/22 =43	35/15=20
Had 11	60/51=9	22/18=4	22/18=4	50/13=37	50/13=37
Hbb 2	30/11=19	-	26/12=14	72/23=49	43/8=35
Hbb 3.1	20/12=8	25/10=15	40/25=15	72/9=63	44/6=38
Hbb 3.2	30/19=11	34/28=6	40/25=15	60/8=52	46/18=28
Ma 2	40/20=20	-	31/20=11	64/5=59	-
Gal5	22/18=4	70/40=30	17/15=2	58/34=22	50/35=15

\*\* เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนที่มีการย่อยสลายสาร/ เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี= ความกว้างของโซนที่มีการย่อยสลายสาร (มิลลิเมตร)

- = ไม่มีการเจริญหรือไม่เกิดโคโลนี

จากจุลินทรีย์จำนวนดังกล่าว เมื่อนำมาคัดเลือกเฉพาะเชื้อที่สามารถเจริญได้ดีและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารประกอบได้สูงและสามารถย่อยสลายสารประกอบได้หลายชนิดเท่านั้น พบว่าสามารถคัดเลือกได้ จำนวน 20 isolates ดังแสดงไว้ในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงความกว้างของโซนที่มีการย่อยสารประกอบ 5 ชนิดรอบโคโลนีของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกไว้

รหัสชื่อ ชนิดของสารประกอบ	skim milk	starch	tributyryn	carboxy methyl cellulose	xylan
Sk 10	** 60/16=44*	25/7=18	-	-	40/10=30*
Sk 13	52/15=37*	28/20=8	-	40/25=15	35/19=16
T 2	55/32=23	-	50/34=16*	-	-
T 5	80/60=20	-	45/13=32*	-	-
Ga15	22/18=4	70/40=30*	-	56/34=22	50/35=15
Ga20	35/20=15	50/16=34*	-	45/15=30	35/18=17
Sb1	37/27=10	39/25=14	23.5/16.5=7	21/10.5=10.5	70/30=40*
Sb4	34/18=16	30/17=13	28/19.5=8.5	30/24=6	65/15=50*
Hab 9	45/40=5	39/27=12	27/18=9	67/9=58*	55/28=27
Had 11	60/51=9	22/18=4	22/18=4	50/13=37*	50/13=37*
Hba 8	48/25=23	38/13=25*	31/26=5	11/1=10	32/20=12
Hba 11	33/18=15	32/21=11	30/10=20*	20/2=18	45/35=10
Hbb 1	25/10=15	-	22/2=20*	-	40/12=38*
Hbb 2	30/11=19	-	26/12=14	72/23=49*	43/8=35*
Hbb 3.1	20/12=8	25/10=15	40/25=15*	72/9=63*	44/6=38*
Hbb 3.2	30/19=11	34/28=6	40/25=15*	60/8=52*	46/18=28
Hbb 4	45/40=5	-	45/30=15*	55/22=33	44/10=34*
Hbd 9	30/14=16	40/10=30*	36/28=8	-	20/15=5
Ma 2	40/20=20	-	31/20=11	64/5=59*	-
Mb 22	82/55=27*	35/25=10	68/53 =15 *	-	45/8=37*

\*\*เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนที่มีการย่อยสลายสาร/ เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี= ความกว้างของโซนไฮรอปโคโลนี (มิลลิเมตร)

- = ไม่มีการเจริญหรือ ไม่เกิดโซนที่มีการย่อยสลายสาร

\* = ความกว้างของโซนอยู่ในเกณฑ์คัดเลือก

ผลการทดสอบกิจกรรมจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในการบำบัดขยะ

คัดเลือกเชื้อ Mb22, Hba11, Hba8 และHbb3.1 ซึ่งสามารถย่อยสลายสารประกอบ skim milk , tributyrin , starch , xylan และ carboxy methyl cellulose ได้ดี มาใช้ในการทดลองการบำบัดขยะโดยคัดเลือก Mb22 เนื่องจากสามารถย่อยสลาย skim milk และ

tributylin ได้ดี คัดเลือก Hba11 เนื่องจากย่อย skim milk , tributyrin และ cellulose ได้ดี คัดเลือก Hba8 เนื่องจากสามารถย่อยสลาย starch และ skim milk ได้ดี คัดเลือก Hbb3.1 เนื่องจากสามารถย่อยสลาย xylan และ carboxy methyl cellulose ได้ดี :

ขยะประกอบด้วยเศษอาหารที่มีข้าวและกับข้าวที่เหลือจากการบริโภครวมกับ ขยะแห้งที่ประกอบด้วยเศษหญ้าและใบไม้ในอัตราส่วน 2 : 1 โดยน้ำหนักตามวิธีดังกล่าวข้าง ต้น ได้ผลดังนี้ คือ

ลักษณะของขยะจากวันแรกถึงวันสุดท้าย สีของขยะโดยเฉพาะหญ้าซึ่งมีสีเขียวอ่อน เริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม และเป็นสีน้ำตาลในที่สุด ปริมาตรและน้ำหนักของขยะเริ่มลดลง ในวันที่ 2 ของการบำบัด มีเส้นใยสีขาวของเชื้อราเจริญที่ผิวหน้าของขยะ ลักษณะของ เมล็ดข้าวในขยะเปลี่ยนไปไม่คงรูปจนกระทั่งไม่เห็นเมล็ดข้าวเลย

จากผลการวัดอุณหภูมิ พบว่า ในวันแรก ขยะมีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง คือ 32 องศาเซลเซียส ในวันที่ 2-10 ของการบำบัด ขยะที่เติมเชื้อให้มีอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิห้อง คือ มีอุณหภูมิเท่ากับ 44.25 , 42.5 , 42 , 36 , 33.75 , 34.25 , 33 , 31 และ 33 ตามลำดับ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 9 ซึ่งในวันที่ 2-8 ขยะที่เติมเชื้อให้จะมีอุณหภูมิสูงกว่าขยะที่ไม่ได้เติมเชื้อ และขยะทั้งที่เติมเชื้อให้กับไม่ได้เติมเชื้อจะมีอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิห้อง ส่วนในวันที่ 11-12 ของการบำบัด ขยะทั้งหมดมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง

ผลการวัดความเป็นกรด-ด่าง ในขยะทุกวัน พบว่า pH ของขยะวันแรกถึงวันที่ 4 ของการบำบัด มีค่าเท่ากับ 7 ซึ่งเท่ากับขยะที่ไม่ได้เติมเชื้อให้ และสูงขึ้นในวันที่ 5-7 คือเท่ากับ 8 และเท่ากับ pH ของขยะที่ไม่เติมเชื้อ และมี pH ของขยะสูงขึ้นอีกในวันที่ 8-12 คือ มี pH ของขยะเท่ากับ 9 ซึ่งสูงกว่า pH ของขยะที่ไม่เติมเชื้อในวันที่ 8 และเท่ากับขยะที่ไม่เติมเชื้อในวันที่ 9-12 ของการบำบัด ดังแสดงไว้ในตารางที่ 9

ผลการวัดแอมโมเนียในขยะทุกวัน พบว่า มีแอมโมเนียเกิดขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 ของการบำบัดและมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงวันที่ 12 โดยมีความเข้มข้นสูงกว่าในขยะที่ไม่เติมเชื้อในวันที่ 2- 10 ของการบำบัด ดังแสดงไว้ในตารางที่ 9

หลังการบำบัด น้ำหนักขยะที่เติมเชื้อลดลงเหลือ 109.5 กรัมหรือน้ำหนักลดลงไป 190.5 กรัม หรือลดลง 63.5% ในขณะที่ขยะที่ไม่เติมเชื้อมีน้ำหนักลดลงเหลือ 210 กรัม หรือขยะลดลงไป 90 กรัม หรือลดลง 30% ซึ่งแสดงว่าการเติมเชื้อในการบำบัดขยะทำให้น้ำหนักขยะลดลงไปประมาณ 2 เท่าของขยะที่ไม่เติมเชื้อ

จากการวัดหาปริมาณ reducing sugar ในขยะ พบว่าในวันแรกขยะ 1 กรัมมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 85 ไมโครกรัม เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐาน และในวันที่ 13 ของการบำบัดมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 40.5 ไมโครกรัม ในขณะที่ขยะไม่เติมเชื้อมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 52.25 ไมโครกรัม

ตารางที่ 9 แสดงผลการตรวจวัด อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และแอมโมเนียในแต่ละวันของขยะ  
ที่ทำการบำบัด

ขยะ	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6
	T, pH, NH <sub>3</sub>	T, pH, NH <sub>3</sub>	T, pH, NH <sub>3</sub>	T, pH, NH <sub>3</sub>	T, pH, NH <sub>3</sub>	T, pH, NH <sub>3</sub>
ไม่เค็ม เชื้อ	32°C , 7 , -- Tห้อง=32°C	43°C , 7 , -- Tห้อง=31°C	40°C , 7 , + Tห้อง=33°C	39°C , 8 , + Tห้อง=34°C	35°C , 8 , 2+ Tห้อง=29°C	33°C , 8 , 2+ Tห้อง=32°C
ไม่เค็ม เชื้อ	32°C , 7 , -- Tห้อง=32°C	42.5°C , 7 , + Tห้อง=31°C	40°C , 7 , + Tห้อง=33°C	41°C , 7 , 2+ Tห้อง=34°C	35.5°C , 7 , 3+ Tห้อง=29°C	33°C , 8 , 3+ Tห้อง=32°C
เค็ม เชื้อ	32°C , 7 , - Tห้อง=32°C	44°C , 7 , + Tห้อง=31°C	42°C , 7 , + Tห้อง=33°C	42°C , 7 , 2+ Tห้อง=34°C	36°C , 8 , 3+ Tห้อง=29°C	34°C , 8 , 3+ Tห้อง=32°C
เค็ม เชื้อ	32°C , 7 , - Tห้อง=32°C	44.5°C , 7 , + Tห้อง=31°C	43°C , 7 , + Tห้อง=33°C	42°C , 7 , 2+ Tห้อง=34°C	36°C , 8 , 3+ Tห้อง=29°C	33.5°C , 8 , 3+ Tห้อง=32°C
ขยะ	วันที่ 7	วันที่ 8	วันที่ 9	วันที่ 10	วันที่ 11	วันที่ 12
ไม่เค็ม เชื้อ	34°C, 8, 3+ Tห้อง=32°C	32°C, 8, 3+ Tห้อง=28°C	31°C, 8, 3+ Tห้อง=28°C	33.5°C, 8, 4+ Tห้อง=31°C	34°C, 9, 4+ Tห้อง=34°C	27°C, 9, 4+ Tห้อง=27°C
ไม่เค็ม เชื้อ	34°C, 8, 3+ Tห้อง=32°C	33°C, 8, 3+ Tห้อง=28°C	31°C, 8, 4+ Tห้อง=28°C	34°C, 9, 4+ Tห้อง=31°C	34°C, 9, 4+ Tห้อง=34°C	27°C, 9, 4+T ห้อง=27°C
เค็ม เชื้อ	34°C, 8, 3+ Tห้อง=32°C	33°C, 8, 3+ Tห้อง=28°C	31°C, 8, 4+T ห้อง=28°C	33°C, 8, 4+ Tห้อง=31°C	34°C, 9, 4+ Tห้อง=34°C	27°C, 9, 4+T ห้อง=27°C
เค็ม เชื้อ	34.5°C, 8, 3+ Tห้อง=32°C	33°C, 8, 3+ Tห้อง=28°C	31°C, 9, 4+ Tห้อง=28°C	33°C, 9, 4+ Tห้อง=31°C	34°C, 9, 4+ Tห้อง=34°C	27°C, 9, 4+T ห้อง=27°C

### การทดสอบกิจกรรมจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในการบำบัดน้ำเสีย

นำเชื้อ Sk10 ที่คัดเลือกไว้แล้วว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย skim milk ได้ดีที่สุดในแบคทีเรียทั้งหมด และยังสามารถย่อยสลาย starch ได้ดีด้วย นอกจากนี้ยังสามารถย่อยสลาย xylan ได้พอสมควร (ตารางที่ 8) กับเชื้อ T2 ซึ่งสามารถย่อยสลายไขมันได้ดีมาก (ตารางที่ 8) มาจำนวนชนิดละ 1 loopful เลี้ยงแยกกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth 20 มิลลิลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณ บ่มนาน 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยการเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที แล้วนำมาวัดค่า Optical density (O.D) ที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร ได้ผลดังนี้ คือ Sk10 มีค่า O.D เท่ากับ 1.354 และ T2 มีค่า O.D เท่ากับ 1.724 ซึ่งมีแบคทีเรียจำนวน  $4 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ  $6 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

การทดสอบ แบ่งเป็น 2 แบบ คือ

แบบไม่เขย่า ทำดังนี้

ชุดที่ 1 เดิมเชื้อ Sk10 เพียงอย่างเดียวโดยใช้น้ำเสียจากโรงอาหารของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 400 มิลลิลิตร ผสมกับเชื้อ Sk10 เข้มข้น 3 % (v/v) บ่มนาน 5 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำมาหาค่า BOD เปรียบเทียบกับ ค่า BOD ของน้ำเสียก่อนเติมเชื้อและบ่ม ทำ 2 ซ้ำ

ชุดที่ 2 เดิมเชื้อทดสอบ Sk 10 ผสมกับ T2 ปริมาตรเท่าๆกัน ทำเช่นเดียวกันกับชุดที่ 1

ชุดควบคุม ทำเช่นเดียวกันแต่ไม่เติมเชื้อ ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเดิมลงไปแทน

แบบเขย่า ทำเช่นเดียวกันกับแบบไม่เขย่า แต่นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง

ผลการบำบัดน้ำเสียแบบไม่เขย่า ดังแสดงไว้ในตารางที่ 10 เป็นดังนี้

น้ำเสียที่นำมาบำบัดมีค่า BOD เท่ากับ 3,025 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดที่ 1 น้ำเสียที่เติมเชื้อ Sk 10 เพียงอย่างเดียว หลังผ่านการบำบัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีค่า BOD เท่ากับ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดที่ 2 น้ำเสียที่เติมเชื้อ Sk 10 ผสมกับ T2 หลังผ่านการบำบัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีค่า BOD เท่ากับ 565 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดควบคุมเป็นน้ำเสียที่ไม่เติมเชื้อเลยหลังผ่านการบำบัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีค่า BOD เท่ากับ 1,372.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ในการบำบัดน้ำเสียโดยการใส่เชื้อ Sk10 ผสมกับ T2 และการใส่เชื้อ Sk10 เพียงอย่างเดียว พบว่า การบำบัดโดยใส่เชื้อ Sk10 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สามารถลด BOD ของน้ำเสียลงได้ดีกว่าชุดควบคุม 70.86 % ในขณะที่การบำบัดโดยการใส่เชื้อผสม Sk10 กับ T2 สามารถลด BOD ของน้ำเสียลงได้ดีกว่าชุดควบคุม 58.83 %

ผลการบำบัดน้ำเสียแบบเขย่า ดังแสดงไว้ในตารางที่ 10 เป็นดังนี้

ชุดที่ 1 น้ำเสียที่เติมเชื้อ Sk 10 เพียงอย่างเดียว หลังผ่านการบำบัดที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 27-34 องศาเซลเซียส ) มีค่า BOD เท่ากับ 74.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดที่ 2 น้ำเสียที่เติมเชื้อ Sk 10 ผสมกับ T2 หลังผ่านการบำบัดที่อุณหภูมิห้อง มีค่า BOD เท่ากับ 84.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชุดควบคุมซึ่งเป็นน้ำเสียที่ไม่เติมเชื้อเลยหลังผ่านการบำบัดที่อุณหภูมิห้อง มีค่า BOD เท่ากับ 107.17 มิลลิกรัมต่อลิตร

การบำบัดน้ำเสียโดยเติมเชื้อ Sk10 : เพียงอย่างเดียวแล้วเขย่าที่อุณหภูมิห้อง สามารถลด BOD ของน้ำเสียลงได้ดีกว่าชุดควบคุม 30.48 % ในขณะที่การบำบัดโดยใช้เชื้อผสม Sk10 กับ T2 สามารถลด BOD ของน้ำเสียลงได้ดีกว่าชุดควบคุม 21.15 %

ตารางที่ 10 แสดงผลการบำบัดน้ำเสียโดยเชื้อคัดเลือก

ตัวอย่างน้ำ	อุณหภูมิที่บ่ม(°C)	BOD (mg/l)
น้ำที่ยังไม่ได้อบ	อุณหภูมิห้อง	3.025
น้ำที่ผ่านการบ่มไม่เติมเชื้อ	37 °C	1,372.5
น้ำที่ผ่านการบ่ม + Sk 10	37 °C	400
น้ำที่ผ่านการบ่ม + Sk 10 + T2	37 °C	565
น้ำที่ผ่านการบ่มและเขย่า ไม่เติมเชื้อ	อุณหภูมิห้อง	107.17
น้ำที่ผ่านการบ่มและเขย่า + Sk 10	อุณหภูมิห้อง	74.5
น้ำที่ผ่านการบ่มและเขย่า + Sk 10 + T2	อุณหภูมิห้อง	84.5

4 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่คัดเลือกได้

จากการย้อมสีแกรม Mb22, Hba11, Hba8, Hbb3.1, Sk10 และ T2 พบว่าทั้งหมดเป็นแบคทีเรียรูปท่อนที่ย้อมติดสีแกรมบวก สร้างเอ็นโดสปอร์ วิเคราะห์ได้ว่าเป็นแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* sp. ทั้งหมด

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองจะเห็นว่าสามารถแยกได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารประกอบที่มีไนซยะและน้ำเสียได้หลากหลายจำนวน 20 isolates ซึ่งการทดลองครั้งนี้ใช้ข้อมูลจากการเกิดบริเวณใสหรือบริเวณที่มีการย่อยสลายสารในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่านั้น มิได้หาปริมาณเอ็นไซม์จึงได้คัดเลือกเชื้อไว้จำนวนหนึ่งเพื่อเก็บไว้หาปริมาณเอ็นไซม์ต่อไปอีก การคัดเลือกเชื้อมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียและขยะนั้นจะต้องศึกษาปัจจัยหลายอย่าง เช่น เชื้อต้องเจริญได้ดี มีความทนทาน มีประสิทธิภาพดีในการย่อยสลายสารประกอบที่มีอยู่ในขยะและน้ำเสียได้หลายชนิดใน isolate เดียว นอกจากนี้การให้จุลินทรีย์หลายชนิดในการบำบัดยังต้องคำนึงถึงการอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกกว่ามีความร่วมมือส่งเสริมในการทำกิจกรรมร่วมกัน หรือเกิดการแก่งแย่งและเป็นปฏิปักษ์ต่อกันหรือไม่ ซึ่งจะต้องศึกษาเพิ่มเติมต่อไปอีก

ในการบำบัดน้ำเสียที่เก็บจากท่อระบายน้ำข้างโรงอาหารของมหาวิทยาลัยซึ่งประกอบด้วยโปรตีน แป้ง และไขมัน โดยการให้เชื้อ sk10 ผสมกับ T2 และการให้เชื้อ sk10 เพียงอย่างเดียว พบว่า การบำบัดโดยให้เชื้อ sk10 แบบไม่เขย่า มีประสิทธิภาพในการลด BOD ของน้ำเสียได้ดีกว่าการให้เชื้อผสม sk10 กับ T2 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเชื้อที่ให้อาจมีการแก่งแย่งกันในการเจริญและทำกิจกรรม หรือ มีการสร้างสารต่อต้านกัน ในการบำบัดน้ำเสียโดยการเขย่าก็เกิดผลในทำนองเดียวกัน หากเปรียบเทียบการบำบัดแบบไม่เติมอากาศกับแบบเติมอากาศจะพบว่าการเติมอากาศสามารถลด BOD ในน้ำเสียได้ดีกว่าแบบไม่เติมอากาศ แต่ถ้าเทียบกับการต้องเสียค่าใช้จ่ายในการเติมอากาศ ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการบำบัดแบบไม่เติมอากาศจะดีกว่าแบบเติมอากาศ

ในการบำบัดขยะการเติมเชื้อทำให้การบำบัดมีอัตราเร็วขึ้น การบำบัดให้อุณหภูมิสูงขึ้น ให้ออมโมเนียมออกมาเร็วขึ้น ซึ่งมีผลให้ขยะเดิมเชื้อมีความเป็นด่างเร็วกว่าขยะไม่เติมเชื้อ การย่อยสลายสารประกอบในขยะเดิมเชื้อสิ้นสุดเร็วกว่าชุดควบคุม และน้ำหนักของขยะที่เติมเชื้อจะลดลงมากกว่าขยะไม่เติมเชื้อถึง 2 เท่า ทั้งนี้แม้ว่าจะเติมเชื้อให้ในปริมาณน้อยมากคือ 0.67 % เท่านั้น การตรวจพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในขยะเดิมเชื้อมีน้อยกว่าขยะไม่เติมเชื้อเป็นการแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ในขยะเดิมเชื้อซึ่งมีจำนวนมากกว่าขยะไม่เติมเชื้อนำกลูโคสไปใช้ในการเพิ่มจำนวนนั่นเอง

และจากการที่ผลการวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่นำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียและขยะในการทดลองครั้งนี้เป็นแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* ทำให้น่าสนใจที่จะนำไปใช้งานได้จริงในภาคสนาม เพราะแบคทีเรียจะมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีจากการที่มีการสร้างเอ็นโดสปอร์

## สรุปและขอเสนอแนะ

จากการแยกเชื้อจากตัวอย่างน้ำเสียและดินแหล่งต่างๆที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบ skim milk , tributyrin, starch, xylan, และ carboxy methyl cellulose ได้จำนวน 259 isolates และได้คัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารประกอบทั้ง 5 ชนิด ไว้จำนวน 20 isolates

เมื่อคัดเลือกเชื้อ Mb22, Hba11, Hba8 และ Hbb3.1 มาใช้ในการบำบัดขยะ พบว่าการเติมเชื้อเพิ่มเติมจากที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ทำให้การย่อยสลายสารประกอบเกิดขึ้นได้ในอัตราเร็วกว่าชุดควบคุม และทำให้น้ำหนักของขยะลดลงได้มากกว่าชุดควบคุมถึง 2 เท่า

เมื่อคัดเลือกเชื้อ Sk10 และ T2 มาใช้ในการบำบัดน้ำเสียแบบไม่เติมอากาศให้พบว่า การเติมเชื้อ Sk10 ชนิดเดียวสามารถลดค่า BOD ในน้ำเสียหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ได้ดีกว่าชุดควบคุม ถึง 70.86 % และดีกว่าการเติม Sk10 ผสมกับ T2 ซึ่งสามารถลดค่า BOD ในน้ำเสียได้ 50.83 % ในขณะที่การบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศโดยการเขย่า การเติมเชื้อ Sk10 เพียงอย่างเดียวสามารถลดค่า BOD ในน้ำเสียได้ดีกว่าชุดควบคุม 30.48 % และดีกว่าการบำบัดโดยการใส่เชื้อผสม Sk10 กับ T2 ซึ่งสามารถลด BOD ของน้ำเสียลงได้ 21.15 %

การทดลองครั้งนี้ การบำบัดน้ำเสียและขยะทำโดยการคัดเลือกเชื้อมาใช้ในบำบัดเพียง 1 ชุดเท่านั้น สิ่งที่ต้องทำการศึกษาต่อไปก็คือ การจับสลับคู่เชื้อที่คัดเลือกได้หลายๆชุด มาใช้ในการบำบัดเพื่อหาเชื้อที่มีความสัมพันธ์ในทางบวกต่อกันในการทำกิจกรรมร่วมกัน น้ำหนักเชื้อที่ใช้ ประสิทธิภาพและสัดส่วนที่เหมาะสมของเชื้อในการบำบัดขยะชนิดอื่น

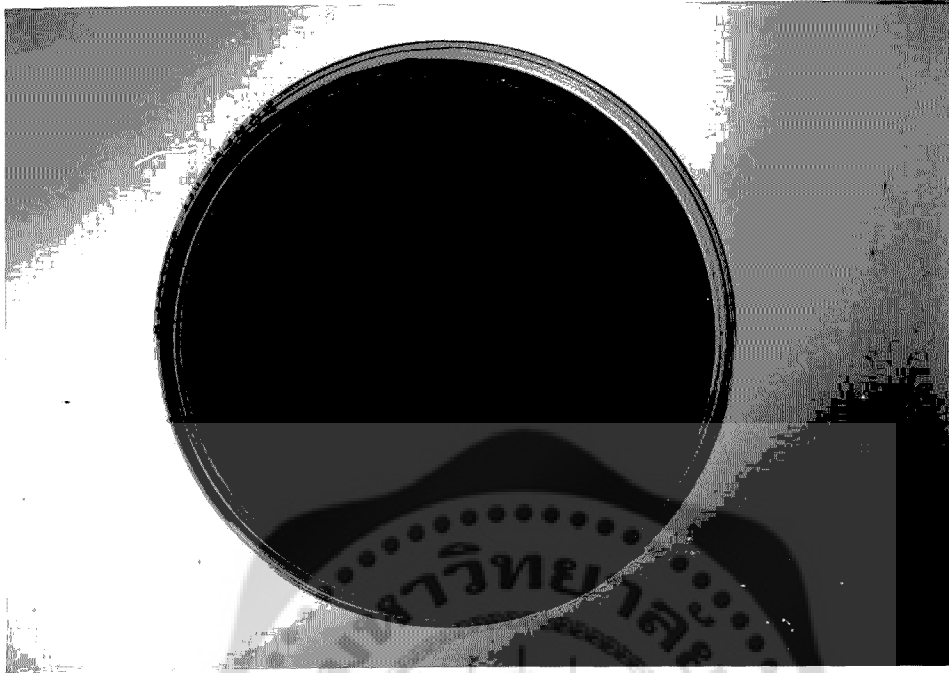
## เอกสารอ้างอิง

1. กิตติเดช สุวรรณสนธิชัย และคณะ 2534. วิธีการที่รวดเร็วสำหรับคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตเอ็นไซม์ไลเปสได้สูง. วารสารเกษตรศาสตร์(วิทย.) 25:162-168.
2. ทนง ภักดิ์พันธ์ 2522. เอ็นไซม์ในอุตสาหกรรมอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร. 225.น.
3. ธงชัย คัมภีร์ พรทิพย์ ตัณฑเจริญรัตน์ และสาวิตรี ลิ้มทอง 2532. การผลิตเซลลูเลสโดยแอคติโนมัยซีทซึ่งเจริญ ณ อุณหภูมิสูง วารสารวิทยาศาสตร์ ม.ก. 7(2): 10-20.
4. วิเชียร กิจปรีชาวนิช วิเชียร สีสุก อัญชรีดา สวารชร์ และนภา โล่ห์ทอง 2535. การผลิตเอ็นไซม์ย่อยเซลลูโลสและไซแลนจากวัสดุเหลือทิ้งทางเกษตรกรรมโดยเชื้อ *Aspergillus fumigatus* Fresenius รหัส 4-45-IF วารสารเกษตรศาสตร์ (วิทย.) 26: 296-306.
5. สมชัย หาญชาญชัยกุล. 2538 อีเอ็มจุลินทรีย์พันธุ์ใหม่รักษาสิ่งแวดล้อม นิคมสารบ้านที่มีชีวิต 1(5): 93..
6. อัญชรีดา สวารชร์ , อมเรศ ภูมิรัตน์ และ นภา โล่ห์ทอง 2525 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตเอ็นไซม์ไซแลนเนสโดยเชื้อ *Aspergillus fumigatus* Fresenius No. 4-45-IF การประชุมวิชาการ เรื่อง วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อการพัฒนาประเทศ ครั้งที่ 8
7. อรุณวรรณ หวังกอบเกียรติ อารี ไชยาภินันท์ เสาวนีย์ สุนทรพิทักษ์ และนิสิตปริญญาตรี-โท 2538 การใช้ EM ในการบำบัดน้ำเสียและการลดปริมาณสารอาหารในน้ำเสียโดย EM โครงการวิจัย EM และผลของการใช้ต่อสิ่งแวดล้อม โครงการวิจัยร่วมระหว่างมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เอกสารประกอบการสัมมนา 157-162.
8. Bellamy, W.D. 1977. Cellulose and lignocellulose digestion by thermophilic Actinomycetes for SCP production. Dev. Microbiol. 18: 249-254.
9. Bhat, K.M. and Maheshwari, R. 1987. *Sporotrichum thermophile* growth, cellulose degradation, and cellulase activity. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 53, No.9: 2175-2182.
10. Buchholz, K., Puls, J., Godelmann, B. and Dietrichs, H.H. 1980/1981. Hydrolysis of cellulosic wastes. Process Biochem. 15(8):37-43.
11. Edwards, C. Thermophiles. 1990. In Edwards, C. (ed) Microbiology of extrem environments. Open University Press Milton Keynes. 1-32.

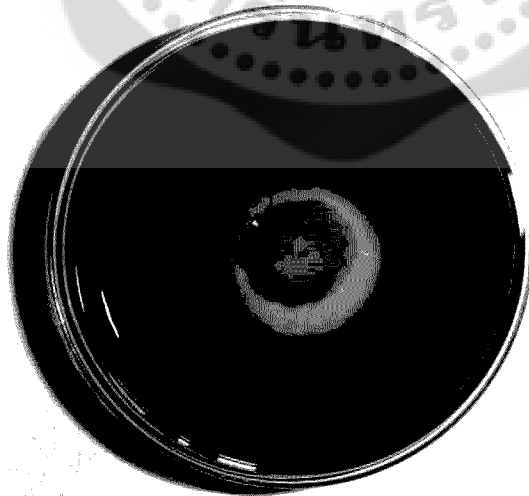
12. Eriksson, K-E.L., Blanchette, R.A. and Ander, P. 1990 **Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components.** Springer-Verlag Berlin Heilberg, New York. .
13. Eriksson, K-E.L and Petterson, B. 1971. Purification and characterization of xylanase from the rot fungus *Stereum sanguinolentum*. *Int. Biodetn. Bull.* 7: 115-119 .
14. Hashimoto , S. ; Muramatsu, T. ; and Funatsu. M. 1971. Studies on xylanase from *Trichoderma viride*. Part I. Isolation and some properties of crystalline xylanase. *Agr. Biol. Chem.* 35: 501-508.
15. Hui ,Y.H. 1991. **Encyclopedia of food science and technology.** Vol.2. E-H John Wiley and Sons,Inc. USA. 745-746.
16. Ingle, M.B. and Erickson. 1978. Bacterial  $\alpha$  -amylase. **Advances in Applied Microbiology.** 24:257-278. .
17. Kokusho,Y., Machida,H. and Iwasaki,S.1982a. Study on alkaline lipase: isolation and identification of lipase producing microorganisms. *Agr. Biol. Chem. Soc.*46(5):1159-1164.
18. Kawaminami, T. and Iizuka, H. 1969. Studies on xylanase from microorganisms. Part III . Production of xylanase by *Streptomyces xylophagus* nov. sp. *Agr. Biol. Chem.* 33: 1787-1789.
19. Lotong , N.; Kitprechavanich, V.; Tani, Y. and Okada, H. 1980. Investigation of xylanase producing microorganisms in Thailand. Proceeding Of JSPS-NRCT Seminar on Agro- Industry Including Microbial Technology. **Microbial Utilization of Renewable Resources.** Osaka, Japan. 1 : 66-72.
20. Macrae,A.R. 1983. Lipase catalyzed interesterification of oils and fats *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 60(2): 3A-246A..
21. Mandels, M., Hontz, L. and Nystrom , J. . 1974. Enzymic hydrolysis of waste cellulose. *Biotech. Bioeng.* 16:141-149.
22. Medda,S. and Chandra, A.K.1980. New Strain of *B. licheniformis* and *B. coagulans* producing thermostable  $\alpha$ -amylase active at alkaline. **J. of Applied Bacteriology.** 48: 47-58.
23. Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 153 : 375-380.

24. Okada ,H.; Kinoshita, S. and Panbangred,W. 1980. Xylanase produced by *Bacillus pumilus* isolated from soil of Thailand. Proceeding Of JSPS-NRCT Seminar on Agro- Industry Including Microbial Technology. **Microbial Utilization of Renewable Resources**. Osaka, Japan. 1 : 54-65.
25. Omar, I.C. ,Hayashi, M. and Nagai, S. 1987. Purification and some properties of a thermostable lipase from *Humicola lanuginosa* No.3. **Agr. Biol. Chem. Soc.** 51(1):37-45.
26. Ota, Y.,Gomi, K., Kato, S., Sukiura,T. and Minoda,Y. 1982. Purification and some properties of cell-bound lipase from *Saccharomycopsis lipolytica*. **Agr. Biol.Chem. Soc.** 46(12): 2885-2893.
27. Paterson,R.R.M. and Bridge, P.R. . 1994. **Biochemical techniques for filamentous fungi**. CAB International. UK.
28. Priest , F. G. 1977. Extracellular enzyme synthesis in the genus *Bacillus*. **Bacteriol Rev** 41: 711-753.
29. Rapp, P. and wagner, F. 1986. Production and properties of xylan degrading enzymes from *Cellulomonas uda* . **Applied and Environmental Microbiology**. Vol. 51, No.4: 746-752.
30. Smith, R.E. 1977. Rapid test tube for detecting fungal cellulase production. **Appl. and Environ. Microbiol.** 33(40):980-981.
31. Thakur, M. S., Kennedy, M. J. and Karanth, N.G. 1991. An environmental assessment of biotechnological processes. In Neidleman, S.L., and Laskin, A I. (ed) . **Advances in Applied Microbiology**. Academic Press, 67-83. .
32. Thayer,D.W. 1978. Carboxymethylcellulase produced by facultative bacteria from the hind -gut of the termite *Reticulitermes hesperus*. **J Gen. Microbio.** 106: 13-18.
33. Upton, M.E. and Forgaty, W.M.1977. Production and purification of the thermostable amylase and protease of *Thermomonospora viridis* . **Applied and Environmental Microbiology**. 33: 59-64.
34. Yamaguchi, t., Muroya, N. Isobe, M. and Sukiora,M.1973 . Production and properties of lipase from a newly isolated *Chomobacterium*. **Agr. Biol. Chem. Soc.** 37 (5): 999-1005.

ภาคผนวก



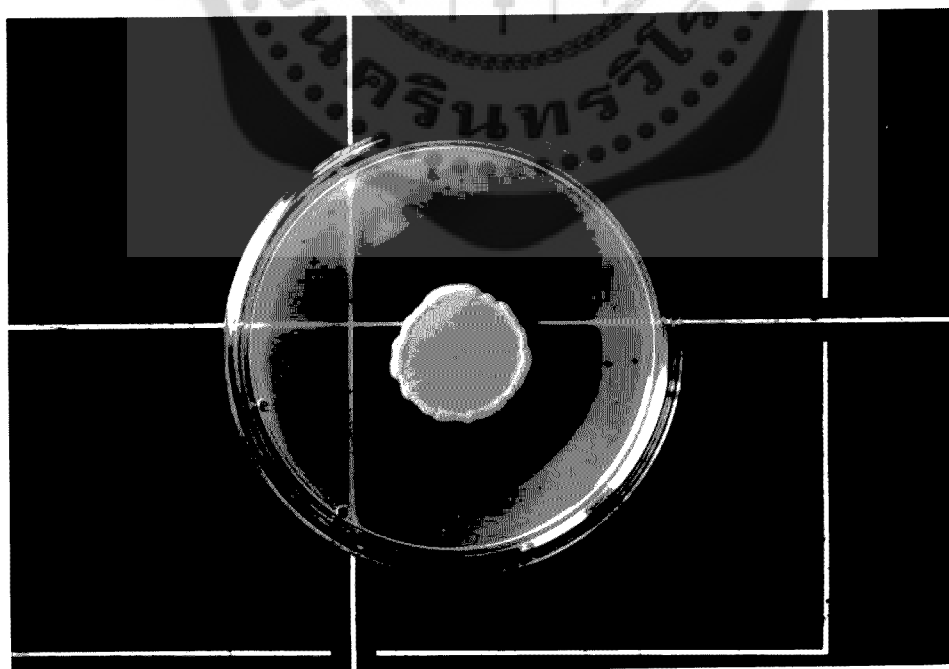
รูปที่ 1 แสดงการเกิดโซนที่มีการย่อยสลาย carboxy methyl cellulose รอบโคโลนีของจุลินทรีย์



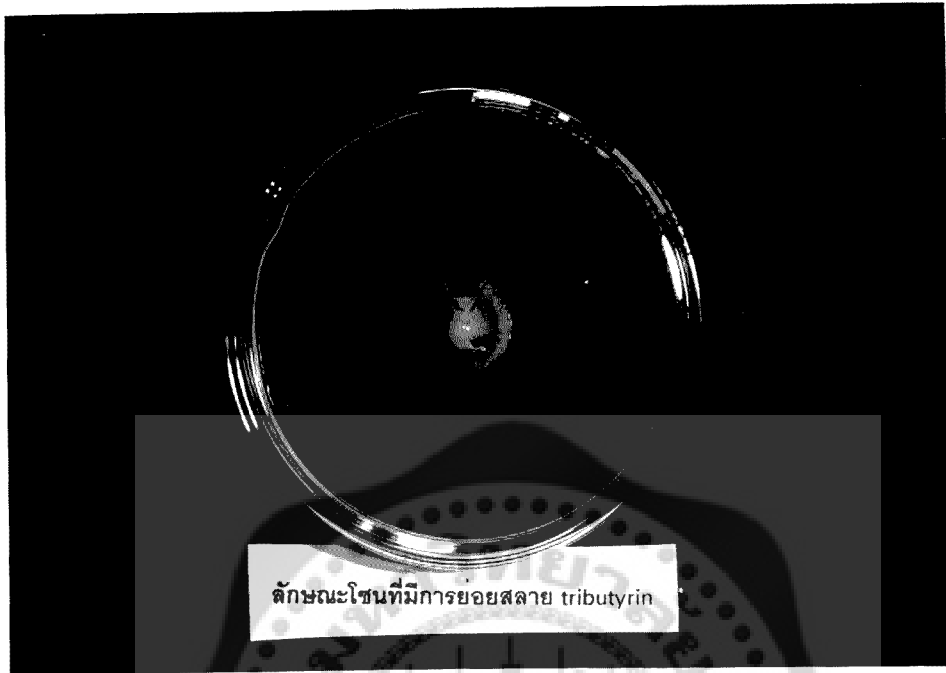
รูปที่ 2 แสดงการเกิดโซนที่มีการย่อยสลาย xylan รอบโคโลนีของจุลินทรีย์



รูปที่ 3 แสดงการเกิด โซนที่มีการย่อยสลาย starch รอบโคโลนีของจุลินทรีย์



รูปที่ 4 แสดงการเกิด โซนที่มีการย่อยสลาย skim milk รอบโคโลนีของจุลินทรีย์

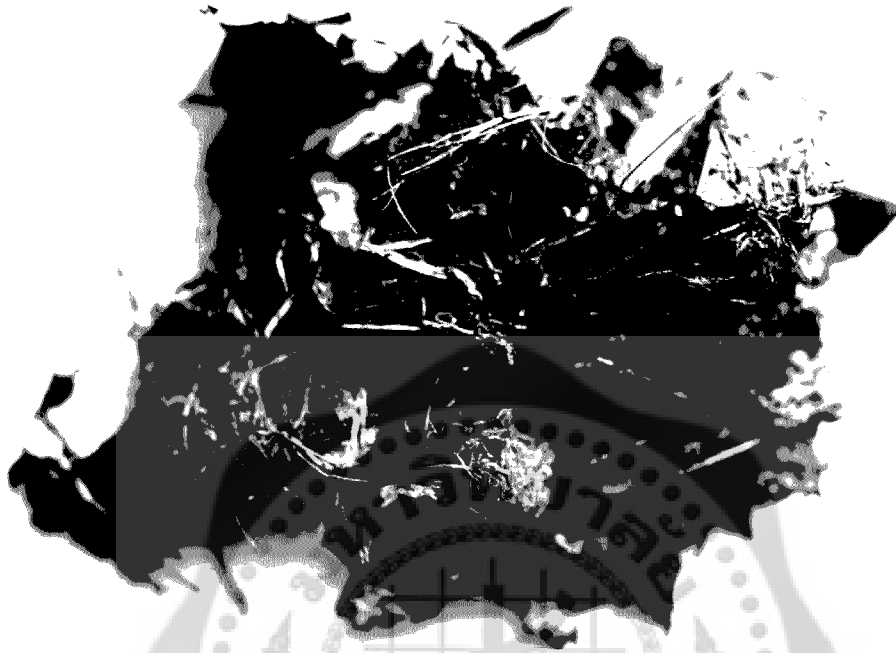


ลักษณะโชนที่มีการย่อยสลาย tributyrin

รูปที่ 5 แสดงการเกิดโชนที่มีการย่อยสลาย tributyrin รอบโคโลนีของจุลินทรีย์



รูปที่ 6 แสดงลักษณะขยะที่ยังไม่ผ่านการบำบัด



รูปที่ 7 แสดงลักษณะขยะที่ผ่านการบำบัดแล้ว



รูปที่ 8 น้ำเสียที่ยังไม่ผ่านการบำบัด



รูปที่ 9 น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดโดยไม่มีกรเติมอากาศ ขวดที่ไม่เติมเชื้อ (ซ้าย)  
ขวดที่เติมเชื้อ Sk10 (กลาง) และ ขวดที่เติมเชื้อ Sk10 + T2 (ขวา)



รูปที่ 10 น้ำเสียที่ผ่านการบำบัดโดยมีการเติมอากาศ ขวดที่ไม่เติมเชื้อ (ซ้าย)  
ขวดที่เติมเชื้อ Sk10 (กลาง) และ ขวดที่เติมเชื้อ Sk10 + T2 (ขวา)



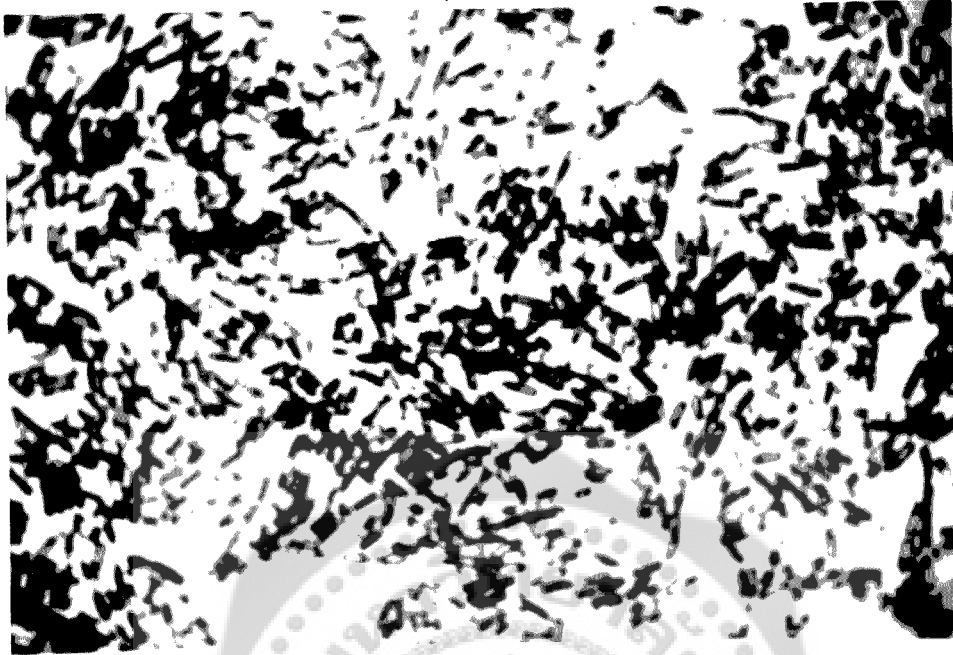
รูปที่ 11 แสดงลักษณะของ Mb 22

รูปที่ 12 แสดงลักษณะของ Hba11



รูปที่ 13 แสดงลักษณะของ Hba 8

รูปที่ 14 แสดงลักษณะของ Hbb3.1



รูปที่ 15 แสดงลักษณะของ SK10



รูปที่ 16 แสดงลักษณะของ T2