การคัดแยกและการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตยางพารา

ฐปน ชื่นบาล[1] ศิราภรณ์ ชื่นบาล[1*] และ ศรีกาญจนา คล้ายเรือง[2]

[1]*สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้*

[2]*สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้*

*Corresponding author; E-mail: siraporn@mju.ac.th

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการคัดแยกและศักยภาพของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากกระบวนการผลิตยางเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสีย โดยทำการคัดแยกแบคทีเรียจากดิน น้ำเข้าและตะกอนของระบบบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมยางพารา ผลการศึกษาพบเชื้อแบคทีเรียจำนวน 3 สายพันธุ์ที่คัดแยกได้ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมยางพาราได้ดี ได้แก่ *Streptomyces atrovirens*, *Arthrobacter* sp. และ *Streptomyces* sp. โดยเชื้อทั้งสามสายพันธุ์สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมยางพาราได้

คำสำคัญ: กระบวนการผลิตยางพารา การบำบัดน้ำเสีย แบคทีเรีย

Isolation and Evaluation Efficiency of Bacteria in Rubber Processing Wastewater Treatment

Tapana Cheunbarn[1], Siraporn Cheunbarn[1*]and Srikanjana Klayrung[2]

[1] Department of Environmental Technology, Faculty of Science, Maejo University

[2] Department of Biological Technology, Faculty of Science, Maejo University

*Corresponding author; E-mail: siraporn@mju.ac.th

Abstract

This research is focused the study of isolation and potential of bacterial separation from the rubber processing to improve the wastewater efficiency. The bacterial isolates from soil, rubber industry wastewater treatment influent and sludge. From the study, the effectiveness of 3 strains for wastewater treatment were *Streptomyces atrovirens*, *Arthrobacter* sp. and *Streptomyces* sp. All three strains can be applied for increasing the efficiency of the wastewater treatment system from the rubber processing.

Keywords: Rubber processing, Wastewater treatment, Bacteria

1. บทนำ

ยางพาราถเป็นพืชเศรษฐกิจหลักที่สำคัญของประเทศ โดยในปี 2562 ประเทศไทยมีการส่งออกยางพารา ทั้งในรูปของยางแผ่นรมควัน ยางแท่งมาตรฐาน น้ำยางข้น และอื่นๆ เป็นมูลค่า 128,493.0 ล้านบาท และมีการส่งออกผลิตภัณฑ์ยางเป็นสินค้า อันดับ 4 ของการส่งออก (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์, 2563) อย่างไรก็ตามในกระบวนการผลิตยางนั้นมีขั้นตอนที่ก่อให้เกิดน้ำเสียไม่ว่าจากกระบวนการล้างทำความสะอาด การเติมสารเพื่อให้น้ำยางจับตัว การปั่นเหวี่ยง และการรีดแผ่นยาง เป็นต้น ซึ่งกระบวนการต่างๆ เหล่านี้จะก่อให้เกิดน้ำเสียจากการผลิตและมีกลิ่นเหม็น น้ำเสียจากอุตสาหกรรมยางพารา จะมีคุณสมบัติคือมีค่าซีโอดี บีโอดี ของแข็งทั้งหมด สารแขวนลอย และความเป็นกรดสูง ซึ่งปริมาณและความสกปรกของน้ำเสียจะแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศขึ้นอยู่กับประเภทของเนื้อยางดิบและเทคนิคกระบวนการแปรรูปของยางพารา ในการจัดการน้ำเสียจากอุตสาหกรรมยางพาราให้ผ่านมาตรฐานน้ำทิ้งนั้นยังเป็นไปได้ยาก เนื่องจากคุณสมบัติของยางไม่ละลายน้ำและมีความยืดหยุ่นสูง ซึ่งเกิดจากโครงสร้างโมเลกุลของยางมีลักษณะเป็นเกลียวทำให้ยากต่อการกำจัด

การกำจัดหรือการฟื้นฟูทางชีวภาพ ถือเป็นเทคโนโลยีที่ได้รับความนิยมและน่าสนใจโดยเฉพาะการใช้ศักยภาพการย่อยสลายของจุลินทรีย์เพื่อรักษาสิ่งแวดล้อม (Watanabe, 2001) โดยจุลินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียแบบชีวภาพมีหน้าที่สำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยใช้เป็นอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนประชากร เป็นผลทำให้สารอินทรีย์ในน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้วมีปริมาณลดลงและคุณภาพน้ำดีขึ้น ก่อนระบายสู่แหล่งน้ำสาธารณะ สำหรับแบคทีเรียย่อยสลายยางได้นั้นจะมีความสามารถในการใช้ยางเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตนั้นมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด จากรายงานของ Imai et al. (2011) พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ *Gordonia* sp., *Nocardia* sp., *Streptomyces* sp. และ *Xanthomonas* sp. มีความสามารถในการย่อยสลาย Poly (cis-1, 4-isoprene) ที่เป็นสูตรทางเคมีของยางได้ และในรายงานของ Linos et al. (2000) พบแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ *Gordonia polyisoprenivorans* และ *G. Westfalica* ที่สามารถย่อยสลายยางได้เช่นกัน สำหรับการบำบัดน้ำเสียจากขบวนการผลิตยางพารานั้น มีรายงานว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ *Arthrobacter* sp. ที่คัดแยกได้จากน้ำเสียจากกระบวนการผลิตยางพารา สามารถลดค่า BOD ได้ 70.4% และ COD ได้ 76.8% ในระยะเวลา 15 วัน ของการศึกษา Smitha (2012) ในขณะที่ Pillai and Girish (2014) ทำการศึกษาการบำบัดน้ำเสียโรงงานยางพาราโดยใช้การทำงานของร่วมกันของแบคทีเรียจำนวน 4 ชนิดที่คัดแยกได้จากน้ำทิ้งจากการโรงงานผลิตยางพารา ได้แก่ *Arthrobacter* sp. *Bacillus* sp. *Lactobacillus* sp. และ *Pseudomonas* sp. พบว่า สามารถลดค่า COD ลงได้ 79.92% สารแขวนลอยทั้งหมด 72.63% และของแข็งทั้งหมด 76.1% จากรายดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการคัดเลือกสายพันธุ์และการใช้จุลินทรีย์ในการบำบัดน้ำเสียอย่างเหมาะสม จะช่วยให้ระบบบำบัดมีประสิทธิภาพและกำจัดสารปนเปื้อนในน้ำเสียได้

ดังนั้นการย่อยสลายยางด้วยจุลินทรีย์เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตยางพาราโดยเฉพาะแบคทีเรีย ที่สามารถใช้กำจัดหรือการฟื้นฟูทางชีวภาพได้ดี เนื่องจากมีการเจริญที่รวดเร็วและง่ายต่อการเพาะเลี้ยง (Glazer, 1997) การศึกษาครั้งจึงนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากสภาพแวดล้อมและน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมยางพาราในการบำบัดน้ำเสียให้มีประสิทธิภาพและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อเป็นแนวทางในการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมยางพาราที่มีประสิทธิภาพที่มีต้นทุนในการเดินระบบที่ต่ำ

2. วิธีการวิจัย

2.1 การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์

ทำการคัดแยกจุลินทรีย์จากตัวอย่าง น้ำเสียจากเครื่องรีดยาง น้ำเสียจากยางก้อนถ้วย น้ำเสียจากบ่อแช่ยางเครพ ดินบริเวณทางน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปยาง ดินข้างบ่อพักน้ำเสียยางพารา และตะกอนจากบ่อบำบัดน้ำเสียยางพารา โดยชั่งตัวอย่าง 1 กรัม (ถ้าเป็นของเหลว 1 มิลลิลิตร) เติมลงในหลอดทดลองที่มีน้ำเกลือร้อยละ 0.85 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางเป็นลำดับส่วน (serial dilution) และนำมาแยกเชื้อโดยการเกลี่ยบนอาหารแข็ง nutrient agar และ oatmeal agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีของแบคทีเรียมาทดสอบความสามารถในการย่อยสลายยางพาราบนอาหาร mineral salt media (MSM) ที่มีการเติมน้ำยางสด 0.2% ผสม Tween 80 ความเข้มข้น 0.002% ในอัตราส่วน 1:1 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 วัน จากนั้นเทอาหาร MSM ที่ผสมน้ำยางสด 0.2% ทับลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และนำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน สังเกตวงใส (clear zone) รอบโคโลนี (Braaz et al., 2004) ศึกษาลักษณะของโคโลนี ใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1,000 เท่า นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยก

ได้มาทำเป็นหัวเชื้อ โดยทำการเลี้ยงในอาหาร NB เขย่าที่ 120 รอบ/นาที บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับใช้ในการทดลองตอนต่อไป

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตยางพารา

นำหัวเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และน้ำเสียจากกระบวนการผลิตยางพาราปริมาตร 285 มิลลิลิตร เติมลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 7 เขย่าที่ 100 รอบ/นาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ได้แก่ ของแข็งทั้งหมด ของแข็งแขวนลอย และ ซีโอดี (APHA 1998) เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรมยางพาราของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลท การคำนวณประสิทธิภาพของการบำบัด (% removal) ตามสมการที่ 1

$$\text{ประสิทธิภาพของการบำบัด (\% removal)} = \frac{\text{ค่าเริ่มต้นการทดลอง} - \text{ค่าสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{ค่าเริ่มต้นการทดลอง}} \times 100 \qquad \text{สมการที่ 1}$$

2.3 การศึกษาการย่อยสลายถุงมือยางพารา

นำหัวเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และอาหาร MSM 95 มิลลิลิตร เติมลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีชิ้นส่วนถุงมือยางพาราที่ถูกตัดขนาด 1X1 ตารางเซ็นติเมตร ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปเขย่าที่ 180 รอบ/นาที ที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน เพื่อให้แบคทีเรียเจริญบนถุงมือยางพารา หลังจากนั้นนำตัวอย่างชิ้นส่วนถุงมือยางพารามาส่องใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ที่กำลังขยาย 2,000 เท่า เพื่อดูการย่อยสลายที่พื้นผิวของถุงมือยางที่เกิดจากแบคทีเรีย

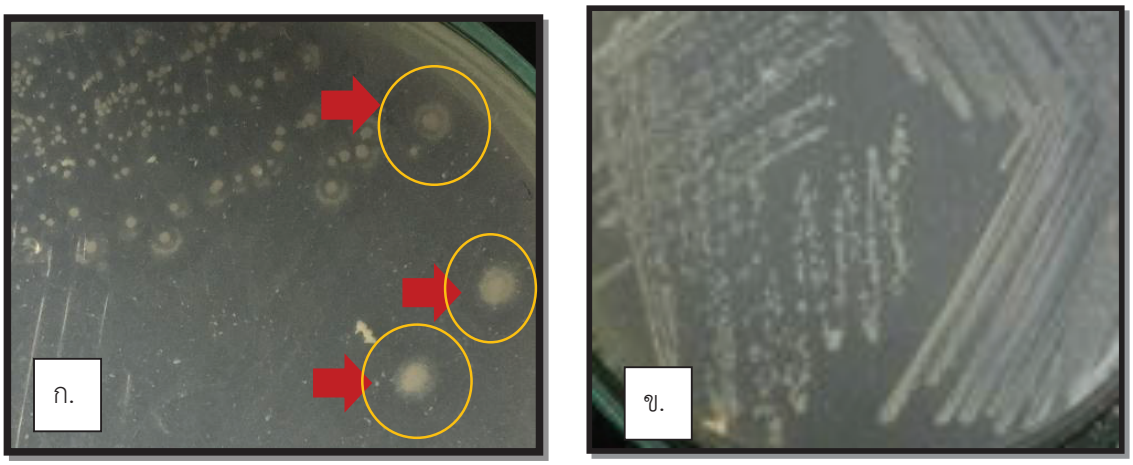
2.4 การจำแนกชนิดแบคทีเรีย โดยการหาลำดับเบส16S rRNA

ทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป (Genomic DNA Kit) ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ตัวเริ่มต้นสร้างสายพันธุกรรม (primer) คือ 27F คือ 27F (5'AGAGTTTGATCMTGG CTCAG-3') และ1522R (5' AAGGAGGTGATCCRCCGCA -3') จากนั้นตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอภายใต้สนามไฟฟ้าภายใต้ตัวกลางชนิดวุ้น (Agarose gel lectrophoresis) นำชิ้นส่วน 16S rDNA ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ ด้วยชุด GEL/PCR DNA Fragments Extraction Kit หาลำดับเบสโดยบริษัท First BASE Laboratories ประเทศมาเลเซีย นำลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล โดยใช้โปรแกรม BLAST ของ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) เพื่อระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรีย

3. ผลการวิจัยและและการวิจารย์

3.1 ผลการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์

จากการศึกษาคัดแยกเชื้อจากตัวอย่าง บนอาหาร NA และ Oatmeal agar พบว่าสามารถทำการคัดแยกจุลินทรีย์ได้ 100 ไอโซเลท โดยแบ่งประเภทตามชนิดของตัวอย่างในการคัดแยกประกอบด้วยดังนี้ 1) ตัวอย่างน้ำเสียคัดแยกได้ 41 ไอโซเลท ใช้รหัสชื้อ WT1 – WT41 2) ตัวอย่างดินคัดแยกได้ 37 ไอโซเลท ใช้รหัสเชื้อ S2-1 – S2-37 และ 3) ตัวอย่างตะกอนบ่อบำบัดน้ำเสียยางพาราคัดแยกได้ 22 ไอโซเลท ใช้รหัสเชื้อ SWT1 – SWT22 และเมื่อนำเชื้อทั้ง 100 ไอโซเลท มาทดสอบการย่อยสลายยางน้ำพาราด้วยวิธี Latex overlay technique พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 20 ไอโซเลต สามารถเจริญบนอาหาร MSM latex overlay และมีจำนวน 3 ไอโซเลท ที่มีการเกิดวงใส (clear zone) รอบโคโลนี โดยแบคทีเรียที่เกิดวงใสได้แก่ รหัส S2-11, S2-12, และ S2-13 ลักษณะของโคโลนีแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะของโคโลนี ก.การเกิดวงใส (clear zone) รอบโคโลนี ข.ไม่เกิดวงใส

ในการเจริญของรหัสเชื้อสามารถแบ่งแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มแรก มีการสร้างวงใสรอบโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหาร MSM latex overlay ได้แก่ รหัสเชื้อ S2-11, S2-12 และ S2-13 โดยทั้ง 3 ไอโซเลทเป็นเชื้อกลุ่มที่ถูกคัดแยกจากดินภายในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตยางพารา ซึ่งการเกิดวงใสแสดงถึงการปล่อยเอนไซม์มาย่อยสลายยางภายนอกเซลล์ ในการสร้างเอนไซม์ของแบคทีเรียที่ย่อยสลายยางมีอยู่ด้วยกัน 2 ชนิด คือเอนไซม์ Latex clearing protein (Lcp) ซึ่งมักเกิดกับเชื้อแกรมบวก โดยเฉพาะเชื้อแอคทีโนมัยซีท (Rose et al., 2005; Yikmis and Steinbuchel, 2012) แบคทีเรียย่อยสลายยางเหล่านี้มียีน Lcp อยู่ใน Genomic จะสามารถผลิตเอมไซม์ Lcp ออกมาย่อยสลายยางโดยการตัดพันธะของ poly (*cis*-1,4-isoprene) ด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน สำหรับเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายยางอีกชนิดหนึ่งนั้นมักพบในแบคทีเรียแกรมลบคือ Rubber Oxygenase A (RoxA) ได้แก่เชื้อ *Xanthomonas* sp. และสำหรับกลุ่มที่ 2 นั้นแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายยางพาราได้แต่ไม่พบวงใสนั้น มีทั้งสิ้น 17 ไอโซเลท โดยเป็นแบคทีเรียที่สามารถเข้าทำลายพื้นผิวของยางโดยตรงด้วยการยึดเกาะ ซึ่งประกอบไปด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม *Corynebacterium* sp., *Nocardia* sp., และ *Mycobacterium* sp. (Yimkis and Steinbuchel, 2012)

3.2 การศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตยางพารา

นำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 20 ไอโซเลทที่สามารถเจริญบนอาหาร MSM 0.2% latex มาทำการทดสอบการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตยางพารา เป็นเวลา 14 วัน พบว่าแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียได้ดีโดยสามารถบำบัด ซีโอดีโดยรวมเกินร้อยละ 70 มีทั้งสิ้น 6 ไอโซเลท ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตยางพาราของจุลินทรีย์

รายการ	ของแข็งทั้งหมด		สารแขวนลอย		ซีโอดี	
	ปริมาณ (mg/L)	การกำจัด (%)	ปริมาณ (mg/L)	การกำจัด (%)	ปริมาณ (mg/L)	การกำจัด (%)
น้ำเข้า	8,528±129.3	-	4,330±354.5	-	12,247±421.3	-
ชุดควบคุม	7,286.7±114.1	14.5	3,233.3±230.0	25.3	3,600±560.0	70.6
SWT14	7,005±244.4	17.8	2,500±0	42.3	2,353.9±46.5	80.7
SWT17	7,178.3±127.9	15.8	2,933.3±288.7	32.3	2,827.2±148.8	76.9
WT15	7,065±600.0	17.1	2,333.3±230.9	46.1	2,926.2±85.9	76.1
S2-11	7,493.3±416.7	12.1	3,233.3±57.7	25.3	3,273.6±297.6	73.3
S2-12	7,028.3±197.6	17.6	2,466.7±404.1	43.0	2,827.2±245.4	76.9
S2-13	6,750±134.8	20.8	1,800±360.6	58.4	2,380.8±195.2	80.6

ของแข็งทั้งหมด (TS): น้ำเสียจากกระบวนการผลิตยางพารามีค่าเฉลี่ยของแข็งทั้งหมดก่อนการทดลอง 8,528±129.3 มิลลิกรัม/ลิตร และหลังจากใส่เชื้อจุลินทรีย์เป็นเวลา 14 วัน พบว่าจุลินทรีย์ทั้ง 6 ไอโซเลท ยกเว้น S2-11 ที่มีปริมาณของแข็งลดลงมากกว่าชุดควบคุม โดย 3 อันดับแรกที่มีปริมาณของแข็งลดลงมากที่สุดได้แก่ S2-13, SWT14 และ S2-12 โดยมีปริมาณของแข็งทั้งหมด 6,750±134.8, 7,005±244.4 และ 7,028.3±197.6 มิลลิกรัม/ลิตร ในขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณของแข็งทั้งหมด 7,286.7±114.1 มิลลิกรัม/ลิตร คิดเป็นประสิทธิภาพในการลดปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 20.8, 17.8, 17.6 และ 14.5 ตามลำดับ

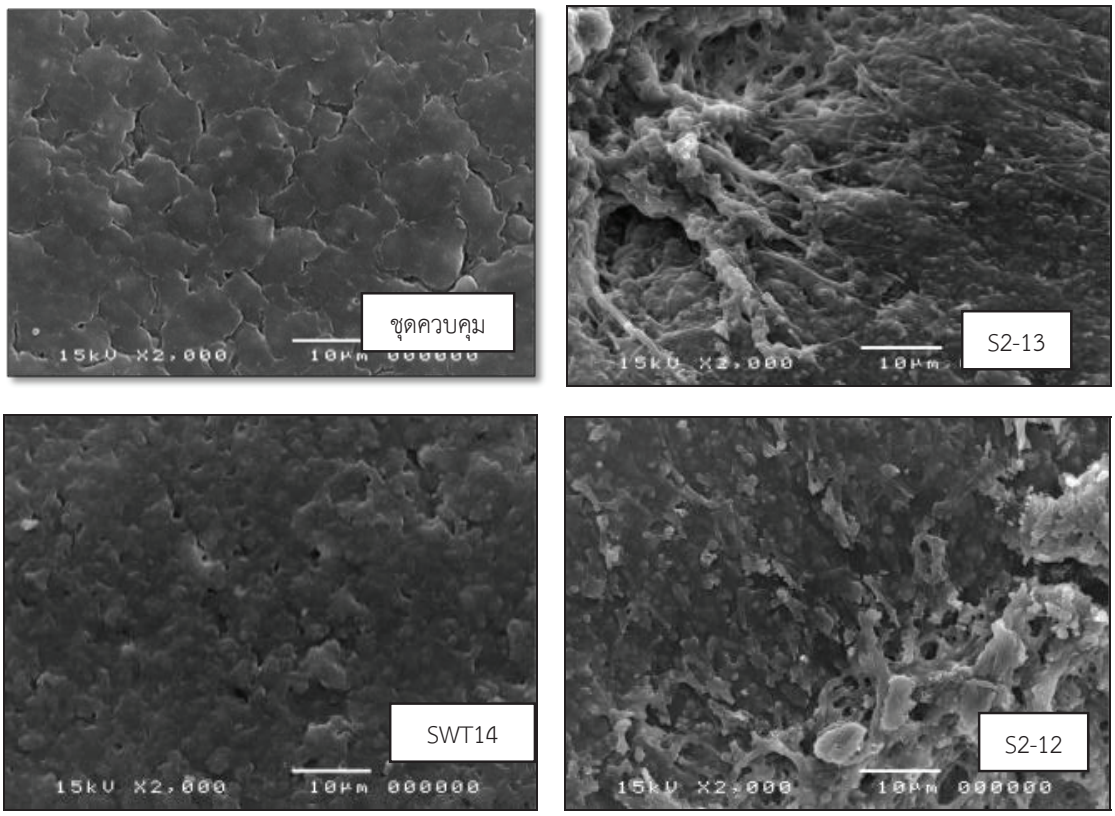
สารแขวนลอย (SS): น้ำเสียจากกระบวนการผลิตยางพารามีค่าเฉลี่ยสารแขวนลอยก่อนการทดลอง 4,330±354.5 มิลลิกรัม/ลิตร และหลังจากใส่เชื้อจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์ทุกไอโซเลท ยกเว้น S2-11 ที่มีปริมาณของสารแขวนลอยเท่ากับชุดควบคุม สำหรับ 3 อันดับแรกที่มีปริมาณของสารแขวนลอยลดลงมากที่สุดได้แก่ S2-13, WT15 และ S2-12 โดยมีปริมาณสารแขวนลอย 1,800±360.6, 2,333.3±230.9 และ 2,466.7±404.1 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณของสารแขวนลอย 3,233.3±230.0 มิลลิกรัม/ลิตร คิดเป็นประสิทธิภาพในการลดปริมาณสารแขวนลอยร้อยละ 20.8, 17.8, 17.6 และ 14.5 ตามลำดับ

ซีโอดี: น้ำเสียจากกระบวนการผลิตยางพารามีค่าเฉลี่ยซีโอดีก่อนการทดลอง 12,247±421.3 มิลลิกรัม/ลิตร และหลังจากใส่เชื้อจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์ทั้ง 6 ไอโซเลทมีปริมาณซีโอดีลดลง อันดับแรกที่มีปริมาณซีโอดีลดลงมากที่สุดได้แก่ SWT14 โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง มีปริมาณซีโอดี 2,353.9±46.5 มิลลิกรัม/ลิตร คิดเป็นประสิทธิภาพในการลดค่าซีโอดีร้อยละ 80.7 รองลงมาได้แก่ S2-13 มีปริมาณซีโอดี 2, 2,380.8±195.2 5 มิลลิกรัม/ลิตร คิดเป็นประสิทธิภาพร้อยละ 80.7 ในขณะที่ S2-12 และ SWT17 ที่มีค่าเท่ากัน โดยมีปริมาณซีโอดี 2827.2±245.4 และ 2827.2±148.8 มิลลิกรัม/ลิตร คิดเป็นประสิทธิภาพร้อยละ 76.9 ในขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณของซีโอดี 3,600±560.0 มิลลิกรัม/ลิตร คิดเป็นประสิทธิภาพในการลดค่าซีโอดีร้อยละ 70.6

จากผลการบำบัดน้ำทิ้งพบว่าจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตยางพารา ได้ดีที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ S2-13, SWT14 และ S2-12 จากผลการทดลองถึงแม้ว่าเป็นการทดลองแบบกะ (batch) ซึ่งเมื่อมีเชื้อเจริญขึ้นมักจะพบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดและของแข็งแขวนลอยจะเพิ่มขึ้นเพราะการเจริญของเชื้อ แต่สำหรับการทดลองนี้หลังครบเวลา 14 วัน ค่าของแข็งทั้งหมดมีค่าลดลง ทั้งนี้อาจเกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อใช้ยางเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญของแบคทีเรีย จึงทำให้ค่าของแข็งทั้งหมดมีค่าลดลง ซึ่งผลการทดลองมีสอดคล้องในทางเดียวกันสารแขวนลอย โดยขบวนการบำบัดด้วยจุลินทรีย์นั้นถือได้ว่าเป็นลดปริมาณของแข็งทั้งหมดและสารแขวนลอยทั้งหมดในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมได้ดี สำหรับประสิทธิภาพในการลดซีโอดีนั้น พบว่าทุกชุดการทดลอง มีประสิทธิภาพมากกว่า 70% โดยจุลินทรีย์ทั้ง 3 ไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการบำบัดค่า ซีโอดี ได้มากกว่าชุดควบคุม ซึ่งมีผลต่อการลดลงของปริมาณออกซิเจนในน้ำทิ้งได้น้อยกว่าชุดควบคุม ซึ่งนับว่าเป็นผลดีต่อการปล่อยน้ำทิ้งลงในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ แต่อย่างไรก็ตามน้ำทิ้งต้องผ่านเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งของกรมโรงงานอุตสาหกรรม

3.3 ผลการศึกษาการย่อยสลายถุงมือยางพารา

เมื่อนำจุลินทรีย์ทั้ง 3 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตยางพารา มาศึกษาการย่อยสลายถุงมือยางเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย หลังจาก 14 วัน นำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy; SEM) กำลังขยาย 2000 เท่า ผลจากการสังเกตการย่อยสลายที่พื้นผิวของแบคทีเรียของชิ้นส่วนถุงมือยางพาราในการศึกษาและเปรียบเทียบชุดการทดลองและชุดควบคุมและแสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ลักษณะของถุงมือยาง หลังจากการใส่เชื้อ 14 ภายใต้กล้อง SEM กำลังขยาย 2,000 เท่า

จากภาพที่ 2 พบว่าการเจริญของแบคทีเรีย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่พื้นผิวของถุงมือยางพารา โดยสังเกตเห็นความแตกต่างบนพื้นผิวของถุงมือยางพาราที่เปลี่ยนไปจากเดิม จากถุงมือยางพาราในชุดควบคุมที่พื้นผิวของถุงมือมีลักษณะเป็นผิวเรียบมีรอยแยกต่อชิดกัน เมื่อทำการเปรียบเทียบกับรูปของชุดทดลองที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ จะเห็นความแตกต่างของพื้นผิวชิ้นส่วนถุงมือยางพาราแบ่งเป็น 2 ลักษณะด้วยกันคือ 1) เมื่อเติมเชื้อ SWT14 พบว่าพื้นผิวของถุงมือยางมีลักษณะเป็นฟิล์มบางๆ ปกคลุมอยู่พบเชื้อจุลินทรีย์บนผิว ถุงมือยางมีลักษณะขรุขระเกิดรอยแยกบนพื้นผิวและพื้นผิวมีความไม่สม่ำเสมอซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมที่พื้นผิวของถุงมือยางพาราจะมีความสม่ำเสมอ ซึ่งลักษณะเกิดการทำลายบนพื้นผิวของถุงมือยาง และ 2) เมื่อเติมเชื้อ S2-12 และ S2-13 พบการเจริญของเชื้อที่มีลักษณะเป็นเส้นใยเกาะอยู่บนพื้นผิวของถุงมือยางพารา มีการยุบตัวลงแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนโครงสร้างซึ่งอาดเป็นผลจากการปล่อยเอนไซม์ออกมาในการย่อยสลายถุงมือยาง (Chai et al., 2014) จากผลการทดลองทั้ง 2 กลุ่มทำให้เมื่อส่องใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดจะเห็นพื้นผิวของถุงมือยางพารามีการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวขรุขระเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับชุดการทดลองควบคุม มีกิจกรรมย่อยสลายเกิดขึ้นบนถุงมือยางพารา

3.4 ผลการจำแนกชนิดแบคทีเรีย โดยการหาลำดับเบส16S rRNA

จากการนำแบทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลทมาสกัด ดีเอ็นเอ และเทียบเคียงลำดับเบสของยีนต์ 16S rRNA กับฐานข้อมูลลำดับเบสใน GenBank พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท S2-13 มีลำดับเบสคล้าย *Streptomyces atrovirens* ร้อยละ 100 ส่วน S2-12 มีลำดับเบสคล้าย *Streptomyces* sp. ร้อยละ 99 และ SWT14 มีลำดับเบสคล้าย *Arthrobacter* sp. ร้อยละ 98 ซึ่งสายพันธ์ *Streptomyces* sp. นั้นเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่มแอคทีโนมัยซีส) (Rose et al.,2005) ที่สามารถย่อยสลายยางพาราได้ดี โดยการสร้างเอนไซม์ Latex clearing protein (Lcp) เจริญโดยสามารถสร้างเส้นใยอยู่บนผิวหน้าของอาหาร ในขณะที่ *Arthrobacter* sp. เป็นแบคทีเรียที่สามารถสามารถย่อยสลายยางพาราได้ดีโดยอาศัยการยึดเกาะกับผิวยางมีลักษณะเป็นไบโอฟิล์มและทำการย่อยสลายโดยตรง (Smitha et al., 2012)

4. สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการคัดแยกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตยางพารา พบแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพที่สามารถนำไปใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากยางพาราและย่อยสลายถุงมือยางพาราได้ จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Streptomyces atrovirens*, *Arthrobacter* sp. และ *Streptomyces* sp. โดยเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์นี้สามารถนำพัฒนาในการเพิ่มประสิทธิภาพของระบบบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมยางพารา

5. เอกสารอ้างอิง

ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร สำนักงานปลัดกระทรวงพาณิชย์ (2563). สินค้าส่งออกสำคัญของไทย, ค้นเมื่อ 1 เมษายน 2563 จาก http://tradereport.moc.go.th/

APHA, AWWA and WEF. (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewaters. (20th ed). Washington, D.C.: American Public Health Publisher Inc.

Braaz, R., Fischer, P., & Jendrossek, D. (2004). Novel type of heme-dependent oxygenase catalyzes oxidative cleavage of rubber (poly-*cis*-1,4-isoprene). **Applied and Environmental Microbiology**. 70, 7388–7395.

Chia, K. H., Nanthin,i J., Thottathil, G. P., Najimudin, N., Haris, M. R. H. M., & Sudesh, K. (2014). Identification of new rubber-degrading bacterial strains from aged latex. **Polymer Degradation and Stability**. 109, 354-356.

Imai, S., Ichikawa, K.., Muramatsu, Y., Kasai, D., Masai, E., & Fukuda, M. (2011). Isolation and characterization of Streptomyces, Actinoplanes and Methylibium strains that are involved in degradation of natural rubber and synthetic poly (cis-1, 4-isoprene). **Enzyme and Microbial Technology.** 49, 526-531.

Linos, A., Reichelt, R., Keller, U., & Steinbu, A. (2000). A Gram-negative bacterium, indented as *Pseudomonas aeruginosa* AL98, is a potent degrader of natural rubber and synthetic cis-1, 4-polyisoprene. **FEMS Microbiology Letters.** 182, 155-161.

Pillai, H.P.J.S. & Girish, K. (2014). Rubber processing industry effluent treatment using a bacterial consortium. **International Journal of Current Microbiology and Applied Science**. 3(10), 775-782.

Rose, K., Tenberge, K.B., & Steinbüchel, A. (2005). Identification and characterization of genes from Streptomyces sp. strain K30 responsible for clear zone formation on natural rubber latex and poly (cis-1, 4-isoprene) rubber degradation. **Biomacromolecules**. 6(1), 180-188.

Smitha, H. S. S., Raghavendra, M. P., Shruthi S., & Girish, K. (2012). Bioremediation of rubber processing industry effluent by *Arthrobacter* sp. **International Journal of Research in Environmental Science and Technology**. 2, 31-34.

Watanabe, K. 2001. Microorganisms relevant to bio-remediation. **Current Opinion in Biotechnology**. 12, 237-241.

Yikmis, M., & Steinbüchel, A. (2012). Historical and recent achievements in the field of microbial degradation of natural and synthetic rubber. **Applied and Environmental Microbiology**. 78(13), 4543–4551.

.