การตรวจเอกสาร

1. ไขมันและน้ำมัน

ไขมันและน้ำมัน เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) และออกซิเจน(O) ทั้งไขมันและน้ำมันเป็นสารประกอบประเภทเอสเทอร์ โดยไขมัน (fat) เป็นของแข็ง และน้ำมัน (oil) เป็นของเหลวที่อุณหภูมิ 25° C หน้าที่สำคัญของไขมันและน้ำมันคือ เป็นโครงสร้างสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นแหล่งพลังงานของสิ่งมีชีวิต การเผาผลาญไขมันอย่างสมบูรณ์ จะให้พลังงานประมาณ 9.0 กิโลแคลอรีต่อกรัม ในขณะที่คาร์โบไฮเดรต และโปรตีนให้พลังงาน 4 และ 4.2 กิโลแคลอรีต่อกรัมตามลำดับ นอกจากนั้นไขมันยังช่วยป้องกันอวัยวะภายในอีกด้วย ถ้ารับประทานไขมันและน้ำมันมากเกินความต้องการของร่างกาย ไขมันส่วนที่เหลือจะสะสมไว้ในร่างกาย ไขมันและน้ำมันพบได้ทั้งในสัตว์และพืช ในสัตว์พบไขมันสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อไขมัน เช่น ไขมันวัว ส่วนในพืชมักพบในผลและเมล็ด เช่น มะพร้าว ปาล์ม ถั่วเหลือง เมล็ดฝ้าย เมล็ดทานตะวัน และรำข้าว เป็นต้น (เจริญศรี, 2536)

กรดไขมัน (Fatty acid) กรดไขมันเป็นกรดอินทรีย์ประเภทหนึ่งที่มีหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) เป็นหมู่ฟังก์ชันเหมือนกรดอินทรีย์ทั่ว ๆไป แต่ในโมเลกุลของกรดไขมันมีหมู่คาร์บอกซิล เพียง 1หมู่ต่ออยู่กับสายของไฮโดรคาร์บอนแบบไม่มีกิ่งที่อิ่มตัว หรือไม่อิ่มตัวก็ได้ กรดไขมันจำแนกออกได้เป็น 2 ประเภท คือ กรดไขมันอิ่มตัว และกรดไขมันไม่อิ่มตัว

องค์ประกอบของกรดไขมันในไขมันและน้ำมัน

ไขมันและน้ำมันเป็นเอสเทอร์ที่เกิดจากกรดไขมันทำปฏิกิริยากับกลีเซอรอล สูตรทั่วไปของไขมันและน้ำมัน คือ ส่วนที่มาจากกลีเซอรอล ส่วนที่มาจากกรดไขมัน R_1 , R_2 และ R_3 เป็นหมู่ของไฮโดรคาร์บอน อาจเหมือนกันหรือต่างกันก็ได้ โดยปกติ R_1 และ R_3 ส่วนใหญ่มาจากกรดไขมันชนิดอิ่มตัว ส่วน R_2 มาจากกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ในไขมันหมู่ R ส่วนใหญ่เป็นไฮโดรคาร์บอนชนิดอิ่มตัว ส่วนในน้ำมันหมู่ R ส่วนใหญ่เป็นไฮโดรคาร์บอนชนิดไม่อิ่มตัว ไขมันและน้ำมันที่เกิดจากกรดไขมันเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ในกลีเซอรอลทั้งสามหมู่เรียกว่า ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) (เจริญศรี, 2536)

ไขมันและน้ำมันบางชนิด เกิดจากกรดไขมันเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ในกลีเซอรอล 1 หมู่ หรือ 2 หมู่ ซึ่งเรียกว่า โมโนกลีเซอไรด์ (monoglyceride) และไดกลีเซอไรด์ (diglyceride) ตามลำดับ แต่ไขมันและน้ำมันที่พบมากเป็นไตรกลีเซอไรด์ เนื่องจากไขมันและน้ำมันแต่ละชนิดประกอบด้วยกลีเซอรอลเหมือนกัน แต่กรดไขมันแตกต่างกัน สมบัติของไขมันหรือน้ำมันแต่ละชนิดจึงขึ้นอยู่กับสมบัติของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ เช่น กรดไขมันชนิดอิ่มตัว มีจุด-หลอมเหลวสูงกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว หรือกรดไขมันที่มี

มวลโมเลกุลมากกว่ามีจุดหลอมเหลวสูงกว่า จึงทำให้ไขมันมีจุดหลอมเหลวสูงกว่าน้ำมัน หรือไขมันและน้ำมันใดที่ประกอบด้วยกรด-ไขมันชนิดอิ่มตัวในเปอร์เซ็นต์สูงหรือประกอบด้วยกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนมาก (มวลโมเลกุลมาก) จะมีจุดหลอมเหลวสูงกว่าไขมันและน้ำมันที่ประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในเปอร์เซ็นต์สูงหรือประกอบด้วยกรดไขมันที่มีจำนวนอะตอมของคาร์บอนน้อย (มวลโมเลกุลน้อย) (มนตรี, 2542)

2. เอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ คือตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ (biological catalyst / biocatalyst) เป็นโปรตีนซึ่งทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเคมีในสิ่งมีชีวิต ขบวนการย่อยสารอาหารต่างๆ (catabolism) การสังเคราะห์สารชีวโมเลกุล (anabolism) รวมทั้งการทำงานของฮอร์โมนล้วนต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ทั้งสิ้น การทำงานของเอนไซม์มีลักษณะแบบเดียวกับคาตะลิสต์ (catalyst) ในปฏิกิริยาเคมีทั่วๆ ไป กล่าวคือในระหว่างทำปฏิกิริยาจะมีการใช้เอนไซม์ในปริมาณที่น้อยมาก และเอนไซม์จะไม่มีการแตกสลายหรือเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารอื่นในขณะที่เร่งปฏิกิริยา การทำงานของเอนไซม์เกิดขึ้นได้ทั้งอยู่ในเซลล์หรือในสิ่งมีชีวิต *(in vivo)* และในหลอดทดลอง *(in vitro)* โดยมีเงื่อนไขว่าสภาวะในหลอดทดลอง ได้แก่ พีเอช อุณหภูมิ ตัวทำละลาย และปริมาณไอออนต่างๆ ต้องใกล้เคียงกับสภาวะในเซลล์หรือในร่างกาย (pysiological condition) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการทำหน้าที่เป็นคาตะลิสต์ของเอนไซม์จะไม่ขึ้นกับการมีชีวิตของเซลล์ เราสามารถแยกเอนไซม์ออกมาจากเซลล์หรือส่วนประกอบอื่นๆ ของชีวิต เพื่อนำมาศึกษาได้โดยวิธีการทางเคมีและฟิสิกส์เช่นเดียวกับตัวเร่งของปฏิกิริยาเคมีในระบบไร้ชีวิต (คล้ายอัปสร, 2548)

ไลเปส หรือ triacylglycerol lipase เป็นเอนไซม์ ในกลุ่ม serine hydrolase ไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซีสไตรกลีเซอไรด์ให้เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมัน นอกจากนี้ยังสามารถเร่งปฏิกิริยาผันกลับในระบบที่มีน้ำน้อยหรือระบบที่มีสารอินทรีย์เป็นตัวทำละลาย ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมและสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาได้หลายอย่าง เช่น hydrolysis และ transrification ซึ่งประกอบด้วย acidolysis, alcoholysis, ester exchange และ amylolysis และการสังเคราะห์ ซึ่งปฏิกิริยาการย่อยสลายโดยเอนไซม์ไลเปสจะเปลี่ยนจาก ไตรกลีเซอไรด์เป็นกลีเซอรอล และกรดไขมัน (กิตติเดช และคณะ, 2534)

ในมนุษย์ ไลเปสจะถูกสร้างขึ้นในตับอ่อนและหลั่งออกที่ลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ซึ่งไลเปสจะทำหน้าที่ร่วมกับน้ำดีในการย่อยอาหารจำพวกไขมัน นอกเหนือนี้ยังมีไลเปสที่ไวต่อระดับฮอร์โมน ซึ่งทำหน้าที่สลายพวกเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) เพื่อรักษาระดับพลังงานของร่างกายยามที่ร่างกายขาดแคลนพลังงานด้วย ไลเปสที่ไวต่อระดับฮอร์โมนนี้ทำงานภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนหลายชนิดได้แก่ อินซูลิน ซึ่งจะยับยั้งการทำงานของไลเปสเมื่อระดับสารอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาลกลูโคสในกระแสโลหิตสูงขึ้น หลังจากการกินอาหาร อินซูลินยังสามารถยับยั้งไม่ให้ร่างกายสลายเนื้อเยื่อไขมัน และยังจะไปส่งเสริมให้ร่างกายสร้างเนื้อเยื่อไขมันอีกด้วย ส่วนฮอร์โมนจำพวกอิพิเฟริน (epinephrine) นอร์อิพิเนฟริน (norepinephrine) กลูคากอน (glucagons) อะดรีโนคอร์ติโคทรอปิคฮอร์โมน (adrenocorticotropic hormone: ACTH) ฮอร์โมนกระตุ้นเมลาโนซัยต์ชนิดอัลฟาและเบตา (alpha and beta-melanocyte

stmulating hormones) และโกวธ์ฮอร์โมน (growth hormone) ฮอร์โมนเหล่านี้จะส่งเสริมการทำงานของไลเปสให้มีการย่อยสลายเนื้อเยื่อไขมัน ในขณะที่ร่างกายกำลังต้องการพลังงานอย่างเร่งด่วน หรือในขณะที่แหล่งพลังงานอย่างคาร์โบไฮเดรตไม่เพียงพอแก่ความต้องการ เช่นเดียวกับกรณีของเอ็นไซม์อะมิเลส (มนตรี, 2542)

ไลเปส เป็นเอนไซม์ที่ใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่าง ๆ การผลิตไลเปสสามารถทำได้โดยการสกัดจากเซลล์พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ปัจจุบันไลเปสส่วนใหญ่ได้จากจุลินทรีย์ เนื่องจากผลิตได้ปริมาณมาก กระบวนการผลิตและการเก็บเกี่ยวไม่ซับซ้อน อย่างไรก็ตามเนื่องจากไลเปสที่ได้จากแต่ละแหล่งมีคุณสมบัติแตกต่างกัน ดังนั้นการนำไลเปสไปใช้จึงต้องเลือกไลเปสให้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ การผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์มีข้อได้เปรียบกว่าจากสิ่งมีชีวิตชั้นสูงในด้านสามารถนำไปใช้ในปฏิกิริยาที่ขึ้นกับอุณหภูมิต่างๆ นอกจากนี้ยังเจริญเร็ว วิธีการเพาะเลี้ยงไม่ยุ่งยาก และง่ายต่อการควบคุม การผลิตเอนไซม์ จึงมีแนวโน้มที่จะอาศัยจุลินทรีย์เป็นแหล่งผลิตเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นความก้าวหน้าอย่างหนึ่งทางเทคโนโลยีด้านชีวภาพ ที่พยายามใช้สิ่งมีชีวิตที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์มากที่สุด เพื่อแก้ปัญหาต่าง ๆ ทั้งด้านการผลิต การกำจัดของเสีย รวมทั้งการนำของเสียเหล่านั้นกลับมาใช้ประโยชน์อีก (Shama *et al*, 2001)

อัตราการทำงานของเอนไซม์ทุกชนิดมีสถานะทางกายภาพ (physical state) ความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา (catalytic function) และเสถียรภาพ ขึ้นอยู่กับปัจจัยสำคัญหลายชนิด เช่น อุณหภูมิ พีเอช เอนไซม์แต่ละชนิดจะมีช่วงอุณหภูมิที่ทำงานได้ดีที่สุด (optimum temperature) โดยทั่วๆ ไปจะอยู่ประมาณ 25 - 40 องศาเซลเซียส การเพิ่มอุณหภูมิทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นเนื่องจากโมเลกุลมีพลังงานจลน์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะนำไปใช้กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาได้ แต่ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปปฏิกิริยาจะลดลง ทั้งนี้เพราะเอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนจะเกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denature) จึงเข้ารวมกับซับสเตรทไม่ได้ การที่พอลิเพปไทด์ที่ม้วนเป็นก้อนโปรตีนคลายตัวเมื่อได้รับความร้อนเนื่องจากพันธะที่ยึดระหว่างสายของพอลิเพปไทด์ เช่น พันธะไดซัลไฟด์จะสลายตัว แต่เมื่ออุณหภูมิลดลงโปรตีนจะคืนสภาพเดิมได้อีกเพราะมีการสร้างพันธะขึ้นมาใหม่อีกครั้ง นอกจากนี้เอนไซม์แต่ละชนิดจะทำงานได้ดีที่สุดในสภาวะที่มีพีเอชเหมาะสม (optimum pH) ที่แตกต่างกัน เช่น เปปซิน มีค่าพีเอชเหมาะสมเท่ากับ 1.5-2.5 ซูเครส มีค่าพีเอชเหมาะสมเท่ากับ 6.2 ไลเปสมีค่าพีเอชเหมาะสมเท่ากับ 7.0 และทริปซินมีค่าพีเอชเหมาะสมเท่ากับ 8-11 เป็นต้น (วิภูมิ, 2545)

3. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กิตติเดช และคณะ (2534) ศึกษาหาวิธีที่รวดเร็วสำหรับการคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสได้สูง โดยอาศัยการเปลี่ยนสีของ bromocresol purple (BCP) ซึ่งเติมลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ เปรียบเทียบกับการใช้บริเวณใสของ emulation tributyrin agar จากเชื้อ 191 ไอโซเลท พบว่าวิธีวัดการเปลี่ยนสีของ BCP เป็นวิธีที่รวดเร็วกว่า แม้จะมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับวิธีการวัดบริเวณใสบน emulation tributyrin agar พบว่าแบคทีเรียสามารถเปลี่ยนสี BCP ได้รวดเร็ว ซึ่งเมื่อวัดปริมาณเอนไซม์ด้วยกิจกรรมเอนไซม์ พบว่าสามารถ

สังเคราะห์เอนไซม์ได้สูง การวัดการเปลี่ยนสีของ BCP จึงเป็นวิธีที่รวดเร็วที่นำมาใช้คัดเลือกเบื้องต้นสำหรับแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสได้สูง

เกศสุคนธ์ (2538) คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยไขมัน พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Geotrichum candidum* มีประสิทธิภาพในการย่อยไขมันสูงสุดภายในเวลา 36 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และสามารถลดค่า BOD ในน้ำเสียสังเคราะห์ได้ 64.82 เปอร์เซ็นต์ และมีไขมันเหลืออยู่ 43.3 เปอร์เซ็นต์

สุวรรณา และคณะ (2540) ศึกษาจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายไขมัน โดยทำการแยกเชื้อด้วยวิธี double layer technique พบว่ามี 33 isolates สามารถเปลี่ยนสีของ bromocresol purple ได้อย่างรวดเร็วภายใน 6 ชั่วโมง เมื่อนำมาหากิจกรรมของไลเปส โดยไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่าสายพันธุ์ $1A_{42}$ และ $2C_8$ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการผลิตไลเปส โดยเชื้อสายพันธุ์ $1A_{42}$ ให้กิจกรรมไลเปสสูงสุดเมื่อเลี้ยงใน 2% sucrose, 0.15% yeast extract, 0.09% K_2HPO_4 , 0.06% KH_2PO_4, 0.02% $MgSO_4.7H_2O$, 0.5% $CaCO_3$, pH 7.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนสายพันธุ์ $2C_8$ จะให้กิจกรรมไลเปสสูงสุดเมื่อเลี้ยงใน 2% dextrose, 0.15% beef extract, 0.09% K_2HPO_4 , 0.06% KH_2PO_4, 0.02% $MgSO_4.7H_2O$, 0.5% $CaCO_3$, pH 7.0 อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ภาวิณี (2541) ศึกษาการแยกแบคทีเรียเทอร์โมไฟล์ที่ผลิตไลเปสสำหรับการแปรรูปไขมันและน้ำมันในน้ำเสียในอุตสาหกรรมการผลิตแหนมให้เป็นสารที่มีราคา เช่นกรดไขมันและเอสเทอร์ของแบคทีเรียเทอร์โมไฟล์ที่ผลิตไลเปส ถูกแยกจากตัวอย่างดินและน้ำ 10 ตัวอย่าง ซึ่งเก็บมาจากบ่อน้ำร้อนเทพพนม ป่าแป๋ และฟาง แบคทีเรีย 5 ชนิดถูกคัดแยกจาก 38 ชนิด ด้วยการเปรียบเทียบบริเวณสีน้ำเงินเขียวบนอาหารวุ้น แบคทีเรีย T63 ถูกคัดเลือกไว้เพื่อการเตรียมไลเปส เนื่องจากมีการผลิตไลเปสและส่งออกมานอกเซลล์มากที่สุด โดยไลเปสมีกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส และพีเอช 6 หลังจากเก็บไว้ที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1ชั่วโมงทำให้แอคติวิตีลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ การระเหิดแห้งสารละลายไลเปสดิบ 1 ลิตร ทำให้ได้ไลเปสผง 7.02 กรัม ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์เหลือ 90.01 เปอร์เซ็นต์

จุรีรัตน์ (2541) นำตัวอย่างดินและน้ำที่มีน้ำมันปนเปื้อนจำนวน 98 ตัวอย่างจากบริเวณที่มีอุณหภูมิสูงของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 5 โรงงาน สามารถคดแยกแบคทีเรีย ที่สร้างวงใสบนอาหารที่มีน้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อศึกษาสมบัติบางประการด้านสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมีของแบคทีเรียที่สร้างวงใสได้กว้างที่สุด 3 สายพันธุ์ โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp. PS15 ให้กิจกรรมของไลเปสสูงสุดคือ 0.15 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ 36 ชั่วโมง ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญและการผลิตไลเปสโดย *Bacillus* sp. PS15 ในอาหารซึ่งมี K_2HPO_4 0.18 เปอร์เซ็นต์ $MgSO_4$ $7H_2O$ 0.03 เปอร์เซ็นต์ และกัมอราบิค 0.10 เปอร์เซ็นต์ ให้การผลิตไลเปสสูงสุดคือ 0.38 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ 48 ชั่วโมง ในสภาวะการเลี้ยงคือ พีเอชเริ่มต้น 7.0 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไลเปสโดย *Bacillus* sp. โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตไลเปส พบว่าสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมคือ พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส การศึกษาคุณสมบัติของไลเปสในน้ำหมักจาก *Bacillus* sp. PS15 พบว่าพีเอชและอุณหภูมิ ที่

เหมาะสมต่อการทำงานเท่ากับ 9.5 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และมีความคงตัวสูงในพีเอช ช่วง 9.0-9.5 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอนไซม์มีกิจกรรมคงเหลือมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ และกิจกรรมลดลงเหลือ 31 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

พิชญ์นาฏ (2546) นำตัวอย่างดินและน้ำเสียจากร้านอาหาร ตลาด และบ้านเรือน มาคัดแยกแบคทีเรียผลิตไลเปสด้วยอาหารที่ประกอบด้วยน้ำมันมะกอกได้ 37 ไอโซเลท นำมาคัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างบริเวณใสได้ดีในอาหาร tributyrin agar จำนวน 10 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการอยู่รอดในอาหารผสมน้ำมันถั่วเหลือง ได้แบคทีเรียจำนวน 3 ไอโซเลท คือ L1, L2 และ L3 จึงนำมาศึกษาการย่อยสลายน้ำมันถั่วเหลืองในน้ำเสียสังเคราะห์ในระบบบำบัดแบบแอคติเวตเต็ดสลัดจ์ ผลการทดลองศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันถั่วเหลือง ซีโอดี และบีโอดี ในระบบบำบัดแบบแอคติเวตเต็ดสลัดจ์ พบว่า ชุดควบคุมสามารถลดค่าน้ำมันถั่วเหลือง ซีโอดี และบีโอดี ได้เท่ากับ 90.9, 84.1 และ 85.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ชุดที่มีการเติมแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ L1, L2 และ L3 สามารถลดค่าน้ำมันถั่วเหลือง ซีโอดี และบีโอดี ได้เท่ากับ 97.5, 86.3 และ 87.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ชุดที่มีการเติมแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ L1, L2, L3, *Acinetobacter* sp. และ *Yarrowia* sp. สามารถลดค่าน้ำมันถั่วเหลือง ซีโอดี และบีโอดี ได้เท่ากับ 97.5, 86.5 และ 87.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลจากการติดตามความสามารถในการคงอยู่ในระบบของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ L1, L2 และ L3 รวมทั้ง *Acinetobacter* sp. และ *Yarrowia* sp. โดยใช้ยาปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอล พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถเจริญอยู่ในระบบบำบัดแบบแอคติเวตเต็ดสลัดจ์ได้ตลอดการทดลอง แสดงว่าจุลินทรีย์ที่เติมลงไปน่าจะใช้ในระบบบำบัดจริงได้ ทั้งนี้จะต้องทดลองในระดับขยายขนาดต่อไป

ปราณี (2548) คัดเลือกแบคทีเรียจากน้ำทิ้งของร้านอาหารและภัตราคารในเขตจังหวัดอุบลราชธานี ได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมันได้ดีและเจริญที่อุณหภูมิสูง (อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส) จำนวน 4 ไอโซเลท คือ PTL36, PTL38, PTL41 และ PTL44 นอกจากนี้ยังพบว่าสับสเตรทที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของไลเปสที่สังเคราะห์จากไอโซเลท PTL36 และ PTL44 คือ น้ำมันมะกอก สับสเตรทที่เหมาะสมต่อกิจกรรมไลเปสที่สังเคราะห์จากไอโซเลท PTL38 และ PTL41 คือ น้ำมันถั่วเหลือง นอกจากนี้ไลเปสจากไอโซเลท PTL38 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันข้าวโพด น้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์มโอรีนได้สูงกว่าไลเปสที่สังเคราะห์จากไอโซเลท PTL36, PTL41 และ PTL44

Okuda Shin-Ichi และคณะ (1991) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยไขมันวัว น้ำมันหมู น้ำมันมะกอก และน้ำมันสลัดที่ใช้แล้วได้ดีคือแบคทีเรีย *Bacillus* sp. และเมื่อนำแบคทีเรียนี้มาทดสอบการบำบัดน้ำเสียด้วยระบบ water circular system พบว่าไขมันถูกกำจัดได้เกือบสมบูรณ์ โดยไม่ต้องผ่านการบำบัดทางกายภาพ

Emanuilova และคณะ (1993) ทำการคัดแยกแบคทีเรียชอบอุณหภูมิสูงที่สังเคราะห์ไลเปสจากบ่อน้ำพุร้อน ประเทศบัลกาเรีย โดยการเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่คัดแยกได้มีกิจกรรมของไลเปสประมาณ 0.5 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราว มีเพียงสามสายพันธุ์ที่มีกิจกรรมระหว่าง 1.0-3.0 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ *Bacillus* sp. MC7 มีกิจกรรมไลเปสสูงสุด 2.0-3.0 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี Tween-80 เป็นองค์ประกอบ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

Lee Dong-Woo และคณะ (1999) ศึกษาคุณสมบัติของไลเปสที่ชอบร้อน (thermophilic lipase) จาก *Bacillus thermoleovorans* ID-1 ซึ่งแยกจากน้ำพุร้อน ประเทศอินโดนีเซีย พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำมันมะกอกเป็นแหล่งคาร์บอน เชื้อให้อัตราการเจริญสูงสุดที่ 65 องศาเซลเซียส และให้กิจกรรมไลเปสสูงสุดในช่วงที่มีการเจริญของเชื้อ (exponential phase) เท่ากับ 520 ยูนิตต่อลิตร เชื้อสามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันมะกอก น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันมินเนอรอล ไตรกลีเซอไรด์ Tween 20 และ Tween 80 เป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้ยังพบว่าไลเปสมีกิจกรรมที่เหมาะสมอยู่ที่อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียส พีเอช 7.5 และยังมีกิจกรรมเหลือถึง 50 เปอร์เซ็นต์ หลังการบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และบ่มที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

Wakelin และ Forster (1997) ได้นำจุลินทรีย์มาใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากภัตตาคารอาหารจานด่วน และพบว่า *Acinetobacter* sp. สามารถย่อยสลายไขมันและน้ำมัน (8 กรัมต่อลิตร) ได้ 60-65 เปอร์เซ็นต์

Pencreach และ Baratti (1997) รายงานว่าไลเปสที่ถูกตรึงบนสารพยุงพอลิพอร์โพลีนมีกิจกรรมจำเพาะ (specific activity) สูงขึ้นเท่ากับ 16.5 และ 7.8 เท่าในการไฮโดรไลซ์ *p*-nitrophenyl palmitate (pNPP) และ *p*-nitrophenyl acetate (pNPA) ในอาหารเลี้ยงเชื้ออินทรีย์ ตามลำดับ

Dharmsthiti และ Kuhasuntisuk (1998a) ศึกษาการย่อยสลายไขมันในน้ำเสียจากภัตตราคาร พบว่า การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในน้ำเสียเกิดขึ้นค่อนข้างช้า ค่า BOD ยังคงเหลืออยู่ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังการบำบัด 30 วัน สำหรับน้ำเสียที่มีการเพาะบ่มด้วย *P. aeruginosa* LP602 พบว่าเมื่อครบ 30 วัน ค่า BOD ลดลงเหลือ 11.8 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อนำไลเปสที่สกัดแยกจากการเพาะเลี้ยง *P. aeruginosa* LP602 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มาบำบัดน้ำเสียชนิดเดียวกัน ปริมาณไขมันลดลง 70 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 24 ชั่วโมง และหลังจาก 48 ชั่วโมง ไม่มีปริมาณไขมันเหลืออยู่

Dharmsthiti และ Kuhasuntisuk (1998b) รายงานคุณสมบัติของไลเปสจากเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* LP 602 ซึ่งแยกจากตัวอย่างน้ำทิ้ง พบว่าเชื้อมีกิจกรรมของไลเปสสูงสุดที่พีเอช 8.0 และยังคงมีกิจกรรมมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ หลังการบ่มที่พีเอช 8.0 เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ไลเปสที่สังเคราะห์จาก *P. aeruginosa* สามารถย่อยสลายไขมันและน้ำมันได้หลายชนิด มีกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส แต่กิจกรรมจะลดลงเหลือ 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 2 ชั่วโมง

Vemuri และคณะ (1998) ได้ทดลองนำเปลือกไข่และอัลจิเนทมาใช้เป็นวัสดุในการตรึงไลเปสและศึกษาคุณสมบัติทางไคนีติคส์เปรียบเทียบกับไลเปสอิสระ พบว่าความเร็วในการเกิดปฏิกิริยาของไลเปสอิสระ ไลเปสที่ดูดซับบนเปลือกไข่และไลเปสที่ถูกห่อหุ้มด้วยอัลจิเนท มีค่าเท่ากับ 53.779 IU, 37.450 IU, 31.543 IU ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าไลเปสที่ดูดซับบนเปลือกไข่ สามารถนำมาใช้ซ้ำได้แปดครั้ง ในขณะที่นำไลเปสที่ถูกห่อหุ้มด้วยอัลจิเนทมาใช้ซ้ำได้เพียงสี่ครั้ง

Dharmsthiti และ Luchai (1998) ได้นำไลเปสที่ผลิตโดย *Aeromonas sobria* LP094 มาตรึงแบบอิออน (ionic binding) ด้วย IR20 และ IRC50 พบว่าไลเปสที่ถูกตรึงยังคงมีกิจกรรมมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเก็บที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) หรือที่ 4 องศาเซลเซียส และหลังจากการใช้ซ้ำห้าครั้ง ไลเปสที่ถูกตรึงทั้งสองชนิดยังคงมีกิจกรรมมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์

Becker และคณะ (1999) ศึกษาการย่อยสลายน้ำมันมะกอกและการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันสูงจากโรงงานฟอกขนสัตว์ภายใต้การให้อากาศ ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส โดยใช้แบคทีเรีย *Bacillus thermoleovorans* IHI-91 พบว่าการเจริญของแบคทีเรียจะถูกยับยั้งเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันมะกอกเพิ่มขึ้นมากกว่า 4 g COD/L การบำบัดไขมันในน้ำเสียที่มีค่า COD เท่ากับ 77,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ไขมันมีความเข้มข้น 17,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดขึ้น 20-30 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 10-20 ชั่วโมง ในขณะที่ค่า COD ลดลง 15-20 เปอร์เซ็นต์

Markossian และคณะ (2000) ศึกษาคุณสมบัติของการย่อยสลายไขมันของ *Bacillus thermoleovorans* IHI-91 ที่แยกจากน้ำพุร้อน พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 และให้กิจกรรมไลเปสสูงสุดเท่ากับ 300 ยูนิตต่อลิตร เชื้อสามารถเจริญในอาหารที่มีกรดปาร์มิคติท (palmitic acid) กรดสเตรียด์ริค (stearic acid) ลาโนริน (lanolin) น้ำมันมะกอก น้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันปลา เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน โดยไม่ต้องการเติมสารจำเป็นต่อการเจริญ (growth factor) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้ออีก

Haba และคณะ (2000) คัดเลือกแบคทีเรียที่สังเคราะห์ไลเปสโดยใช้น้ำมันประกอบอาหารเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าเมื่อใช้น้ำมันมะกอกและน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน เป็นสับสเตรท สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ได้ 47 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas, Bacillus, Candida, Rhodococcus* และ *Straphylococcus* และพบว่าเมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *Pseudomonase* sp. 3AT (2748 ยูนิตต่อลิตร) และ *Pseudomonase aeruginisa* ATCC 111 (1703.8 ยูนิตต่อลิตร) ในน้ำมันประกอบอาหารที่ใช้แล้ว แบคทีเรียจะให้กิจกรรมไลเปสสูงสุดเมื่อใช้อัตราส่วนของน้ำมันมะกอกและน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวันเท่ากับ 1:1

Kulkarni และ Gradre (2002) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไลเปสจากเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* NS2W พบว่าเชื้อจะให้กิจกรรมของไลเปสสูงสุดเท่ากับ 69.7 และ 68.7 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เมื่อผลิตในขวดรูปชมพู่และถังหมักขนาดหนึ่งลิตร ตามลำดับ ไลเปสที่ผลิตได้มีกิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 9.0 และยังคงมีกิจกรรมมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อบ่มในช่วงพีเอช 3-11 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ไลเปสมีกิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และทนต่ออุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส โดยมีกิจกรรมมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ได้อย่างน้อย 2 ชั่วโมง เมื่อศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตไลเปส พบว่าเชื้อสามารถใช้นำมันพืชเป็นสับสเตรทได้ดีกว่าน้ำตาลเฮกโซส น้ำตาลเพนโตสและใช้น้ำตาลโมเลกุลคู่และพอลีแซกคาไรด์ได้น้อยที่สุด

Mongkolthanaruk และ Saovanee (2002) ใช้เชื้อผสมระหว่าง *Pseudomonas aeruginosa* LP602, *Bacillus* sp. B304 และ *Acinetobacter calcoaceticus* LP009 ซึ่งเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่ปนเปื้อนไขมัน พบว่าค่า BOD (3,500 มิลลิกรัมต่อลิตร) และปริมาณไขมัน (20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร) ลดลงเหลือน้อยกว่า 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใน 12 วัน ภายใต้สภาวะมีออกซิเจน

Leal และคณะ (2002) นำสารสกัดที่มีกิจกรรมไลเปสสูงที่ได้จากการผลิตของ *Penicilium restritum* โดยการหมักบนอาหารแบบแข็ง (solid state fermentation) มาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันสูงจาก

โรงงานผลิตภัณฑ์นม โดยนำน้ำเสียมาผ่านการย่อยสลายด้วยสารสกัดไลเปส (10% v/v) ที่มีกิจกรรมเท่ากับ 2.1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยไม่มีการเขย่า จากนั้นนำน้ำเสียที่ผ่านการย่อยสลายและไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยไลเปสเข้าสู่การบำบัดทางชีวภาพแบบไม่ให้อากาศในฟลาสก์ขนาด 120 มิลลิลิตรที่ปิดสนิท พบว่าน้ำเสียที่ผ่านการย่อยสลายด้วยไลเปสมีค่า COD ลดลง 80-95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่น้ำเสียที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยไลเปสมีค่า COD ลดลง 19-55 เปอร์เซ็นต์ เมื่อน้ำเสียมีความเข้มข้นของไขมันและน้ำมันในระดับต่างๆ

Kambourova และคณะ (2003) รายงานคุณสมบัติของไลเปสบริสุทธิ์จากเชื้อทนอุณหภูมิสูง *Bacillus stearothermophilus* MC7 จากการศึกษาด้วย sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) พบว่ามวลโมเลกุลของเอนไซม์มีขนาดเท่ากับ 62,500 Da เอนไซม์บริสุทธิ์มีกิจกรรมสูงสุดที่ 75-80 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 7.5-9.0 ไลเปสยังคงมีกิจกรรมเหลืออยู่ 50 เปอร์เซ็นต์ หลังการบ่มที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อใช้ *p*-nitrophenyl palmitate เป็นสารตั้งต้น ไลเปสมีค่า K_m และ V_{max} เท่ากับ 0.33 mM และ 188 μM/min/mg ตามลำดับ กิจกรรมของไลเปสจะถูกยับยั้งโดย divalent ions โลหะหนักที่มีอิออนคู่ สารยับยั้งไทออลและเซอรีน ในขณะที่อิออนของแคลเซียมจะกระตุ้นกิจกรรมของไลเปส

Jeganathan และคณะ (2006) นำไลเปสที่ผลิตจาก *Candida rugosa* มาตรึงในรูปของเม็ดบีทแคลเซียมอัลจิเนท และนำไปศึกษาการย่อยสลายไขมันและน้ำมันในน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์เลี้ยง จากการทดลองพบว่าด้วยปฏิกิริยาของเอนไซม์ ไขมันและน้ำมันในน้ำเสียถูกย่อยสลายไป 50 เปอร์เซ็นต์ หลังการบำบัดสามวัน พบว่า 65 เปอร์เซ็นต์ของเม็ดบีทแคลเซียมอัลจิเนท ยังคงมีกิจกรรมไลเปสเหลืออยู่ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์