สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การคัดเลือกแบคทีเรียย่อยสลายน้ำมันเครื่องรถยนต์

นางสาว นวรัตน์ ชัยวณิชยา
นางสาว นาฎอนงค์ เจริญสันติสุข
นางสาว สกุลพิชญ พรหมสิงห์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 47315
วัน, เดือน, ปี 27 มิ.ย. 2546

.b.....
.i.....

โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolation of used car-engine oil degrading bacteria

Miss Nawarat Chivanijchaya

Miss Nardanong Charoensuntisuk

Miss Sakunpitchaya Promsing

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of

Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การคัดเลือกแบคทีเรียย่อยสลายน้ำมันเครื่องรถยนต์

นักศึกษา นางสาวนวรัตน์ ชัยวณิชยา

นางสาวนาฎอนงค์ เจริญสันติสุข

นางสาวสกุลพิชญ พรหมสิงห์

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์กุลวดี ทองภูเบศร์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อนุมัติให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของของการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง	
กรรมการ อาจารย์กุลวดี ทองภูเบศร์	
กรรมการ ผศ. มาริสา จาตุพรพิพัฒน์	

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การคัดเลือกแบคทีเรียย่อยสลายน้ำมันเครื่องรถยนต์
นักศึกษา	นางสาวนวรัตน์ ชัยวณิชยา
	นางสาวนาฎอนงค์ เจริญสันติสุข
	นางสาวสกุลพิชญ พรหมสิงห์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สาขา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2545
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์กุลวดี ทองภูเบศร์

บทคัดย่อ

ในการศึกษาความสามารถในการย่อยน้ำมันเครื่องของเชื้อแบคทีเรียจากการทดลองซึ่งแยกได้จากสิ่งแวดล้อม จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยอาหาร Nutrient agar (NA) ได้เชื้อทั้งหมด 84 ไอโซเลต และเมื่อทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ย่อยน้ำมันเครื่องบนอาหาร Bushnell Hass (BH) oil agar พบว่า ได้เชื้อที่ย่อยสลายน้ำมันเครื่อง 74 ไอโซเลต คิดเป็น 88.09 เปอร์เซ็นต์ของไอโซเลตทั้งหมดที่แยกได้จาก NA โดยแหล่งตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ EX 16 ซึ่งคัดเลือกได้จากดินของท่อน้ำทิ้งนิคมอุตสาหกรรมบางปู จ. สมุทรปราการ ประกอบด้วยแบคทีเรีย 4 ไอโซเลต เมื่อนำกลุ่มเชื้อจาก EX 16 มาศึกษาการย่อยน้ำมันเครื่องโดยใช้ 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth เพาะเลี้ยงที่ความเร็วรอบ 200 rpm ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน จากการตรวจวิเคราะห์น้ำมันเครื่องที่เหลือโดยใช้น้ำหนักแห้งของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของแบคทีเรีย และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยวิธี plate count พบว่า มีเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือ 19.96 เปอร์เซ็นต์ และมีแบคทีเรียที่เหลือในวันที่ 7 คือเชื้อ C-63 และเมื่อนำ C-63 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนสั้น ลักษณะโคโลนีมีสีขาว ผิวด้าน มาศึกษาการย่อยน้ำมันเครื่อง พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือเท่ากับ 24.54 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 และจากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันเครื่องระหว่างกลุ่มเชื้อกับเชื้อบริสุทธิ์ จากเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือในวันที่ 7 พบว่า กลุ่มเชื้อและเชื้อบริสุทธิ์ให้ผลการย่อยที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Isolation of used car-engine oil degrading bacteria
Name	Miss Nawarat Chaivanijchaya
	Miss Nardanong Charoensuntisuk
	Miss Sakunpitchaya Promsing
Department	Applied Biology
Program	Biotechnology
Academic Year	2002
Special Project Advisor	Miss Kulwadee Tongpubesra

Abstract

From the bacteria isolation on Nutrient Agar (NA), 84 isolates of bacteria were collected from soil and water samples. The isolates were then screened on 0.5% Bushnell Hass (BH) oil agar by replica plating technique. 74 isolates of used car-engine oil degrading bacteria were selected. The percentage of used car-engine oil degrading bacteria was 88.09% from total bacteria screening on NA. EX 16 was the sampling area that had the highest efficient oil degrading bacteria which was taken from soil in the wastewater pipe of an industrial settlement, Bangpoo, Samutprakarn. To study the efficiency of used car-engine oil biodegradation, mixed culture of EX 16 was inoculated into 0.5% BH-oil broth, and incubated at room temperature, 200 rpm for 7 days. The oil degrading activity was measured by the dry weight of the remaining oil. Growth of microorganisms was measured by plate count technique on NA. The percentage of the remaining oil from degradation by mixed culture was 19.96%. C-63 is the only isolate that remained in culture broth on day 7 of oil degradation. Isolate C-63 was gram negative, short rod, white colony, and had oil degrading activity. The percentage of remaining oil from degradation by C-63 was 24.54%. However, the statistical comparison of the remaining oil from degradation by mixed culture and pure culture on day 7 were not significantly different, at the 95% confidence.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอกราบขอบคุณ อาจารย์กุลวดี ทองภูเบศร์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้ข้อแนะนำปรึกษาและตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษและขอบคุณ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง ประธานกรรมการโครงงานพิเศษ และ ผศ. มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ กรรมการโครงงานพิเศษ ที่ช่วยตรวจสอบแก้ไขโครงงานพิเศษให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุก ๆ ท่านที่ให้คำปรึกษาและแสดงความคิดเห็นต่อการวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน

ขอขอบพระคุณบิดาและมารดา ที่สนับสนุนและส่งเสริมการศึกษาของคณะผู้วิจัยด้วยดีตลอดมาและขอขอบคุณ พี่ ๆ น้อง ๆ และเพื่อน ๆ ที่ได้ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้ตลอดมา

นางสาวนวรัตน์ ชัยวณิชยา
นางสาวนาฏอนงค์ เจริญสันติสุข
นางสาวสกุลพิชญ พรหมสิงห์
มีนาคม 2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อโครงงานพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อโครงงานพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1. ความสำคัญ ที่มาและวัตถุประสงค์ของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์ของการทำโครงงานพิเศษ	2
3. ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
1. น้ำมัน	3
2. การรั่วไหลของน้ำมันในสภาพแวดล้อม	8
3. วิธีการกำจัดคราบน้ำมัน	12
4. กระบวนการเมตาบอลิซึมของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนโดยจุลินทรีย์	22
5. จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมัน	27
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 อุปกรณ์	30
3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	30
3.3 น้ำมันเครื่องรถยนต์	32
3.4 วิธีการทดลอง	32
3.5 การวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่เหลือจากการย่อยน้ำมันเครื่องรถยนต์ด้วยจุลินทรีย์	35

เอกสารนี้เป็นเอกสาร[illegible]เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปราย	
4.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องจากแหล่งต่าง ๆ ในธรรมชาติ	36
4.2 การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันเครื่องของเชื้อที่คัดเลือกได้	41
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	53
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก ก. ตารางแสดงผลการทดลอง	58
ภาคผนวก ข. เทคนิคทางจุลชีววิทยา	65
ภาคผนวก ค. การคำนวณทางสถิติ	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของน้ำมันเครื่อง	6
ตารางที่ 2.2	ส่วนประกอบพื้นฐานของน้ำมันเครื่องรถยนต์	7
ตารางที่ 2.3	ความสำคัญของวิตามินต่อจุลินทรีย์	20
ตารางที่ 2.4	แบคทีเรียและราที่สามารถย่อยสลายน้ำมัน	28
ตารางที่ 3.1	รายชื่อสารเคมี	30
ตารางที่ 3.2	แหล่งตัวอย่างที่นำมาคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์	33
ตารางที่ 4.1	ลักษณะแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่างต่าง ๆ	36
ตารางที่ 4.2	ผลการย่อยน้ำมัน โดยเชื้อแบคทีเรียในแต่ละแหล่งตัวอย่าง เทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำมันเครื่องรถยนต์ที่เหลือจากการย่อย หลังจากเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร BH-oil broth เป็นเวลา 7 วัน	42
ตารางที่ 4.3	เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือของกลุ่มเชื้อและเชื้อบริสุทธิ์ จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร BH-oil broth	51
ตารางภาคผนวกที่ ก-1	เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อย ของกลุ่มเชื้อต่าง ๆ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน	58
ตารางภาคผนวกที่ ก-2	น้ำหนักแห้ง (dried weight) ของน้ำมันเครื่องที่เหลือ จากการย่อยของกลุ่มเชื้อต่าง ๆ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน	59
ตารางภาคผนวกที่ ก-3	น้ำหนักแห้ง ของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อย ของกลุ่มเชื้อต่าง ๆ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน	60
ตารางภาคผนวกที่ ก-4	เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อย ของกลุ่มเชื้อ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางภาคผนวกที่ ก-5	การตรวจสอบการเจริญของกลุ่มเชื้อ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน	61
ตารางภาคผนวกที่ ก-6	น้ำหนักแห้ง ของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อย ของเชื้อบริสุทธิ์ต่าง ๆ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน	62
ตารางภาคผนวกที่ ก-7	น้ำหนักแห้ง ของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อย ของเชื้อบริสุทธิ์ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน	63
ตารางภาคผนวกที่ ก-8	ผลการย่อยน้ำมันเครื่องรถยนต์โดยเชื้อบริสุทธิ์ ในอาหาร0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน	63
ตารางภาคผนวกที่ ก-9	การตรวจสอบการเจริญของเชื้อบริสุทธิ์ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 ตัวอย่างโครงสร้างสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอะลิฟาติกส์ 3
รูปที่ 2.2 ตัวอย่างโครงสร้างสารประกอบวงแหวน 4
รูปที่ 2.3 การแพร่กระจายของน้ำมันลงดิน 9
รูปที่ 2.4 วิถี Monoterminal ของ hexadecane โดยเชื้อ *Acinetobacter* sp. H01-N 22
รูปที่ 2.5 วิถี Subterminal alkane โดยเชื้อ *Pseudomonas* 23
รูปที่ 2.6 วิถี diterminal ของอัลเคน 24
รูปที่ 2.7 วิถี pristane oxidation โดย *Brevibacterium erythrogens* 25
รูปที่ 2.8 วิถีการย่อยสลายของ cyclohexane โดยเชื้อ *Norcadia* ที่คัดเลือกจากเลนปากแม่น้ำ 26
รูปที่ 2.9 กระบวนการสลายอัลเคน 27
รูปที่ 4.1 ลักษณะโคโลนีและการติดสีแกรมของเชื้อที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่าง EX16 44
รูปที่ 4.2 อัตราการเจริญและเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้เชื้อผสมที่เพาะเลี้ยงใน 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน 45
รูปที่ 4.3 ลักษณะของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้เชื้อผสมที่เพาะเลี้ยงใน 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm ณ วันที่ 0 และวันที่ 7 46
รูปที่ 4.4 ลักษณะของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้เชื้อผสมที่เพาะเลี้ยงใน0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm แล้วนำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 46
รูปที่ 4.5 อัตราการเจริญและเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยงใน0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน 48
รูปที่ 4.6 ลักษณะของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยงใน0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.7 ลักษณะของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม 49

รูปที่ 4.8 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือของเชื้อบริสุทธิ์และเชื้อผสม จากการเพาะเลี้ยงใน 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH- oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1. ความสำคัญ ที่มาและวัตถุประสงค์ของปัญหา

ในปัจจุบันประเทศต่าง ๆ ทั่วโลกเผชิญกับปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษไม่ว่าจะเป็น มลพิษทางน้ำ มลพิษทางอากาศ มลพิษทางดินและมลพิษทางเสียง ซึ่งเกิดจากกการกระทำของมนุษย์ มลพิษทางน้ำที่เกิดจากการรั่วไหลของน้ำมันสู่แหล่งน้ำและดิน เป็นอีกปัญหาซึ่งจะต้องได้รับการแก้ไขและป้องกัน การรั่วไหวของน้ำมันอาจเกิดจากอุบัติเหตุเรือบรรทุกน้ำมันล่ม เช่นกรณีการอับปางของเรือบรรทุกน้ำมัน ทอร์เรย์ แคนยอน (Torrey Canyon) ในปี 1967 ที่ชายฝั่งประเทศอังกฤษ ทำให้มีน้ำมันดิบมากกว่า 700,000 บาเรลรั่วไหลลงทะเล (น้อม, 2523) หรือจากสาเหตุอื่น ๆ เช่น กรณีสงครามระหว่างอิรักกับคูเวตที่มีการปล่อยน้ำมันดิบลงสู่ทะเล (วินัย, 2537)

ปัญหาในเรื่องของการปนเปื้อนคราบน้ำมันดิบตามแหล่งต่าง ๆ ซึ่งก่อให้เกิดผลกระทบต่อระบบนิเวศนั้นได้มีการศึกษาวิธีการแก้ไขในหลาย ๆ แง่มุม แต่ก็มักจะมุ่งไปที่การแก้ไขที่เกิดจากคราบน้ำมันดิบ เนื่องจากเมื่อเกิดการปนเปื้อนมักจะมีการปนเปื้อนในปริมาณสูง (น้อม, 2537) ทว่านอกจากน้ำมันดิบแล้ว คราบน้ำมันที่มักก่อให้เกิดปัญหา ยังได้แก่ คราบน้ำมันเตา และน้ำมันเครื่อง ส่วนน้ำมันเบนซินและดีเซลสามารถระเหยได้รวดเร็ว จึงไม่ค่อยก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม (ปราโมทย์, 2533)

ในปัจจุบัน มีการใช้ประมาณน้ำมันหล่อลื่นในเครื่องยนต์รถยนต์เป็นจำนวนมาก แต่กลับมีน้ำมันเครื่องปริมาณเพียงเล็กน้อยที่นำกลับมาใช้ใหม่ได้ ส่วนใหญ่จะกำจัดโดยการเผาหรือการฝังซึ่งทำให้เกิดปัญหาขึ้นกับสิ่งแวดล้อม (Koma, 2001) น้ำมันที่เหลือใช้และเหลือทิ้งนั้น ถูกระบายจากแหล่งต่าง ๆทุก ๆวัน เช่น ปั๊มน้ำมัน อู่ซ่อมรถ ร้านเคาะพ่นสีรถยนต์ (เกรียงศักดิ์, 2535) ในประเทศไทยถึงแม้ว่าจะมีการออกกฎหมายควบคุมปริมาณของน้ำมันที่ถูกปล่อยออกมา แต่ปัญหาน้ำมันเครื่องที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมก็ยังถูกปล่อยปละละเลย จึงควรมีการศึกษาวิธีการจัดการกับคราบน้ำมันที่มีแต่จะเพิ่มขึ้นเหล่านี้ โดยทั่วไป วิธีการกำจัดคราบน้ำมัน จะใช้วิธีทางกายภาพ ทางเคมีและทางชีวภาพ (Borden, 1993) ในช่วงแรกการกำจัดคราบน้ำมันจะใช้วิธีทางกายภาพและเคมีเป็นส่วนใหญ่ แต่เมื่อได้มีคนใส่ใจและระมัดระวังเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อมมากขึ้น ก็ได้มีความสนใจเพิ่มขึ้นในการใช้วิธีทางธรรมชาติโดยใช้จุลินทรีย์เป็นตัวกำจัดคราบน้ำมัน ดังนั้น การเลือกเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดคราบน้ำมัน จึงมีความจำเป็นเพื่อให้ได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุดและก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด

2. วัตถุประสงค์ของการทำโครงงานพิเศษ

2.1 เพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่สามารถย่อยสลายคราบน้ำมันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.2 ศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายคราบน้ำมันของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยสลายคราบน้ำมัน

3. ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

3.1 เพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ทางธรรมชาติ ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายคราบน้ำมันเครื่องได้ดีที่สุด

3.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องระหว่างเชื้อเดี่ยวกับกลุ่มเชื้อที่คัดเลือกได้

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

4.1 ได้เชื้อจุลินทรีย์กำจัดคราบน้ำมันสายพันธุ์พื้นเมืองที่มีประสิทธิภาพดี

4.2 สามารถนำไปประยุกต์เพื่อผลิตจุลินทรีย์ไปใช้ในหัวเชื้อ (Seed cultures) ในระบบกำจัดน้ำเสีย เช่น สถานีบริการน้ำมัน อู่ซ่อมรถ โรงงานอุตสาหกรรม ฯลฯ

4.3 ใช้เป็นแนวทางในการศึกษาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการบำบัดของเสียอื่นโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

1. น้ำมัน

1.1 ส่วนประกอบของน้ำมัน (นิพนธ์, 2543)

น้ำมันปิโตรเลียมประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์ที่แตกต่างกัน ซึ่งผสมรวมกันอยู่ในสถานะ ก๊าซ ของเหลว และของแข็ง เช่น มีเทน น้ำมันพาราฟินและแอสฟัลท์ ของผสมส่วนใหญ่ประกอบด้วยสารประกอบไฮโดรคาร์บอน นอกจากนั้นยังพบสารประกอบไนโตรเจนประมาณร้อยละ 0- 0.5 สารประกอบกำมะถันประมาณร้อยละ 0-6 และสารประกอบออกซิเจนร้อยละ 0-3.5

ส่วนผสมของน้ำมันปิโตรเลียมสามารถแบ่งออกเป็น 3 ส่วนประกอบใหญ่ ๆ คือ

1.1.1 สารประกอบไฮโดรคาร์บอนอะลิฟาติกส์ หรือ สารประกอบไฮโดรคาร์บอนแบบลูกโซ่ปลายเปิด (รูปที่ 2.1)

รูปที่ 2.1 ตัวอย่างโครงสร้างสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอะลิฟาติกส์ (นิพนธ์, 2544)

1.1.1.1 นอร์มัลพาราฟิน หรือ อัลเคน สูตรทั่วไป C_nH_{2n+2} เป็นส่วนผสมหลักในน้ำมันปิโตรเลียม สามารถกลั่นแยกตามค่าจุดเดือดจากน้ำมันปิโตรเลียม (น้ำมันเชื้อเพลิงแก๊สโซลีนประกอบด้วยนอร์มัลพาราฟินเป็นส่วนใหญ่) สารประกอบนอร์มัลพาราฟินไม่มีสมบัติป้องกันการเคาะของเครื่องยนต์ (antiknock) เป็นน้ำมันเชื้อเพลิงของเครื่องยนต์ที่มีคุณภาพต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.1.2 ไอโซพาราฟิน หรือ ไอโซอัลเคน สูตรทั่วไปคือ C_nH_{2n+2} เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีโซ่สาขา มีสมบัติเป็นเชื้อเพลิงของเครื่องยนต์ได้ดีกว่านอร์มัลพาราฟิน ไอโซพาราฟินเป็นสารประกอบที่ได้จากกระบวนการอุตสาหกรรมน้ำมันปิโตรเลียม โดยได้จากกระบวนการปรับปรุงโครงสร้างโดยคะตาลิสท์ (catalytic reforming) อัลคิเลชัน (alkylation), โพลีเมอไรเซชัน (polymerization) หรือ ไอโซเมอไรเซชัน (isomerization) สารประกอบไอโซพาราฟินเป็นส่วนประกอบที่มีประมาณน้อยในน้ำมันปิโตรเลียม เช่น 2-เมทิลเพนเทน, 3-เมทิลเพนเทน, 2,3-ไดเมทิลเพนเทน และ 2-เมทิลเฮกเซน เป็นต้น

1.1.1.3 โอเลฟิน หรืออัลคีน สูตรทั่วไป C_nH_{2n} โดยทั่วไปแล้วสารประกอบโอเลฟิน จะไม่มีในน้ำมันดิบ แต่จะได้รับจากกระบวนการอุตสาหกรรมน้ำมันปิโตรเลียม เช่น กระบวนการแตกตัว (cracking) เป็นต้น สารประกอบโอเลฟินไม่เสถียรแต่มีคุณสมบัติที่ดีในการเพิ่มคุณภาพป้องกันการเคาะของเคลื่อนยนต์ (antiknock) แต่ก็ไม่ดีเท่ากับสารประกอบไอโซพาราฟิน ในระหว่างการเก็บสารประกอบโอเลฟินจะเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชัน (polymerization) และปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายจึงไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นเชื้อเพลิงของเครื่องยนต์

1.1.2. สารประกอบวงแหวน (รูปที่ 2.2) แบ่งเป็นประเภทต่างๆ ได้ดังนี้

รูปที่ 2.2 ตัวอย่างโครงสร้างสารประกอบวงแหวน (นิพนธ์, 2544)

1.1.2.1 สารประกอบแนฟทีน หรือ ไซโคลอัลเคน สูตรทั่วไป C_nH_{2n} เป็นสารประกอบอัลเคนประเภทวงและเฉื่อยต่อปฏิกิริยาเช่นเดียวกับอัลเคนทั่วไป สารประกอบแนฟทีนเป็นส่วนประกอบสำคัญในน้ำมันปิโตรเลียมรองจากสารประกอบนอร์มัลอัลเคน เช่น เมทิลไซโคลเพนเทน ไซโคลเฮกเซน ไดเมทิลไซโคลเพนเทน แลเมทิลไซโคลเฮกเซน เป็นต้น สารประกอบแนฟทีนใช้เป็นเชื้อเพลิงที่ดีสำหรับรถยนต์

1.1.2.2 สารประกอบอะโรมาติก หรือ เบนซีนอยด์ สูตรทั่วไป C_nH_{2n-6} เป็นสารประกอบอะโรมาติก มีปริมาณผสมอยู่ในน้ำมันปิโตรเลียมจำนวนน้อยมีสมบัติเป็นเชื้อเพลิงที่ดี เนื่องจากมีสมบัติป้องกันการเคาะของเครื่องยนต์ได้ดีสามารถเก็บไว้ได้นาน เนื่องจากมีความเสถียร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบอะโรมาติกจำนวนมากได้จากกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอุตสาหกรรมน้ำมันปิโตรเลียม เช่น เบนซีน โทลินอีน เอทิลเบนซีน และไซลีน เป็นต้น

1.1.3. ส่วนผสมที่มีปริมาณน้อย สารประกอบกำมะถันโดยปกติแล้วเป็นส่วนผสมที่ไม่ต้องการในน้ำมันปิโตรเลียม นอกจากมีกลิ่นฉุนแล้วสารประกอบกำมะถันที่อยู่ในในน้ำมันเชื้อเพลิงยังทำให้อากาศเป็นพิษ เพราะเมื่อเผาไหม้จะได้ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดี หลังจากทำปฏิกิริยากับน้ำจะให้กรดและทำให้บรรยากาศเป็นกรดกัดกร่อนสิ่งต่าง ๆ และลดสมบัติของเททราเอทิลเลด (tetraethyl lead) ในการใช้เป็นสารป้องกันการเคาะของเครื่องยนต์ สารประกอบกำมะถันในแก๊สโซลีนจะถูกจำกัดออกมาในรูปของธาตุกำมะถันบริสุทธิ์ ส่วนสารประกอบไนโตรเจนที่มีในน้ำมันปิโตรเลียมโดยทั่วไปแล้วจะสร้างปัญหาน้อยกว่าสารประกอบกำมะถันมาก เนื่องจากสามารถกำจัดได้อย่างไม่มีปัญหา ส่วนเกลือแกงเป็นส่วนผสมในน้ำมันปิโตรเลียม ที่เป็นปัญหาสำคัญอีกชนิดหนึ่ง เนื่องจากในระหว่างการให้ความร้อนแก่ น้ำมันปิโตรเลียม จะทำให้เกิดกรดเกลือ ดังนั้นเกลือแกงจะถูกกำจัดไปในตอนแรกก่อนนำเข้าสู่กระบวนการกลั่น

1.2 ประเภทของน้ำมัน (มั่นสิน, 2542)

สามารถจำแนกตามมวลโมเลกุลได้ดังนี้

1.2.1 ไฮโดรเจนคาร์บอนชนิดเบา (Light Hydrocarbon) น้ำมันประเภทนี้ ได้แก่ น้ำมันเชื้อเพลิงชนิดเบา น้ำมันก๊าด และน้ำมันเครื่องบิน รวมทั้งสารทำละลายต่างๆ ที่ใช้กระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรม เช่น เฮกเซน (Haxance), คลอโรฟอร์ม (Chloroform) เป็นต้น

1.2.2 ไฮโดรคาร์บอนชนิดหนัก (Heavy Hydrocarbon) น้ำมันชนิดนี้ประกอบด้วยน้ำมันดิบ, น้ำมันดีเซล รวมทั้งน้ำมันแอสฟาลท์ที่ใช้ราดถนน

1.2.3 น้ำมันหล่อลื่น และ Cutting Fluid น้ำมันชนิดนี้แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ น้ำมันอิสระ เช่น น้ำมันหล่อลื่นชนิดต่าง ๆ น้ำมันเครื่อง นอกจากนี้ น้ำมันชนิดนี้ยังรวมถึงน้ำมันที่กลายเป็นอีมัลชันได้ (Emulsifiable Oil) เช่น Cutting Oil, Rolling Oil รวมทั้งสบู่และไขมันต่าง ๆ

1.2.4 น้ำมันและไขมันจากพืชและสัตว์ ซึ่งได้จากกระบวนการผลิตอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 น้ำมันเครื่องรถยนต์

1.3.1 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี

คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของน้ำมันเครื่อง ได้แก่ API Gravity 32.7, Pour Point, C -18, Aniline Point, F 215.2 และคุณสมบัติอื่น ๆ รายละเอียดดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของน้ำมันเครื่อง

คุณสมบัติทางเคมีและทางฟิสิกส์	ค่า
API Gravity	32.7
Flash COC, F	505
Kin Vis 40C	22.67
Kin Vis 100C	4.34
VI	96
Pour Point, °C	-18
Color, ASTM	< 0.5
CCS Vis –20C	1.80
CCS vis –25C	2140
Noack, %Loss	27.5
Sim Dist	6.2
Aniline Point, °F	215.2
Nitrogen, %	0.007
Sulfur, %	0.336
PNA, %	0.4
Saturates, %	83.9
Aromatics, %	16.1

ที่มา :(http://www.nicnas.gov.au/PUBLICATIONS/CAR/NEW/NA/NA…/na191.ht, 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.2 ส่วนประกอบพื้นฐานของน้ำมันเครื่องรถยนต์

ส่วนประกอบพื้นฐานของน้ำมันเครื่องรถยนต์ แบ่งออกเป็นส่วนที่อิ่มตัวและส่วนที่เป็นอะโรมาติก ซึ่งสัดส่วนต่างๆของส่วนประกอบแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบพื้นฐานของน้ำมันเครื่องรถยนต์

ส่วนประกอบ	สัดส่วน (%)
Saturated fraction	90.9
Normal paraffin	15.5
Cyclic paraffin	75.4
Aromatic fraction	9.1
Naphthalene	1.7
Fluorene	1.2
Benzene	1.1
Dibenzofuran	1.0
Dinaphthenebenzene	0.8
Dibenzanthracene	0.6
Naphthobenzothiophene	0.3
Perylene	0.2
Benzothilphene	0.2
Chysese	0.1
Unknow	1.9

ที่มา : Koma และคณะ(2000)

1.3.3 การนำไปใช้

น้ำมันเครื่องถูกน้ำมันไปใช้เพื่อทำหน้าที่หล่อลื่นให้กับวัสดุต่าง ๆ ที่เคลื่อนไหวภายในห้องเครื่อง ช่วยลดความสึกหรอรวมทั้งน้ำมันเครื่องยังทำหน้าที่ระบายความร้อนออกจากเครื่องยนต์ ช่อยป้องกันการรั่วซึมระหว่างชิ้นส่วนต่าง ๆ เช่นไม่ให้แก๊สรั่วจากห้องเผาไหม้ผ่านแหวนลูกสูบออกไปจากห้องเผาไหม้ และทำหน้าที่ชะล้างคราบสิ่งสกปรกต่าง ๆ ที่เกิดจากการเผาไหม้ ทำให้ภายใจเครื่องยนต์สะอาดซึ่งจะทำให้เครื่องยนต์ทำงานได้สมบูรณ์ ดังนั้นการเลือกใช้น้ำมันเครื่องที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะนำไปใช้งานควรจะต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้ มีความหนืดที่เหมาะสมและคงที่ จุดเยือกแข็งต่ำ เพื่อให้น้ำมันเครื่องไหลได้ที่อุณหภูมิต่ำ ไม่กัดกร่อนส่วนใด ๆ ของเครื่องยนต์ และไม่เป็นฟองได้ง่ายและไม่ทำปฏิกิริยาหรือระเบิดง่าย เมื่อใช้เครื่องยนต์เป็นระยะเวลานาน ควรมีการถ่ายน้ำมันเครื่องที่หมดประสิทธิภาพออก ซึ่งระยะเวลาในการถ่ายน้ำมันเครื่องนั้นก็ขึ้นอยู่กับชนิดของเครื่องยนต์และคุณสมบัติของน้ำมันเครื่องแต่ละชนิด ถ้าไม่มีการถ่ายน้ำมันเครื่องที่หมดประสิทธิภาพออกก็จะส่งผลไปยังเครื่องยนต์และส่วนประกอบต่างๆได้ทำให้เครื่องยนต์สึกหรอและเสียหายได้เร็วขึ้น (http://www.school.net.th/library/create-web/1000/generalty/10000-6740.html, 2002)

2. การรั่วไหลของน้ำมันในสภาพแวดล้อม

2.1 แหล่งที่ทำให้เกิดการรั่วไหล

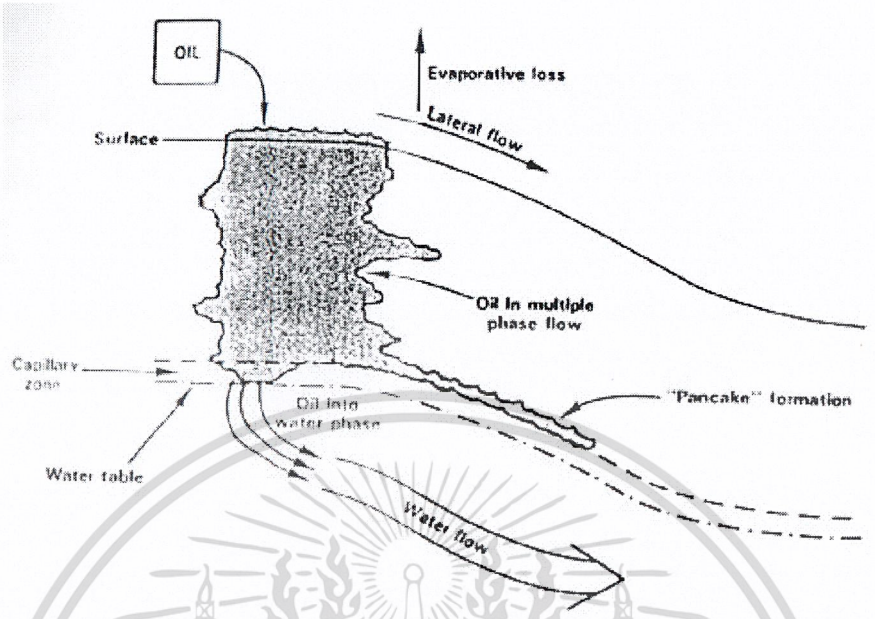
สาเหตุที่ทำให้เกิดการรั่วไหลของน้ำมันมีสาเหตุหลัก ๆ 2 ประการ คือ เกิดจากอุบัติเหตุและเกิดจากมนุษย์ การเกิดจากอุบัติเหตุอาจเกิดจากเรือบรรทุกน้ำมันอับปาง ดังเช่นกรณีของเรือบรรทุกน้ำมัน ทอร์เรย์ แคนยอน เมื่อปี 1967 ที่ชายฝั่งประเทศอังกฤษ หรือการขนส่งน้ำมันดิบจากบ่อนอกชายฝั่งไปยังโรงกลั่นบนแผ่นดินโดยใช้ท่อส่งน้ำมันยาวเป็นพัน ๆ ไมล์ ซึ่งท่ออาจจะแตกหักและทำให้น้ำมันรั่วไหลลงสู่ทะเลได้ (น้อม, 2523) กรณีเกิดจากมนุษย์ มีหลายสาเหตุด้วยกัน เช่น การขนถ่ายน้ำมันในทะเล การขนถ่ายน้ำมันจากเรือสู่ชายฝั่ง การล้างเรือ การรั่วไหลจากโรงกลั่นน้ำมันบนชายฝั่ง การขุดเจาะน้ำมันในทะเล และการลักลอบปล่อยทิ้งน้ำมันโดยผิดกฎหมาย เช่น จากปั๊มน้ำมัน อู่ซ่อมรถ ร้านเคาะพ่นสีรถยนต์ (เกรียงศักดิ์, 2535)

2.2 ลักษณะของน้ำมันที่แพร่กระจายในธรรมชาติ

2.2.1 ลักษณะของน้ำมันที่แพร่กระจายในดิน

ลักษณะของการแพร่กระจายจะขึ้นอยู่กับชนิดของดินและคุณสมบัติของน้ำมัน น้ำมันที่มีความหนืดสูง เช่น น้ำมันดิบ น้ำมันเตา และน้ำมันเครื่อง เมื่อปนเปื้อนลงดินจะเคลื่อนที่ตามแนวพื้นราบ ในขณะที่น้ำมันที่มีความหนืดต่ำจะเคลื่อนที่ตามแนวดิ่งลงในดิน (Bossert และBartha, 1984) แสดงดังรูปที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 การแพร่กระจายของน้ำมันลงดิน
ที่มา : กุลวดี (2540)

2.2.2 ลักษณะของน้ำมันที่แพร่กระจายในแหล่งน้ำ (มั่นสิน, 2542)

น้ำมันที่แพร่กระจายในแหล่งน้ำ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 รูปแบบ คือ

2.2.2.1 น้ำมันละลายน้ำ ในบางกรณี ไฮโดรคาร์บอนที่เป็นส่วนประกอบในน้ำมันสามารถละลายน้ำได้ซึ่งความสามารถในการละลายน้ำขึ้นอยู่กับลักษณะสมบัติประจำตัวของน้ำมัน ได้แก่ ไฮโดรคาร์บอนที่มีโพลาริตีสูงและน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะละลายน้ำได้ดี ไฮโดรคาร์บอนที่ระเหยได้ง่าย มักมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ หรือไฮโดรคาร์บอนโมเลกุลไม่อิ่มตัวโดยเฉพาะอย่างยิ่งไฮโดรคาร์บอนที่มีวงแหวนเบนซินจะละลายน้ำได้ดี เช่น น้ำมันเบนซินละลายน้ำได้ถึง 1,650 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำมันละลายน้ำมักจะมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า แต่สามารถตรวจสอบได้จากรสชาติหรือกลิ่นของน้ำที่เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้มักพบว่าน้ำมันที่ละลายน้ำมักเป็นพิษและต้นเหตุของมะเร็ง

2.2.2.2 น้ำมันในรูปอีมัลชัน น้ำมันในรูปอีมัลชันเป็นน้ำมันที่อยู่ในรูปอนุภาคขนาดเล็กคล้ายคอลลอยด์ ดังนั้นจึงมองเห็นเป็นความขุ่นในน้ำ น้ำมันละลายน้ำอาจกลายเป็นอีมัลชันได้เมื่อถูกกระทำด้วยแรงภายนอก เช่น ถูกบดอัด ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อน้ำมันถูกสูบด้วยเครื่องสูบหอย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โข่ง ขนาดของเม็ดน้ำมันที่ได้มีตั้งแต่ขนาดเล็กกว่า 20 ไมครอนจนถึงขนาดใหญ่กว่า 100 ไมครอน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประเภทของไฮโดรคาร์บอน ไฮโดรคาร์บอนที่มีแรงตึงผิวสูงจะมีขนาดใหญ่ ส่วนเม็ดน้ำมันขนาดเล็กจะเป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีแรงตึงผิวต่ำ ในกระบวนการกลั่นน้ำมันจะพบได้ทั้งเม็ดน้ำมันขนาดใหญ่และเม็ดน้ำมันขนาดเล็ก เช่น ในกระบวนการกำจัดสารละลายเกลือแร่ซึ่งมีประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำมัน ออกจากน้ำมันดิบ (Crude Oil Desalting) จะต้องล้างน้ำมันดิบด้วยน้ำ และมีการกวนผสมกัน เป็นผลทำให้เกิดอีมัลชันในน้ำที่ใช้ล้าง หรือการกลั่นแบบใช้ไอน้ำ จะทำให้น้ำควบแน่นที่เกิดขึ้นเป็นน้ำเสียที่มีอีมัลชันซึ่งเกิดจากความร้อน เม็ดน้ำมันมีขนาดเล็กมากเพียงไม่กี่ไมครอน และมีสีขาวขุ่นคล้ายสีของน้ำนม ในขณะที่การกลั่นซึ่งใช้วิธีลดความดันด้วยการฉีดไอน้ำผ่านหัวฉีดจะพบน้ำมันที่ระเหยง่ายผสมออกมากับไอน้ำ ส่วนน้ำเสียที่มีน้ำมันอิสระที่อยู่ในรูปน้ำมันละลายหรือฟิล์มน้ำมัน เกิดจากการระบายน้ำทิ้งจากก้นถังน้ำมันดิบ น้ำอับเฉาเรือขนน้ำมัน เป็นต้น ในกรณีของน้ำมันชนิดนี้ น้ำมันอิสระอาจกลายเป็นอีมัลชันเมื่อถูกสูบผ่านเครื่องสูบน้ำแบบหอยโข่ง ใบพัดของเครื่องสูบน้ำจะบดตัดน้ำมันทำให้เกิดอีมัลชัน จึงมักพบว่าน้ำเสียมีเม็ดน้ำมันแบบอีมัลชันเสมอ เนื่องจากมีการใช้เครื่องสูบน้ำ ณ ตำแหน่งต่าง ๆ ของโรงงานอุตสาหกรรมหรือภายในระบบบำบัดน้ำเสีย การกำจัดน้ำมันอีมัลชั่นออกจากน้ำเสียสามารถกระทำได้ด้วยวิธีที่คล้ายกับการกำจัดตะกอนแขวนลอยหรือคอลลอยด์ เช่น การตกตะกอนที่ใช้หรือไม่ใช้โคแอกกูเลชัน เป็นต้น

นอกจากนั้น การใช้สารซักฟอกหรือ Surfactant จะทำให้เม็ดน้ำมันที่เกิดขึ้นเป็นเม็ดน้ำมันที่มีความคงตัวมาก ทำให้แยกออกจากน้ำได้ยาก สารซักฟอกหรือ Surfactant มักเป็นโมเลกุลโพลาร์ขนาดใหญ่ ส่วนหนึ่งของโมเลกุลละลายได้ดีในน้ำและอีกส่วนหนึ่งละลายได้ในน้ำมัน เช่นสาร surfactant ในกลุ่มคาร์บอกซิล Carboxyl (COO^-Na^+) กลุ่มซัลเฟต ($SO_4^{2-}Na^+$) กลุ่มไฮดรอกซิล (OH^-) หรือกลุ่มซัลโฟเนต ($SO_3^-Na^+$)

2.2.2.3 น้ำมันลอยบนผิวน้ำ (เป็นฟิล์ม) น้ำมันหรือไฮโดรคาร์บอนส่วนใหญ่มักมีความหนาแน่นต่ำกว่าน้ำ จึงมักพบว่ามีน้ำมันลอยอยู่เหนือน้ำเป็นฝ้าหรือเป็นฟิล์ม ซึ่งขวางกั้นการถ่ายเทออกซิเจนหรือบังแสง น้ำมันปริมาณเล็กน้อยก็สามารถสร้างฟิล์มปิดพื้นที่ผิวน้ำได้มากมาย เนื่องจากฟิล์มเหล่านี้มักเป็นโมเลกุลเดี่ยว ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันที่มีความหนืดต่ำ

2.2.2.4 ก้อนน้ำมัน (Tar ball) น้ำมันที่มีความหนืดมากจะลอยอยู่ผิวน้ำได้เป็นระยะเวลานานและสามารถกลายเป็นก้อนน้ำมันซึ่งเกิดจากกระแสคลื่นและการย่อยสลาย โดยจะถูกพัดพามาตกค้างบริเวณชายฝั่ง คราบน้ำมันจะตกค้างอยู่ตามโขดหินหรือหาดทราย ซึ่งบางส่วนก็สามารถซึมตกค้างอยู่ในชั้นทราย และใช้ระยะเวลานานกว่าจะสลายตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ผลกระทบจากการรั่วไหลของน้ำมันในสภาวะแวดล้อม

กรณีที่เกิดรั่วไหลของน้ำมันทั้งจากเรือหรือขั้นตอนการขนถ่ายน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติแล้วย่อมจะก่อให้เกิดผลกระทบหรือก่อให้เกิดความเสียหายต่อทรัพยากรสิ่งแวดล้อมด้านต่างๆ โดยระดับความรุนแรงจะมากน้อยเพียงใดขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่นปริมาณของน้ำมันที่รั่วไหลออกมา ชนิดของน้ำมัน ระยะเวลาที่น้ำมันลอยอยู่ในน้ำ ชนิดและความสมบูรณ์ของทรัพยากรสิ่งแวดล้อม สภาพภูมิประเทศของพื้นที่ สภาพอุทกวิทยาและสมุทรศาสตร์ของแหล่งน้ำ สภาพอุตุนิยมวิทยา (มั่นสิน, 2542) อย่างไรก็ตามผลกระทบของน้ำมันที่มีต่อสภาพแวดล้อมกล่าวได้อย่างกว้างๆดังนี้

2.3.1 ผลกระทบทางด้านกายภาพ (ชนะรัฐ, 2538)

กรณีที่เกิดน้ำมันรั่วไหลลงแหล่งน้ำ น้ำมันจะลอยอยู่ที่ผิวหน้าของน้ำทำให้เกิดผลกระทบทางกายภาพ ได้แก่

2.3.1.1 ความสกปรก น้ำมันจะก่อให้เกิดความสกปรก ทุกบริเวณที่น้ำมันแผ่ขยายไปถึง เช่น บริเวณผิวหน้าน้ำทะเล บ้านราษฎรที่ชายฝั่ง อีกทั้งยังทำลายสุนทรียภาพและความงดงามของชายหาดที่มีการปนเปื้อนด้วย

2.3.1.2 แสงส่องผ่านลงสู่ท้องน้ำไม่ได้ เพราะน้ำมันที่ลอยอยู่เหนือผิวน้ำจะบดบังหรือกั้นแสงแดดไม่ให้ส่องผ่านลงไปในน้ำได้สะดวก จึงทำให้กระบวนสังเคราะห์แสงของพืชใต้น้ำไม่ต่อเนื่อง จนอาจทำให้พืชใต้น้ำหยุดการเจริญเติบโตและตายในที่สุด นอกจากนี้ยังมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตเล็กๆ เช่น แพลงตอน ทำให้สมดุลของห่วงโซ่อาหารเสียไป

2.3.1.3 ความร้อนสูงขึ้น ถ้าน้ำมันที่รั่วไหลมีสีทึบ เช่น น้ำมันเตา น้ำมันดิบ น้ำมันหล่อลื่น เป็นต้น น้ำมันเหล่านี้จะสามารถดูดซับความร้อนจากแสงอาทิตย์ แล้วเปลี่ยนเป็นพลังงานความร้อน แผ่ขยายลงสู่ท้องน้ำได้ ดังนั้นกรณีที่น้ำมันจำนวนมากรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติขนาดเล็กและตื้น อาจทำให้สัตว์น้ำและสิ่งมีชีวิตอื่นๆที่เคลื่อนไหวได้ช้าตายได้เพราะปรับตัวไม่ทันหรือหนีไม่พ้น

2.3.1.4 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำลดน้อยลง น้ำมันที่ลอยอยู่เหนือผิวน้ำนอกจากจะบดบังแสงที่จะส่องผ่านลงสู่ท้องน้ำได้แล้ว ยังทำหน้าที่คล้ายกับแผ่นหรือเกราะกำบังมิให้การละลายของออกซิเจนลงสู่แหล่งน้ำได้ ลักษณะเช่นนี้จะมีผลต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำ ทั้งนี้เนื่องจากจำเป็นต้องใช้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำสำหรับการหายใจ

2.3.2 ผลกระทบทางด้านชีวภาพ (ชนะรัฐ, 2538)

น้ำมันเชื้อเพลิงทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นน้ำมันเตา น้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน หรือน้ำมันหล่อลื่น จะมีสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอยู่ด้วย ซึ่งไฮโดรคาร์บอนนี้เมื่อละลายลงสู่แหล่งน้ำแล้ว ย่อมก่อให้เกิดผลกระทบต่อคุณภาพน้ำทั้งทางด้านชีวภาพและกายภาพ โดยเฉพาะในส่วนของผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระทบทางด้านชีวภาพนั้นจะมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ กล่าวคือไฮโดรคาร์บอนที่ละลายในปริมาณที่มากจะทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช จำพวกสาหร่ายลดลงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ (Cellular membrane) สูญเสียธาตุโพแทสเซียมและแมงกานีส สำหรับสัตว์น้ำเศรษฐกิจจำพวกปลาผิวน้ำและกุ้ง ถ้าได้รับสารนี้ระหว่าง 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตรเกินกว่า 96 ชั่วโมง จะเป็นอันตรายถึงตายได้ ส่วนสัตว์หน้าดินจำพวกปลาขนาดเล็กและหอยแครง หากได้รับระหว่าง 3-8 มิลลิกรัมต่อลิตรเกิน 96 ชั่วโมง จะเป็นอันตรายถึงตายได้เช่นกัน นอกจากนี้ไฮโดรคาร์บอน ยังมีผลทำให้คุณภาพของน้ำต่ำลง จนอาจไม่เหมาะสมต่อการอุปโภคและบริโภคของมนุษย์ รวมทั้งการเป็นแหล่งอาหารและวางไข่ของสัตว์น้ำด้วย โรคที่เกิดจากผลกระทบของน้ำมัน เช่น ก่อให้เกิดอาการชา (Anaesthesia) และอาการง่วงซึม (narcosis) ต่อสัตว์ขนาดเล็ก เกิดอาการกล้ามเนื้อตายซึ่งเกิดจากเบนซีน น้ำมันยังไปยับยั้งการผลิตเม็ดเลือดแดงของไขกระดูกทำให้เป็นโรคโลหิตจางได้ และน้ำมันยังเป็นสารก่อมะเร็งทำให้มีโอกาสที่จะเป็นโรคมะเร็งเพิ่มขึ้น (สุโขทัยและอุบลวรรณ, 2541)

2.3.3 ผลกระทบด้านเศรษฐกิจและสังคม

เป็นผลกระทบที่ต่อเนื่องมาจากผลกระทบทางด้านกายภาพและชีวภาพ โดยผลกระทบด้านนี้ได้แก่ ผลกระทบต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ความเดือดร้อน รำคาญจากความสกปรกของคราบน้ำมัน การสูญเสียสุนทรียภาพ ความงดงามตามชายหาดจากคราบน้ำมันและตะกอนน้ำมัน (Tar ball) เป็นต้น (ชนะรัฐ, 2538)

3. วิธีการกำจัดคราบน้ำมัน

3.1 วิธีการกำจัดการปนเปื้อนคราบน้ำมันในแหล่งน้ำธรรมชาติ

3.1.1 วิธีทางกายภาพ (ชนะรัฐ, 2538)

เป็นวิธีการควบคุมจำกัด และกวาดน้ำมันด้วยกลวิธี หรือใช้อุปกรณ์เครื่องมือ ซึ่งอุปกรณ์แต่ละชนิดจะมีหลักการและประสิทธิภาพในการทำงานแตกต่างกัน ในบางครั้งอาจจำเป็นต้องใช้เครื่องมือในการทำงานมากกว่า 1 ชนิด ปฏิบัติงานในลักษณะต่อเนื่อง หรือผสมผสานกันดังต่อไปนี้

3.1.1.1 ทุ่นกักน้ำมัน (Boom) คือเครื่องมือที่ใช้สำหรับควบคุม หรือกักน้ำมันให้อยู่ในบริเวณพื้นที่ที่กำหนด

ทุ่นลอย (Flotation) หรือที่เรียกว่า Buoyancy จะทำหน้าที่ให้ทุ่นกักน้ำมันลอยอยู่ได้ในน้ำ ตัวทุ่นลอยอาจบรรจุด้วยก๊าซ ซึ่งทำให้มีน้ำหนักเบาและมีคุณสมบัติในการลอยตามคลื่นได้ดี หรือตัวทุ่นอาจบรรจุด้วยโฟม ซึ่งทำให้ตัวทุ่นมีความแข็งแรง คงทน และสะดวกต่อการใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แถบชาย (Skirt) เป็นแผ่นที่อยู่ใต้น้ำ ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้น้ำมันไหลลอดใต้ทุ่นกักน้ำมันออกไป แถบชายนี้อาจทำด้วยแผ่นใยสังเคราะห์หรือแผ่นพลาสติก โดยปกติวัสดุที่ใช้ทำแถบชายนี้จะเป็นชนิดเดียวกันกับที่ใช้ทำทุ่นลอย

ตาข่าย (Netting) มีลักษณะเหมือนตาข่ายทั่วไป ยึดระหว่างแถบชายกับสายรับแรงดึง ช่วยทำให้ทุ่นกักน้ำมันที่มีขนาดใหญ่ตั้งอยู่ได้ในแนวตั้งและช่วยลดแรงปะทะของกระแสน้ำที่กระทำต่อทุ่นกักน้ำมัน มักพบในทุ่นกักน้ำมันที่ใช้ในทะเลเปิด (Open sea) ซึ่งมีคลื่นขนาดใหญ่และรุนแรง

แบลลัสต์ (Ballast) เป็นน้ำหนักที่ถ่วงทุ่นกักน้ำมันให้ตั้งอยู่แนวตั้งได้ในน้ำ มักทำด้วยตะกั่วหรือโซ่เหล็ก โดยแบลลัสต์จะถูกยึดติดอยู่ที่ปลายของแถบชาย

สายรับแรงดึง (Tension membert) ทำหน้าที่รับแรงที่กระทำต่อตัวทุ่นกักน้ำมัน มักทำให้สั้นหรือยืดหยุ่นน้อยกว่าตัวทุ่นกักน้ำมันเล็กน้อย บางครั้งติดไว้กับแถบชายที่ผิวน้ำ

ข้อต่อ (Connect) เป็นส่วนที่ยึดทุ่นกักน้ำมันเข้าด้วยกัน ซึ่งตามปกติทุ่นกักน้ำมันจะประกอบด้วยท่อนสั้นๆ เพื่อสะดวกในการเคลื่อนย้ายและเก็บรักษา ข้อต่อนี้จะได้รับการออกแบบให้มีความแข็งแรง น้ำหนักเบาและง่ายต่อการใช้

จุดถ่วงสมอ (Anchor point) เป็นจุดที่ใช้ในการถ่วงสมอให้ทุ่นกักน้ำมันอยู่ในตำแหน่งที่คงที่ หรือใช้ที่ปลายทุ่นกักน้ำมันด้านใดด้านหนึ่ง เมื่อจะมีการลากจูงทุ่นกักน้ำมันไปในทิศทางที่ต้องการ

หัวสำหรับลากจูง (Towing head) ถึงแม้ว่าจะไม่เป็นส่วนหนึ่งของทุ่นกักน้ำมัน แต่ก็เป็นอุปกรณ์จำเป็นสำหรับการลากจูงทุ่นกักน้ำมัน เพราะป้องกันมิให้ทุ่นกักน้ำมันบิดเบี้ยว หรือเสียหายในขณะลากจูงด้วยเรือ

ขนาดของทุ่นกักน้ำมันในการใช้งานมักพิจารณาจากลักษณะการลอยตัวในน้ำ โดยกำหนดตามความสูงของทุ่นกักน้ำมันส่วนที่อยู่เหนือน้ำ ซึ่งเรียกว่า ฟรีบอร์ด (Freeboard) กับความลึกของทุ่นกักน้ำมันส่วนที่จมอยู่ใต้น้ำซึ่งรวมทั้งแถบชายจะเรียกว่าดราฟต์ (Draft) ความสูงของฟรีบอร์ดทำหน้าที่ป้องกันมิให้น้ำมันกระเซ็นหรือไหลข้ามส่วนบนของทุ่นกักน้ำมันออกไปได้ ในขณะที่ความลึกของดราฟท์ จะป้องกันมิให้น้ำมันไหลลอดผ่านใต้ทุ่นกักน้ำมันออกไปได้เช่นเดียวกันสำหรับวัสดุที่ใช้ทำทุ่นกักน้ำมัน วัสดุที่นิยมใช้อยู่ในปัจจุบันจะเป็นประเภทพลาสติกหรือแผ่นใยสังเคราะห์ เช่น ไนลอนโพลีเอสเทอร์ พีวีซีชนิดที่ทนน้ำมันโพลียูรีเทน เป็นต้น

3.1.1.2 เครื่องกวาดน้ำมัน (Oil Spill Recovery Skimmer)

เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับกวาดและดูดน้ำมัน โดยอาศัยหลักความแตกต่างของความถ่วงจำเพาะระหว่างน้ำมันกับน้ำ ซึ่งปกติเครื่องกวาดน้ำมัน จะลอยอยู่บนผิวน้ำและมีช่องทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปิดเชื่อมติดต่อกับช่องทางเปิดของเครื่องกักน้ำมัน (suction pump) เพื่อให้น้ำมันลอยเข้าสู่ช่องทางได้สะดวก โดยที่ปลายช่องทางในเครื่องจะมีทำนบ (Weir) ขวางกั้นเพื่อทำหน้าที่แยกน้ำมัน ออกจากน้ำให้ไหลเข้าสู่เครื่องกักน้ำมัน ส่วนน้ำจะถูกบังคับให้ไหลออกจากเครื่องกวาดน้ำมันอย่างไรก็ตามเครื่องกวาดน้ำมันบางชนิดอาจใช้หลักการให้วัสดุสังเคราะห์ดูดซับหรือจับยึดน้ำมันแล้วนำขึ้นมารีดด้วยแผ่นรีดน้ำมันก่อนส่งเข้าถังเก็บต่อไป

3.1.1.3 วัสดุดูดซับ (adsorbents)

เป็นวัสดุที่พัฒนามาจากสารสังเคราะห์ หรือเส้นใยพืช เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการซับน้ำมันที่ลอยอยู่บนผิวหน้าแหล่งน้ำ มีวิธีการใช้ที่ง่าย สะดวกรวดเร็วในการเคลื่อนย้าย น้ำมันออกจากที่เกิดเหตุ และมีหลักการทำงานไม่ซับซ้อนเหมือนเครื่องมือชนิดอื่น วิธีการใช้เพียงแต่จุ่มหรือหย่อนวัสดุซับลงบนผิวน้ำมัน น้ำมันจะแทรกซึมเข้าไปอยู่ระหว่างช่องว่างภายในเส้นใยหรือถูกดูดซับติดกับผิวของเส้นใยวัสดุ

การขจัดสารปนเปื้อนออกจากสารละลายในกระบวนการดูดซับนี้จะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางฟิสิกส์ และคุณสมบัติทางเคมี ความสามารถในการดูดซับจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติต่าง ๆ ของตัวดูดซับ (adsorbent) และชนิดของสารปนเปื้อน อัตราการดูดซับจะแปรผกผันกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของตัวดูดซับ การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของสารปนเปื้อน การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ และการลดลงของประจุบนผิวหน้าของตัวดูดซับ นอกจากนั้นอัตราการดูดซับยังขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่สัมผัสกับตัวดูดซับอีกด้วย ถ่านกัมมันต์ (activated carbon) เป็นตัวดูดซับที่นิยมใช้มากที่สุด

3.1.1.4 การใช้วัสดุที่ทำให้จมลง (Sinking)

เป็นการใช้วัสดุพิเศษที่มีอนุภาคขนาดเล็กโปรยหรือฉีดลงบนผิวน้ำมัน ทำให้เกิดเกาะติดหรือยึดกับมวลน้ำมัน แล้วจมตัวลงสู่พื้นท้องน้ำ ซึ่งวิธีนี้จะมีประสิทธิภาพที่ไม่ดีพอ หากนำมาใช้กับน้ำมันที่มีความหนืดต่ำและมีปริมาณน้อย หรือชั้นน้ำมันที่มีความหนามาก วัสดุที่สามารถนำมาใช้กับวิธีการนี้มีหลายชนิด เช่น ทรายละเอียด ผงปูนสีขาว ขี้เถ้า ยิปซัม (สุโขทัยและอุบลวรรณ, 2541)

3.1.1.5 การใช้วัสดุดักจับ (Netting)

เป็นวิธีที่ใช้ตาข่ายหรือเน็ต (Nets) ดักจับคราบน้ำมันที่ลอยที่ผิวน้ำ วิธีนี้ใช้ได้กับน้ำมันที่ความหนืดสูงหรือที่เป็นตะกอนน้ำมัน (สุโขทัย และอุบลวรรณ, 2541)

3.1.1.6 การรวมตะกอน (Coagulation)

การรวมตะกอน(Coagulation) คือ การทำให้อนุภาคคอลลอยด์ที่มีขนาดประมาณ 10^{-5}-10^{-7} เซนติเมตร ที่แขวนลอยอยู่ในน้ำเสียสามารถรวมตัวกันเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ เนื่องจากประจุที่ล้อมรอบอนุภาคเหล่านี้ ส่วนใหญ่เป็นประจุลบ ดังนั้นจึงมีการเติมสารเคมีเพื่อช่วยทำลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประจุที่ล้อมรอบอนุภาค เช่น การเติมเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) และ สารส้ม (Alum) เป็นต้น (สุโขทัย และอุบลวรรณ, 2541)

3.1.1.7 การดูดซับ (Adsorption)

สารอินทรีย์ในน้ำเสียสามารถกำจัดออกโดยใช้เทคนิคการดูดซับ ซึ่งสารอินทรีย์ในน้ำเสียจะถูกตัวกลางดูดซับเอาไว้บนพื้นผิว การขจัดสารปนเปื้อนออกจากสารละลายในกระบวนการดูดซับนี้จะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางฟิสิกส์และคุณสมบัติทางเคมี ความสามารถในการดูดซับจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติต่างๆ ของตัวดูดซับ (adsorbent) และชนิดของสารปนเปื้อน อัตราการดูดซับจะแปรผกผันกับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของตัวดูดซับ การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของสารปนเปื้อน การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ และการลดลงของประจุบนผิวหน้าของตัวดูดซับ นอกจากนั้น อัตราการดูดซับยังขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่สัมผัสกับตัวดูดซับอีกด้วย ถ่านกัมมันต์ (activated carbon) เป็นตัวดูดซับที่นิยมใช้มากที่สุด (สุโขทัย และอุบลวรรณ, 2541)

3.1.1.8 การลอยตัว (Flotation)

การลอยตัวใช้ในการกำจัดปริมาณสารแขวนลอยในน้ำ น้ำมันและไขมันในน้ำเสีย ซึ่งเป็นการแยกโดยอาศัยแรงโน้มถ่วง ความสามารถในการลอยตัวขึ้นอยู่กับการเติมอากาศอย่างเหมาะสม เทคนิคที่นิยมใช้ทำให้ไขมันลอยตัว ได้แก่ oil-water separation ตามแบบ API gravity separator ที่ใช้ในอุตสาหกรรมปิโตรเลียมและโรงกลั่นน้ำมัน กระบวนการพื้นฐานคือการให้ความดันแก่น้ำเสียที่ไหลเข้าระบบหรือน้ำเสียที่นำกลับมาใช้ใหม่ โดยอากาศจะถูกละลายภายใต้ความดัน 2.8 – 4.9 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร มีการลดความดันผ่านวาล์วต่อไปยังบ่อน้ำเสีย อากาศผ่านเข้าไปและก่อตัวเป็นฟองอากาศผ่านขึ้นมาสู่ผิวน้ำทำให้น้ำมันลอยแผ่อยู่บนผิวน้ำ (สุโขทัยและอุบลวรรณ, 2541)

3.1.1.9 การกรอง (Filtration)

ได้มีการศึกษาความเป็นไปได้ในการที่จะใช้เส้นใยสังเคราะห์ในการกำจัดน้ำมันที่ปนเปื้อนในน้ำทิ้ง สารสังเคราะห์ที่ใช้ทดสอบได้แก่ ไนลอน (nylon) เดครอน (dacron) โพลีโพรพิลีน (polypropylene) และ เส้นใยอะคริลิค (acrylic fibers) ในขนาดต่างๆ กัน พบว่าน้ำมันสามารถดูดซับบนเส้นใยได้ดี ผลที่ได้จากกระบวนการกรองเพื่อแยกน้ำและน้ำมันออกจากกัน (oil in water, O/W) คือมีการแตกตัวของน้ำมันในระหว่างที่กรองผ่านตัวกลางทำให้เกิดการแยกชั้นขึ้น หากอนุภาคที่สามารถละลายน้ำได้และอนุภาคน้ำมันที่มีขนาดเล็กกว่า 40 มิลลิเมตร นอกจากนั้น การเติมโพลีอิเล็คโตรไลต์ (polyelectrolytes) อาจช่วยในการบำบัดได้ (สุโขทัย และอุบลวรรณ, 2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.1.10 เทคนิคการแยกน้ำมันโดยใช้แผ่นโลหะที่ลาดเอียง (Tilted Plate Separation)

เทคนิคการแยกน้ำมันโดยใช้แผ่นโลหะที่ลาดเอียง (Tilted Plate Separation) เป็นเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมาจากเทคนิค API separation โดยที่แผ่นโลหะถูกแบ่งเป็นช่องเท่าๆกัน และเอียงทำมุม 45 องศากับแนวระดับ ทำให้มีพื้นที่สัมผัสเพิ่มขึ้น ดังนั้นอัตราการไหลจึงลดลง น้ำมันที่สะสมอยู่บริเวณด้านล่างของแต่ละแผ่นโลหะ (plate) จะรวมตัวกัน และลอยแผ่อยู่บนพื้นผิว ในทำนองเดียวกัน สลัดจ์ที่สะสมอยู่ด้านบนของแผ่นโลหะ จะเลื่อนลงสู่ด้านล่าง ประสิทธิภาพในการกำจัดน้ำมันของเทคนิคการแยกน้ำมันโดยใช้แผ่นโลหะที่ลาดเอียง จะอยู่ในช่วง 55-65 เปอร์เซ็นต์ (สุโขทัย และอุบลวรรณ, 2541)

3.1.2 วิธีทางเคมี

การควบคุมและกำจัดคราบน้ำมันด้วยวิธีทางเคมี มักนิยมใช้เมื่อการควบคุม (containment) และการเคลื่อนย้าย (removal) ด้วยวิธีกลหรือทางกายภาพใช้ไม่ได้ผล หากประเมินผลแล้วเห็นว่าคราบน้ำมันจะถูกพัดพาเข้าสู่แหล่งดังกล่าวก็จำเป็นต้องใช้วิธีทางเคมี ดังนี้

3.1.2.1 การใช้สารเคมีที่ทำให้น้ำมันแตกตัว (Chemical dispersant)

การที่น้ำมันเกาะรวมตัวอยู่ในน้ำได้ เนื่องจากน้ำมันส่วนที่หนืดมีแรงตึงผิวมากกว่าน้ำ การทำให้น้ำมันแตกกระจายตัวออกไป จึงทำได้โดยลดความแตกต่างของแรงตึงผิวนี้ด้วยการใช้สารเคมีชนิด dispersant ซึ่งเป็นสารเคมีที่ส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิว (surfactant) สารละลายปิโตรเลียมเบส (petrolium-base sovent) และบางชนิดยังมีส่วนผสมของสารบางตัวที่สามารถควบคุมการแพร่กระจายของน้ำมันในท้องทะเลได้ ซึ่งส่วนประกอบของสารที่มีอยู่ใน dispersant แต่ละชนิดจะไม่เหมือนกัน ขึ้นอยู่กับการผลิตและการพัฒนาของแต่ละบริษัท อย่างไรก็ตามคุณสมบัติโดยทั่วไปของ dispersant แต่ละชนิดจะคล้ายคลึงกัน การใช้ dispersant ทำลายคราบน้ำมันทำได้โดยการฉีด dispersant ที่ผสมน้ำตามอัตราส่วนความเข้มข้นลงไปที่ผิวหน้าของน้ำมัน จะทำให้แรงตึงผิวของน้ำมีค่าใกล้เคียงกับแรงตึงผิวของน้ำมัน คราบน้ำมันจะถูกคลื่นตีแตกกระจายกลายเป็นหยดเล็กๆทีแตกกระจายไปรวมตัวกันขึ้นมาอีกอย่างไรก็ตามการใช้ dispersant ก็มีข้อจำกัด เนื่องจากก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำได้ (สุโขทัย และอุบลวรรณ, 2541)

3.1.2.2 การใช้สารเคมีทำให้น้ำมันรวมตัวกัน (Chemical solidification)

เป็นการใช้สารเคมีที่เรียกว่า solidify สารเคมีชนิดนี้เมื่อฉีดลงบนคราบน้ำมันจะทำให้น้ำมันเปลี่ยนคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี เกิดการรวมตัวกันเป็นก้อนตกลงสู่ท้องน้ำ อย่างไรก็ดี แนวความคิดนี้เป็นสิ่งใหม่เริ่มมีการใช้ solidify ในบางประเทศเท่านั้น เนื่องจากมีราคาแพง ดังนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ส่วนประกอบทางเคมีของ solidify จึงยังไม่มีการเปิดเผย สำหรับประเทศไทยยังไม่มีการนำ solidify มาใช้แต่อย่างใด (ชรัตน์, 2532)

3.1.2.3 การเผา (Burning)

ปกติการกำจัดคราบน้ำมันโดยวิธีนี้เสียค่าใช้จ่ายน้อยที่สุดแต่มักไม่นิยมและไม่แนะนำให้ใช้ในเขตร้อนชื้น เช่น ประเทศไทย เนื่องจากอาจก่อให้เกิดผลเสียหายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำและทรัพย์สินของมนุษย์ได้ หากไม่สามารถควบคุมคราบน้ำมันที่จะเผาให้อยู่ในบริเวณที่กำหนด นอกจากนี้การเผาน้ำมันจะก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางอากาศ อุณหภูมิของน้ำสูงขึ้น และสารที่เหลือหลังจากการเผาไหม้ก็อาจมีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำและสิ่งมีชีวิตได้เช่นกัน (ชนะรัฐ, 2538)

3.1.3 วิธีทางชีวภาพ

เป็นวิธีหรือกระบวนการที่ใช้สิ่งมีชีวิตขนาดเล็กต่างๆ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ รา เข้าย่อยสลาย แบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรามากกว่า 100 ชนิด ที่มีอยู่ในธรรมชาติทั้งบนบก และในน้ำจืดและน้ำทะเล มีคุณสมบัติสามารถย่อยพวกสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้ และโดยทั่วไปต้องอาศัยเชื้อหลายชนิดร่วมกัน (สมรัตน์, 2536)

นอกจากเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติแล้ว ปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการย่อยสลายชีวภาพยังเป็นส่วนหนึ่งที่กำหนดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ และขอบเขตของการย่อยสลายชีวภาพ ปัจจัยทางสภาพแวดล้อมเหล่านี้ได้แก่ ปริมาณออกซิเจน และอาหาร อุณหภูมิและความดัน ความเป็นกรดด่าง ความเค็ม เป็นต้น โดยทั่วไปแล้ว การย่อยสลายคราบน้ำมันเป็นกระบวนการทางธรรมชาติ ซึ่งกระบวนการนี้จะใช้เวลาในการย่อยสลายคราบน้ำมันนาน แต่จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าวิธีอื่นหรือไม่เกิดเลย ปัจจุบันนี้ มีการพัฒนาเทคโนโลยีการบำบัดทางชีวภาพ (Bioremediation) ขึ้นมาใช้เพื่อช่วยเร่งกระบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในธรรมชาติ ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ การให้อาหารเพิ่ม และการเติมเชื้อจุลินทรีย์ (ประพันธ์, 2535) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

3.1.3.1 การให้อาหารเพิ่ม เช่น การเพิ่มไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เข้าสู่บริเวณที่มีการปนเปื้อนของน้ำมัน เพื่อกระตุ้น หรือเพิ่มการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติ การให้อาหารเพิ่มนี้ได้มีการทดลองใช้อย่างจริงจังขนาดใหญ่ ก็คือ ในการกำจัดคราบน้ำมันบนชายหาดที่เกิดจากอุบัติเหตุเรือบรรทุกน้ำมัน Exxon Valdez (สุโขทัย และอุบลวรรณ, 2541) เพื่อช่วยเร่งให้การย่อยสลายปิโตรเลียมเป็นไปได้ในอัตราที่เร็วกว่าปกติ เนื่องจากจุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิต ดังนั้นความต้องการอาหารของจุลินทรีย์ก็เหมือนกับสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ นั้นเอง โดยทั่วไปแล้วแหล่งของอาหารสำหรับจุลินทรีย์ได้แก่ แหล่งไนโตรเจน แหล่งคาร์บอน เกลือแร่ วิตามินและ growth factor ต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

47315

1. แหล่งไนโตรเจน หมายถึงสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบด้วย เช่น โปรตีนกรดอะมิโน เกลือของแอมโมเนียต่าง ๆ ซึ่งจุลินทรีย์มีความต้องการและสามารถใช้ในรูปต่าง ๆ กันแล้วแต่ชนิดของจุลินทรีย์ แบคทีเรียพวก autotrophs สามารถใช้เกลือของแอมโมเนียหรือไนเตรตเป็นแหล่งของไนโตรเจนเพื่อการเจริญได้ ส่วนพวก heterotrophs ใช้กรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ เป็นแหล่งของไนโตรเจนและความต้องการกรดอะมิโนจะแตกต่างกันในแบคทีเรียแต่ละชนิด แต่โดยทั่วไปแล้วในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียมักจะใช้ เปปโตน (peptone), ทริปโตน (tryptone) หรือ ทริปทีเคส (trypticase) เป็นแหล่งของไนโตรเจนสำหรับการเจริญ

2. แหล่งของคาร์บอน หมายถึงสารที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ความต้องการคาร์บอนของจุลินทรีย์มีในรูปต่าง ๆ กัน แบคทีเรียพวก autotrophs ได้รับคาร์บอนจากคาร์บอนไดออกไซด์หรือเกลือคาร์บอเนตต่าง ๆ ส่วนพวก heterotrophs ใช้คาร์บอนจากสารประกอบอินทรีย์ เช่น โปรตีน ลิปิดและคาร์โบไฮเดรต สำหรับในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียมักจะใช้น้ำตาลและแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญ โดยสารเหล่านี้นอกจากจะให้พลังงานแล้วยังนำไปใช้สังเคราะห์ส่วนประกอบของเซลล์อีกด้วย

Facundo และคณะ (2000) ได้ทดลองใช้ bacterium consortium ได้แก่ *Pseudomonas*, *Serratia*, *Acinetobacter* และ *Flavobacterium* โดยใช้น้ำมันดีเซลเป็นแหล่งคาร์บอน ในอาหาร mineral medium พบว่าสามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยง 13 วัน

3. เกลือแร่ เกลือแร่เป็นสารอาหารที่จุลินทรีย์ต้องการน้อยมากเมื่อเทียบกับคาร์บอน และไนโตรเจน แต่ก็ขาดไม่ได้ เพราะเกลือแร่มีความสำคัญในการควบคุมขบวนการอีเลคโตรไลท์ (electrolyte) ของเซลล์ สำหรับความต้องการเกลือแร่ของจุลินทรีย์นั้นจะแตกต่างกันไปในแต่ละชนิด เช่น แบคทีเรียที่สังเคราะห์วิตามินบีสิบสองได้ จะต้องการโคบอลต์สำหรับการเมตาบอลิซึม ส่วนแบคทีเรียที่มีแหล่งเจริญในทะเลก็จะต้องการโซเดียม โปตัสเซียมและคลอไรด์ ในการเจริญ แต่โดยทั่วไปแล้วเกลือแร่ที่แบคทีเรียและจุลินทรีย์ต้องการมากได้แก่ แมกนีเซียม โปตัสเซียม มังกานีส แคลเซียม เหล็ก ฟอสฟอรัสและกำมะถัน เนื่องจากนำไปใช้เป็น โคแฟกเตอร์ ของเอนไซม์บางชนิดและเป็นองค์ประกอบของสารบางชนิด เช่น โคบอลท์เป็นองค์ประกอบของวิตามินบีสิบสอง เหล็กเป็นองค์ประกอบของไซโตโครม ทองแดงเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ ไซโตโครม ออกซิเดส (บัญญัติ, 2535)

นอกจากนั้น รายงานของ Reisfild และคณะ (1972) อ้างโดยกุลวดี (2540) ซึ่งศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสัดส่วนสารอาหารที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนต่างๆ โดยใช้จุลินทรีย์ พบว่า ความเข้มข้นของไนโตรเจน 11 มิลลิกรัมต่อลิตรและฟอสฟอรัส 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นปริมาณที่ดีที่สุดสำหรับการย่อยสลายของ น้ำมันดิบ Iranian ในน้ำทะเลมิเรเตอร์เรเนียน 1 ลิตร ในขณะที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Atlas และ Bartha (1973) อ้างโดยกุลวดี (2540) ได้รายงานว่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน และคาร์บอนต่อฟอสฟอรัส ที่เหมาะสมคือ 10 : 1 และ 100 : 1 ตามลำดับ

4. growth factors (บัญญัติ, 2535) growth factor ในระยะเริ่มแรกมีความหมายถึงสารประกอบใดก็ตามที่ช่วยส่งเสริมหรือเร่งอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าทั้งวิตามินและ growth factor มีความหมายคล้ายคลึงกัน ในปัจจุบันคำว่า growth factor จำแนกได้ 3 ชนิดตามโครงสร้างทางเคมีและหน้าที่ในขบวนการเมตาบอลิซึมดังนี้

4.1 กรดอะมิโน กรดอะมิโนมีความสำคัญสำหรับจุลินทรีย์ เซลล์จะนำไปใช้นากรขบวนการสังเคราะห์เพื่อการเจริญและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ ซึ่งโปรตีนที่มีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับเซลล์ก็คือเอนไซม์นั้นเอง ทั้งนี้เพราะเอนไซม์จะย่อยสลายสารต่าง ๆ เพื่อเซลล์จะได้นำไปใช้ทำให้เกิดกิจกรรมของเซลล์ดำเนินไปตามปกติ สำหรับความต้องกรดอะมิโนของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป เช่น *Streptococcus faecalis* ต้องการ ฮิสติดีน มีไธโอนีน และธริออนีนในการเจริญ ส่วน *Lactobacillus arabinosus* ต้องการ วาลีน กรดกลูตามิก และลูซีน ในการเจริญเป็นต้น

4.2 พิวรีนและไพริมิดีน เป็นสารที่จำเป็นอย่างยิ่งสำหรับนำไปสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค ซึ่งมีความสำคัญสำหรับจุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย เพราะทำหน้าที่เกี่ยวกับการควบคุมทางพันธุกรรมและการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ จุลินทรีย์แต่ละชนิดต้องการสารเหล่านี้แตกต่างกันไป เช่น *Shigella boydii* ต้องการอะดินีนในการเจริญ ส่วน *Staphylococcus aureus* และ *Lactobacillus helevticus* ต้องการยูราซิลในการเจริญ เป็นต้น

4.3 วิตามิน วิตามินมีความสำคัญต่อจุลินทรีย์โดยจะนำไปใช้เป็นโคเอนไซม์ ของเอนไซม์ต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.3 จากการวิเคราะห์หาวิตามินและ growth factor ต่าง ๆ จากอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า yeast extract มีวิตามินบีรวมอย่างสมบูรณ์ดีกว่า meat extract, brain infusion , heart infusion และ peptone ดังนั้นจึงใช้ yeast extract ผสมในอาหารประมาณ1-2 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเลี้ยงจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 ความสำคัญของวิตามินต่อจุลินทรีย์

วิตามิน	โคเอนไซม์	ปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ต้องใช้โคเอนไซม์
Nicotinic acid	Pyridine nucleotide coenzyme (NAD และ NADP)	Dehydrogenations
Riboflavin (วิตามินบีสอง)	Flavin nucleotide (FAD และFMN)	บางปฏิกิริยาของ dehydrogenation และ electron transport systems
Thiamine (วิตามินบีหนึ่ง)	Thiamine pyrophosphate (cocarboxylase)	Decarboxylations และบางปฏิกิริยาของ group tranfer reactions เมตาบอลิซึมของกรดอมิโน, transamination , deamination และ decarboxylation
	Pyridoxal phosphate	
Pantothenic acid	Coenzyme A	Keto-acid oxidation และเมตาบอลิซึมของกรดไขมัน
Folic acid	Tetrahydrofolic acid	Transfer of one carbon units
Biotin	Prosthetic group	Transfer of one carbon units
	Biotin enyzmes	CO_2 fixation และ carboxyl transfer
Cobamide (วิตามินบีสิบสอง)	Cobamide coenzymes	Molecular rearrangement reaction

ที่มา : บัญญัติ (2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.2 การเติมเชื้อ (Seeding)

การเพิ่มจำนวนเชื้อที่ย่อยสลายน้ำมันให้มากขึ้นเป็นการช่วยเร่งกระบวนการที่มีอยู่ในธรรมชาติให้เร็วขึ้นได้อีกวิธีหนึ่ง เชื้อที่เติมแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ เชื้อที่แยกได้จากธรรมชาติ และเชื้อที่ได้ปรับปรุงสายพันธุ์โดยวิธีทางพันธุวิศวกรรมธรรมชาติจะใช้ได้ แต่การที่ใช้เชื้อชนิดนี้จะในธรรมชาติหรือการค้า ก็อาจมีข้อจำกัดเกี่ยวกับกฎระเบียบที่ควบคุม เนื่องจากยังไม่มีข้อมูลสนับสนุนที่มากพอ รวมทั้งในด้านความปลอดภัยจากเชื้อด้วย (ประพันธ์, 2535)

สำหรับในประเทศไทย การศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดคราบน้ำมัน ได้มุ่งเน้นไปที่การหาสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายคราบน้ำมัน ดังจะเห็นได้จากผลการค้นคว้าวิจัยของทีมนักวิจัยจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ซึ่งนำโดย ดร. จิราภรณ์ สุขุมมาสี ขณะนี้ได้ค้นพบจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติดังกล่าวคือ แบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ยีสต์ 2 สายพันธุ์ รา 1 สายพันธุ์ และนำมาพัฒนาให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น จนสามารถย่อยสลายน้ำที่มีการปนเปื้อนน้ำมันเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรน้ำมันต่อปริมาตรน้ำ) ได้หมดภายใน 7 วัน ลักษณะน้ำมันที่ย่อยได้จะหายไปส่วนหนึ่งเนื่องจากถูกกินโดยจุลินทรีย์ ที่เหลือจะแตกตัวกลายเป็นเม็ดเล็กๆ รวมกับน้ำได้ (ชนะรัฐ, 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

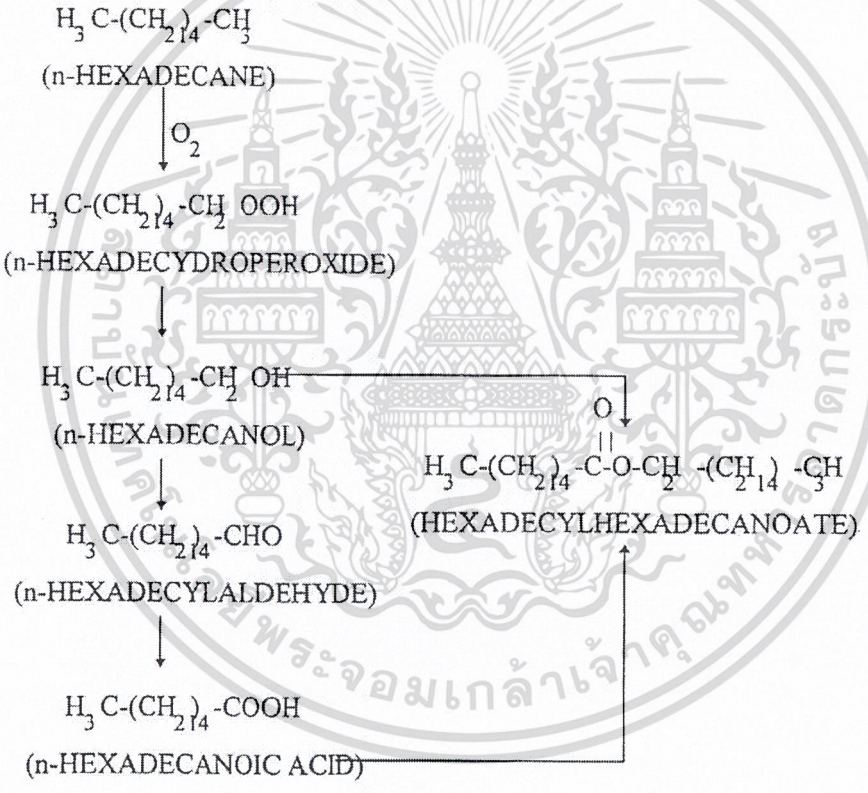
4. กระบวนการเมตาบอลิซึมของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน โดยจุลินทรีย์ (กุลวดี, 2540)

4.1 การย่อยสลายโดยใช้อากาศ (Aerobic degradation)

4.1.1 กระบวนการเมตาบอลิซึมของ n-paraffin

4.1.1.1 วิถี Monoterminal

อัลเคนจะถูกย่อยสลายโดยเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจะเปลี่ยนอัลเคนให้เป็นแอลกอฮอล์, อัลดีไฮด์ และกรดโมโนคาร์บอกซิลิก กรดคาร์บอกซิลิกถูกเมตาบอลิซึมไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์โดยวิถี β - oxidation การย่อยสลายอัลเคนโดยวิถี Monoterminal แสดงดังรูปที่ 2.4



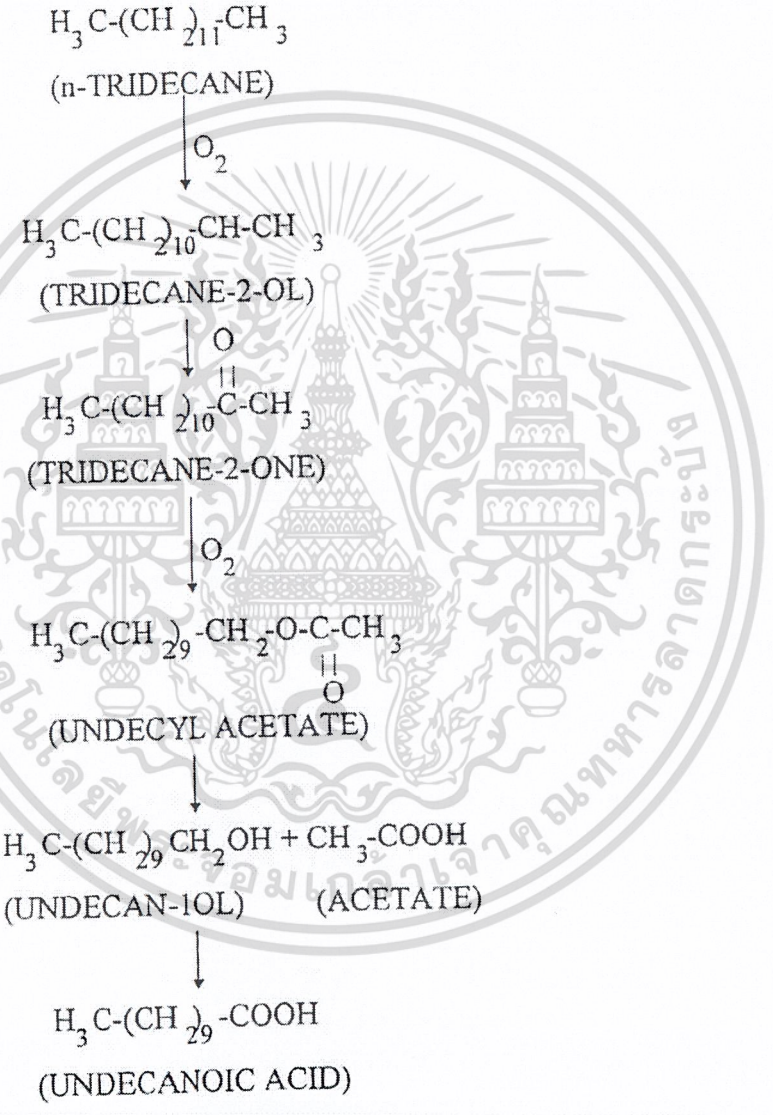
รูปที่ 2.4 วิถี Monoterminal ของ hexadecane โดยเชื้อ *Acinetobacter* sp. H01-N

ที่มา : กุลวดี (2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.1.2 วิถี Subterminal

แบคทีเรียจะใช้อัลเคนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ซึ่งวิถี Subterminal เป็นวิถีย่อยของวิถี Monoterminal แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายอัลเคนได้ เช่น *Bacillus*, *Sterptomyces* และ *Artobacter* ได้ secondary alcohol, คีโตนและกรดไขมัน ดังรูปที่ 2.5



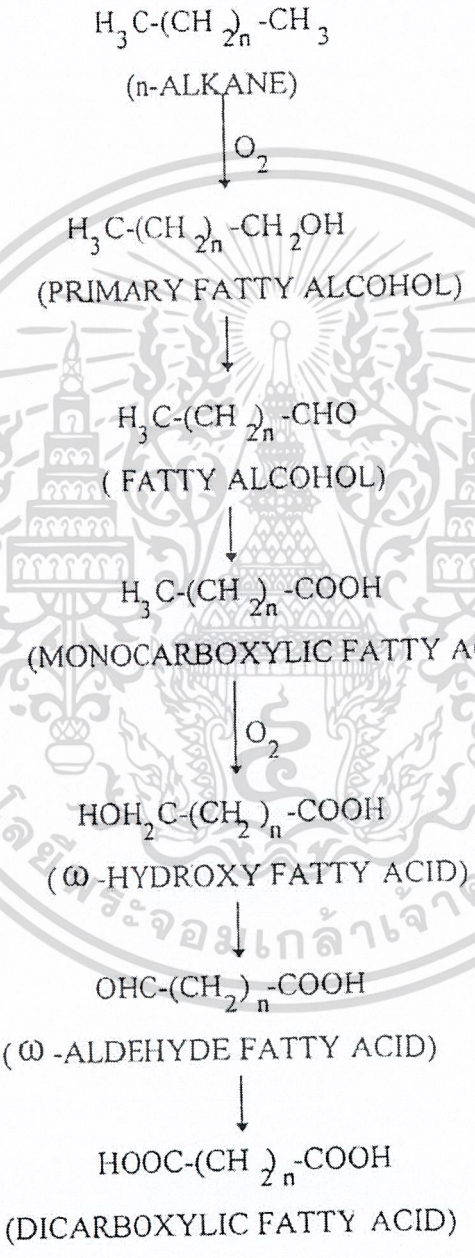
รูปที่ 2.5 วิถี Subterminal alkane โดยเชื้อ *Pseudomonas*

ที่มา : กุลวดี(2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.1.3 วิถี Diterminal

อัลเคนสายยาวจะเปลี่ยนไปเป็น ω - hydroxy fatty acid และ dicarboxylic acids โดยผ่าน ω- oxidation แสดงดังรูปที่ 2.6



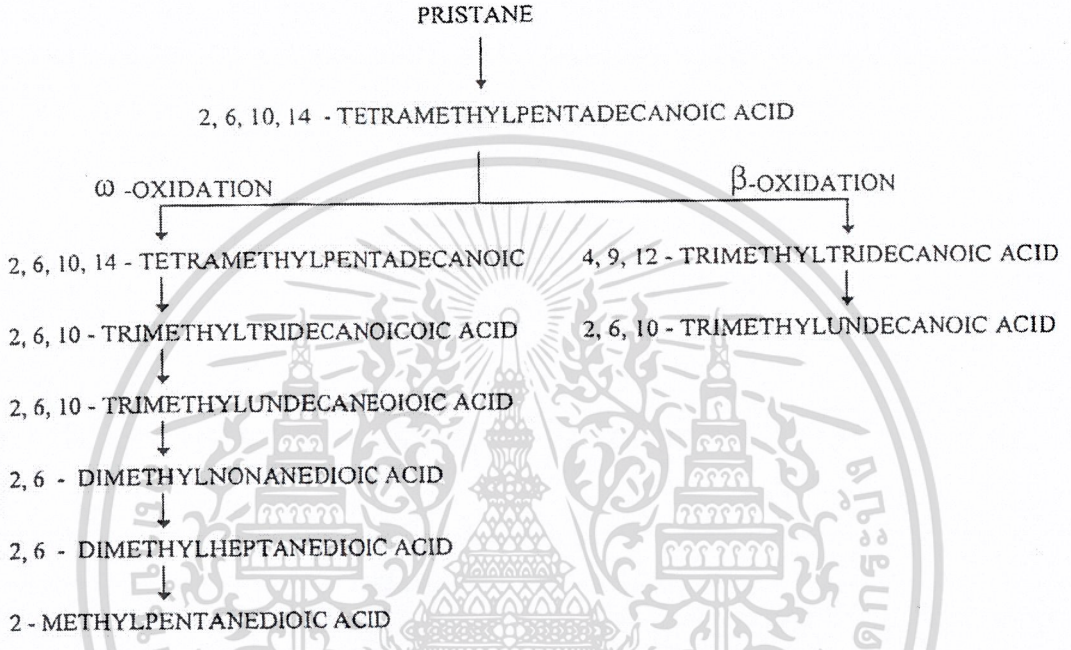
รูปที่ 2.6 วิถี diterminal ของอัลเคน

ที่มา : กุลวดี (2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 กระบวนการย่อยสลาย Paraffin (isoalkane)

อัลเคนชนิดนี้ประกอบด้วยหมู่เมทิลซึ่งจะเพิ่มอุปสรรคในการย่อยสลายของจุลินทรีย์ อัลเคนที่มี isopernoid สูง เช่น 2,6,12,14-tetramethyl pentadecane โดยผ่านวิธี ω- oxidation ดังรูปที่ 2.7

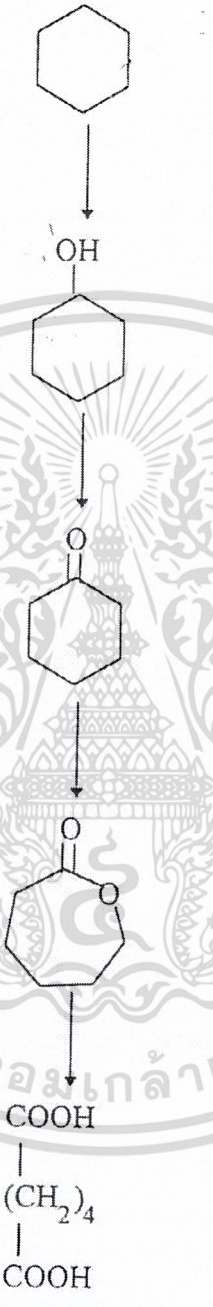


รูปที่ 2.7 วิถี pristane oxidation โดย *Brevibacterium erythrogens*
ที่มา : กุลวดี (2540)

4.1.3 กระบวนการเมตาบอลิซึมของอัลเคนที่เป็นวง

กระบวนการเมตาบอลิซึมของอัลเคนที่เป็นวง cycloalkanes สามารถเป็นสารตั้งต้นสำหรับวิถี co-oxidation ซึ่งจะเปลี่ยนรูปเป็นคีโตนหรือแอลกอฮอล์ โดยจะมีออกซิเจน 1 อะตอมอยู่ที่วงของอัลเคน กระบวนการย่อยสลายของวงอัลเคนจะแตกออกจากกันได้เป็น dicarboxylic acid แสดงดังรูปที่ 2.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 วิถีการย่อยสลายของ cyclohexane โดยเชื้อ *Norcardia* ที่คัดเลือกจากเลนปากแม่น้ำ

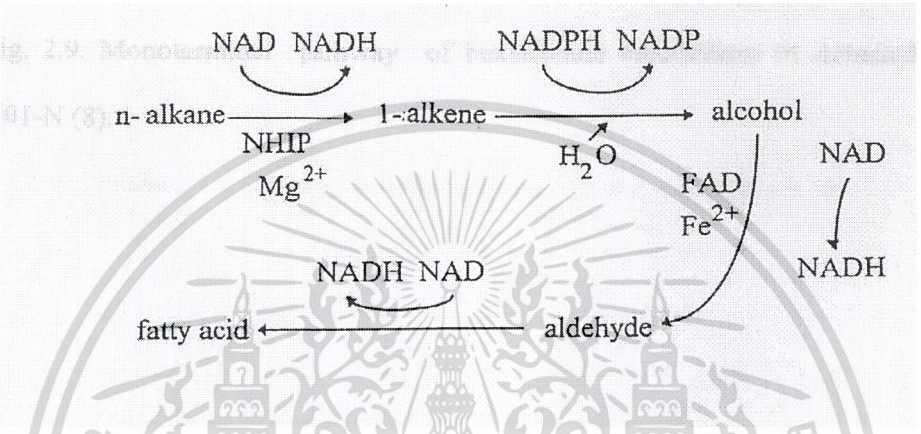
ที่มา : กุลวดี (2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การย่อยโดยไม่ใช้อากาศ (Anaerobic degradation)

4.2.1 กระบวนการเมตาบอลิซึมของอัลเคน

การย่อยสลายโดยไม่ใช้อากาศจะมีขั้นแรกในการเปลี่ยนอัลเคนเป็นอัลคีน เรียกว่า dehydrogenation และจะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดไขมัน เช่น มีเทนจะถูกเปลี่ยนเป็นเมทานอล , ฟอร์มอลดีไฮด์ และฟอร์เมท ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 กระบวนการสลายอัลเคน
ที่มา : กุลวดี (2540)

5. จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมัน (กุลวดี, 2540)

จุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยสลายน้ำมันได้มีหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ รา ไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่าย ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะต้องมีคุณลักษณะที่จำเป็น เพื่อใช้ในการย่อยสลายน้ำมัน เช่น จุลินทรีย์ควรมีกระบวนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพให้เซลล์ของจุลินทรีย์สัมผัสกับโมเลกุลของน้ำมันได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนั้นควรผลิตสารเคมีประเภทสารลดแรงตึงผิว (biosurfactants) เพื่อย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่ไม่ละลายน้ำได้

5.1 แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำมัน

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่เด่นที่สุดในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่แพร่กระจายในแหล่งน้ำ แบคทีเรียประมาณ 63 เปอร์เซ็นต์ สามารถสร้างเม็ดสีซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสีส้มหรือสีเหลือง และส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียแกรมลบมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ตัวอย่างแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำมันได้ เช่น *Acinetobacter radioresistens*, *Bacillus thermoleovrans, Rhodococcus* sp., *Achromobacter* sp., *Actinomyces* sp., *Flavobacterium* sp., *Vibrio* sp., *Micrococcus* sp. เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 2.4 นอกจากนั้น Kampfer และคณะ (1993) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งน้ำบริเวณใกล้โรงกลั่นน้ำมันในเยอรมันนี พบว่าจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วน Koma และคณะ (2001) ทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งดิน พบว่าเชื้อ สายพันธุ์ *Acinetobacter* sp. มีความสามารถในการย่อยพาราฟินสายยาวในน้ำมันเครื่องรถยนต์ที่ใช้แล้ว

5.2 ราที่สามารถย่อยสลายน้ำมัน

ราพวก filamentous มีความสำคัญที่สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในดิน Davies (1979) พบว่ามีรากว่า 60 ชนิด ที่สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ และรายังสามารถย่อยสลายประกอบพวกอะโรมาติกได้ดีกว่าแบคทีเรีย ตัวอย่างราที่สามารถย่อยสลายน้ำมันได้แสดงในตาราง 2.4 ส่วนในแหล่งน้ำ ยีสต์และราพวก filamentous ที่พบตามตะกอนเลนและผิวหน้าฟิลม์สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ ยีสต์ส่วนใหญ่สามารถนำไฮโดรคาร์บอนไปใช้ได้ เช่น *Cannida moltosa* สามารถย่อยสลาย n-alkanes ในกรดไขมันโดยใช้วิถี monotermial hydroxylation (กุลวดี, 2540) Komagata และคณะ (1964) ตรวจสอบการย่อยสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในยีสต์ 500 ชนิด และพบว่า 56 ชนิด ที่สามารถย่อยสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ ส่วนอยู่ในจีนัส *Candida* นอกจากนั้น Ahearn และคณะ (1999) ได้คัดเลือกเชื้อยีสต์ที่มีประสิทธิภาพย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอน จากตัวอย่างดิน สายพันธุ์ที่พบ คือ *Candida*, *Rhodosporidium*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Sporobolomyces*, *Cladosporium*, และ *Trichosporium* ซึ่ง *Chadosporium resinae* มีประสิทธิภาพการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนดีที่สุด ซึ่งคัดเลือกได้จากดินที่มีการปนเปื้อนของน้ำมันเครื่องบิน

ตารางที่ 2.4 แบคทีเรียและราที่สามารถย่อยสลายน้ำมัน

แบคทีเรีย	รา
Achromobacter	*Aspergillus*
Acinetobacter	*Aurebasidium*
Actinomyces	*Botrytis*
Aeromonas	*Candida*
Alcaligenes	*Cephalosporium*
Bacillus	*Cladosporium*
Brevibacterium	*Fusarium*
Klebsiella	*Gonytrichum*
Lactobacillus	*Hensenula*
Leucothrix	*Helmithosporium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

แบคทีเรีย	รา
Moraxella	*Mucor*
Nocardia	*Penicillium*
Pseudomonas	*Rhodotorula*
Streptomyces	*Saccharomycopsis*
Vibrio	*Sporobolomyces*
Xanthomyces	*Torulopsis*

ที่มา : กุลวดี (2540)

5.3 ไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายที่สามารถย่อยสลายน้ำมัน

ไซยาโนแบคทีเรียและสาหร่ายบางชนิดสามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ เช่น *Prototheca zopfi* สามารถใช้น้ำมันดิบและสารตั้งต้นที่มีไฮโดรคาร์บอนผสมอยู่ได้ Cerniglia และคณะ (1980) รายงานว่า ไซยาโนแบคทีเรีย 9 ชนิด สาหร่ายสีเขียว 5 ชนิด สาหร่ายสีแดง 1 ชนิด สาหร่ายน้ำตาล 1 ชนิด และไดอะตอมอีก 2 ชนิด ออกซิไดส์แนฟทาลีนได้

Walker และคณะ (1975) ได้ทำการเปรียบเทียบความสามารถย่อยสารประกอบไฮโดรคาร์บอนของฟังไจและแบคทีเรีย โดยใช้จุลินทรีย์ดังต่อไปนี้ *Candida, Sporobolomyces, Hansenula, Aureobasidium, Rhodotorula, Cladosporium, Penicillium, Aspergillus, Pseudomonas, Vibrio, Acinetobacter, Liucothrix, Norcadia* และ *Rhisobium* พบว่าแบคทีเรียและยีสต์จะมีความสามารถในการย่อยลดลงเมื่อย่อยอัลเคนสายยาว ส่วนราที่เป็นพวก filamentous จะไม่ถูกยับยั้งโดยอัลเคนสายยาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองรวมถึงรุ่นและบริษัทที่ผลิตแสดงมีดังต่อไปนี้

1. Rotary Evaporator: model BUCHI 011, RE 111,Switzerland
2. Incubator: model T490181, Binder control E2
3. Orbital Shaker: model FT01/156, Sanyo Gallenkamp PLC, UK.
4. Autoclave: model A052542, Astell Scientific, England
5. Spectrophotometer: model 6405 UV/VIS, number 1259, JENWAY, UK.
6. Laminar Air Flow: "ISSCO" Laminar flow model HS123, Dwyer Instruments, INC. U.S.A.
7. เครื่องชั่งน้ำหนัก: model AG204, Metter Toledo, Switzerland
8. Hot air oven: Model 600 (D06062), Memmert
9. pH meter: Model 215, Denver Instrument

3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี	สูตรเคมี	เกรด
Chlorofrom	K_2HPO_4	Laboratory
Calcium chloride	$CaCl_2$	Laboratory
Diammonium hydrogen phosphate	$(NH_4)_2HPO_4$	Laboratory
Hydrochloric acid	HCl	Laboratory
Iron (III) chloride	$FeCl_3$	Laboratory

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

สารเคมี	สูตรเคมี	เกรด
Magnesium sulfate	$MgSO_4$	Laboratory
Potassium chloride	KCl	Laboratory
Potassium dihydrogen phosplate	KH_2PO_4	Laboratory
Potassium nitrate	KNO_3	Laboratory
Sodium chloride	NaCl	Laboratory
Sodium hydroxide	NaOH	Laboratory
Sodium sulfate anhydrous	$NaSO_4$	Laboratory
Mineral oil	-	Laboratory

3.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

อาหารที่ใช้ คือ Nutrient Agar, Bushnell-Hass (BH) อาหารทุกชนิดต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

Nutrient broth (NB) and agar (NA) (Difco)

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ปรับพีเอชอาหาร ให้ได้ 6.8 ส่วนการเตรียมอาหาร NA จะเติมวุ้น 15 กรัม ใน 1 ลิตรของ NB ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

Bushnell-Haas (BH) broth

Bushnell และ Haas ได้สร้างสูตรอาหาร BH ซึ่งเป็นหนึ่งในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการศึกษาการใช้ไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

$CaCl_2$	0.02	กรัม
$(NH_4)_2HPO_4$	1	กรัม
$FeCl_3$	0.05	กรัม
$MgSO_4$	0.2	กรัม
KH_2PO_4	1	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

KNO_3	1	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

สำหรับ BH-Oil agar เตรียมโดยเติมวุ้น 15 กรัมใน อาหาร 1 ลิตร ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.3 น้ำมันเครื่องรถยนต์

น้ำมันเครื่องรถยนต์ที่ใช้ในการศึกษาเป็นน้ำมันเครื่องรถยนต์ที่ใช้แล้วที่ได้จากอู่ซ่อมรถยนต์ จ.ชลบุรี ก่อนนำมาใช้ต้องผ่านการฆ่าเชื้อโดยการใช้ความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที แล้วจึงนำมาใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วด้วยวิธีเดียวกันตามสัดส่วนที่ต้องการ โดยขั้นตอนทั้งหมดนี้ต้องอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องจากแหล่งต่าง ๆ ในธรรมชาติ

ตัวอย่างน้ำและดินจากแหล่งต่าง ๆ (ตารางที่ 3.2) จะถูกนำมาคัดแยกเชื้อแบคทีเรีย โดยนำตัวอย่าง 1 มิลลิกรัมใส่ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ แล้วเลือกใช้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม โดยนำมา 0.1 มิลลิลิตร มาทำเทคนิค spread plate ในอาหาร NA จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตและนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

จากนั้นนำแต่ละเชื้อที่เจริญในอาหาร NA มาทดสอบการย่อยน้ำมันเครื่องโดยเพาะเลี้ยงในอาหาร BH-oil agar ด้วยวิธี replica plating นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตเชื้อที่สามารถเจริญบนอาหาร BH-oil agar ได้ ตรวจสอบลักษณะเชื้อเปรียบเทียบกับอาหาร NA ในตอนต้น แล้วคัดเลือกเชื้อที่สามารถเจริญได้ในอาหาร BH-oil agar เก็บไว้ใน vial เพื่อทำการทดลองขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 3.2 แหล่งตัวอย่างที่นำมาคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์

รหัสแหล่ง	สถานที่	วันที่เก็บ
Ex01	ตัวอย่างน้ำจากสระน้ำข้างโรงอาหารวิทยาศาสตร์ สจล.	9 พ.ย. 2544
Ex02	ตัวอย่างน้ำจากบ่อน้ำหน้าชุมนุมดนตรี สจล.	9 พ.ย. 2544
Ex03	ตัวอย่างดินจากสนาม จ.ชลบุรี	19 พ.ย. 2544
Ex04	ตัวอย่างดิน จ.ฉะเชิงเทรา	24 ธ.ค. 2544
Ex05	ตัวอย่างน้ำจากท่อน้ำทิ้ง ปั๊มบางจาก อ.ทับสะแก จ. ประจวบคีรีขันธ์	31 ธ.ค. 2544
Ex 06	ตัวอย่างดินจากท่อน้ำทิ้ง ปั๊มPT อ.ท่าฉาง จ.สุราษฎร์ธานี	28 ธ.ค. 2544
Ex07	ตัวอย่างน้ำจากท่อน้ำทิ้ง ปั๊มน้ำมัน จ.ประจวบคีรีขันธ์	31 ธ.ค. 2544
Ex08	ตัวอย่างดินจากทุ่งนา อ.กบินทร์บุรี จ.ปราจีนบุรี	16 ม.ค. 2545
Ex09	ตัวอย่างดินจากสวน จ.ฉะเชิงเทรา	2 ก.พ. 2545
Ex10	ตัวอย่างดินโป่งจากเขาใหญ่ จ.นครราชสีมา	10 มี.ค. 2545
Ex11	ตัวอย่างดินจากบริเวณ Golden Valley Resort เขาใหญ่ จ. นครราชสีมา	10 มี.ค. 2545
Ex12	ตัวอย่างดินจากCowboy Resort เขาใหญ่ จ.นครราชสีมา	10 มี.ค. 2545
Ex13	ตัวอย่างน้ำจากคลองประเวศ กทม.	13 มี.ค. 2545
Ex14	ตัวอย่างน้ำจากท่อน้ำทิ้งบริเวณ Plaza ลาดกระบัง	13 มี.ค. 2545
Ex15	ตัวอย่างน้ำจากท่อน้ำทิ้งร้านซ่อมรถ ลาดกระบัง	14 มี.ค. 2545
Ex16	ตัวอย่างดินจากท่อน้ำทิ้งนิคมอุตสาหกรรมบางปู จ.สมุทรปราการ	15 มี.ค. 2545
Ex17	ตัวอย่างดินจาก อ.ท่ายาง จ.เพชรบุรี	17 มี.ค. 2545
Ex18	ตัวอย่างน้ำจากท่อน้ำทิ้ง ปั๊ม JET พระราม 9 กทม.	17 มี.ค. 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การคัดเลือกกลุ่มเชื้อแบคทีเรียจากแหล่งตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องดีที่สุด

นำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อที่คัดแยกได้แต่ละชนิดจากแหล่งตัวอย่างเดียวกัน มาใส่ในฟลาสก์ที่มีน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ให้เชื้อในแต่ละฟลาสก์มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.500 $\pm$ 0.05 แล้วจึงนำเชื้อแต่ละฟลาสก์รวมกันให้ได้ปริมาณ 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ที่มีอาหาร BH-broth 50 มิลลิลิตร ที่เติมน้ำมันเครื่องรถยนต์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ นำมาเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีอากาศ โดยใช้เครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงทุกวันจนครบ 7 วัน ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันเครื่องรถยนต์ในแต่ละแหล่งตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบจากปริมาณน้ำมันที่เหลือในรูปน้ำหนักแห้ง (Dry weight) แล้วคัดเลือกกลุ่มเชื้อจากแหล่งตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพการย่อยสูงสุด นำมาทำการทดลองขั้นต่อไป

3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันของกลุ่มเชื้อในแต่ละแหล่งตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพการย่อยดีที่สุด

3.4.3.1 การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันของกลุ่มเชื้อจากแหล่งตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพการย่อยสูงสุด

นำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อที่คัดแยกได้แต่ละชนิดจากแหล่งตัวอย่างที่ดีที่สุด มาใส่ในฟลาสก์ที่มีน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยให้แต่ละฟลาสก์มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.500 $\pm$ 0.05 แล้วจึงนำเชื้อจากแต่ละฟลาสก์ปริมาณรวมกันให้ได้ 2.5 มิลลิลิตรมาใส่ในฟลาสก์ที่มีอาหาร BH-broth 50 มิลลิลิตร ที่มีน้ำมันเครื่องเปอร์เซ็นต์ 0.5 นำมาเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีอากาศ โดนใช้เครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm โดยตรวจสอบการเจริญเติบโตด้วยวิธี Total plate count และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ทุก ๆ 1 วัน จนกระทั่งครบ 7 วัน ทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันที่เหลือในรูปน้ำหนักแห้ง เมื่อเพาะเลี้ยงจนครบ 7 วัน ทำการคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์ที่เหลือ โดยนำเชื้อที่บ่มเพาะเลี้ยงในอาหาร BH-oil Broth ครบ 7 วัน ปริมาณ 1 มิลลิลิตร มาใส่ในหลอดทดลองที่มีน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์อยู่ 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และทำการเจือจางที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ คัดเลือกระดับความเจือจางที่เหมาะสม นำมา 0.1 มิลลิลิตร ใช้เทคนิค spread plate ในอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบเชื้อที่เหลืออยู่ ทำการแยกจนได้เชื้อบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค streak plate เก็บไว้ใน vial เพื่อทำการทดลองขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันของเชื้อบริสุทธิ์ในแหล่งตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพการย่อยดีที่สุด

นำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันเครื่องดีที่สุด มาใส่ในฟลาสก์ที่มีน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ปรับให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากัน 0.500 $\pm$ 0.05 แล้วจึงนำเชื้อจากในฟลาสก์มา 2.5 มิลลิลิตร มาใส่ในฟลาสก์ที่มีอาหาร BH-broth 50 มิลลิลิตรที่เติมน้ำมันเครื่อง 0.5 เปอร์เซ็นต์ นำมาเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีอากาศ โดยใช้เครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm ที่อุณหภูมิห้อง นำมานับจำนวนเซลล์ (Total plate count) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ทุก ๆ 1 วัน เพื่อตรวจสอบการเจริญเติบโต เมื่อครบ 7 วัน จะทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันที่เหลือในรูปน้ำหนักแห้ง

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่เหลือจากการย่อยน้ำมันเครื่องรถยนต์ด้วยจุลินทรีย์ (กุลวดี, 2540)

3.5.1 การสกัดไฮโดรคาร์บอนที่เหลือจากการย่อยในอาหาร BH-oil broth

เทอาหาร BH-oil broth ในฟลาสก์ที่ทำการทดสอบการย่อยน้ำมันมาใส่ในกรวยแยก (seperatory funnel) เติมคลอโรฟอร์ม 80 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ ชะล้างน้ำมันที่ติดข้างๆ ฟลาสก์ให้หมด แล้วเทใส่ในกรวยแยกเขย่ากรวยแยกแรง ๆ เพื่อแยกให้น้ำมันละลายอยู่ในชั้นคลอโรฟอร์ม ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดการแยกชั้นของสาร ไขเอาชั้นคลอโรฟอร์มลงในขวดก้นกลมที่ทราบน้ำหนักขวด โดยกรองสารผ่านกระดาษกรองที่มีโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส นำสารละลายส่วนที่เหลือมาสกัดอีกครั้ง ด้วยคลอโรฟอร์ม 20 มิลลิลิตร ทำตามวิธีข้างต้น แล้วนำส่วนของคลอโรฟอร์มที่สกัดแล้วในขวดก้นกลมไปทำการระเหยคลอโรฟอร์มออก แล้วนำมาอบที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ขวดก้นกลมไปชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์น้ำมันที่เหลือ

3.5.2 การคำนวณข้อมูลด้วยวิธีทางสถิติ

นำข้อมูลทุกค่าไปทดสอบการกระจายตัวปกติ จากนั้น เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี One-way analysis of varience และ Student-Newman-Keuls ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ (Sigma Statistical Software) ของ Jandel Corperation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องจากแหล่งต่าง ๆ ในธรรมชาติ

ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย ที่ได้จากการคัดเลือกจากแหล่งตัวอย่างต่าง ๆ ใน BH-oil agar ที่มีน้ำมันเครื่อง 0.5 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง และการทดสอบการติดสีแกรม แสดงได้ในตารางที่ 4.1 ซึ่งจากการทดลองคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยน้ำมันเครื่องจากแหล่งตัวอย่างต่างๆในประเทศไทย โดยการคัดแยกเชื้อในอาหาร NA พบว่า ได้จำนวนแบคทีเรียบน NA ทั้งหมด 84 ไอโซเลต (isolate) และเมื่อทำการทดสอบการย่อยน้ำมันในอาหาร BH-oil agar ที่มีน้ำมันเครื่อง 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีแบคทีเรียที่สามารถเจริญบนอาหาร BH-oil agar 74 ไอโซเลต คิดเป็น 88.09 เปอร์เซ็นต์ของไอโซเลตทั้งหมดที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่างบน NA โดยเป็นแบคทีเรียแกรมลบ 67 ไอโซเลต และเป็นแบคทีเรียแกรมบวก 7 ไอโซเลต จำนวนไอโซเลตและลักษณะโคโลนีแสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่าง EX 01 ไม่สามารถเจริญบนอาหาร BH-oil agar ได้ คิดเป็น 0 เปอร์เซ็นต์ของไอโซเลตที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่างบน NA แหล่งตัวอย่าง EX 08 และ EX 09 จากสวนมะม่วง (ตารางที่ 3.2) คัดแยกเชื้อแบคทีเรียได้มากที่สุด 8 ไอโซเลตต่อแหล่งตัวอย่าง คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ของไอโซเลตที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่างนั้นบน NA

ตารางที่ 4.1 ลักษณะแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่างต่าง ๆ

รหัสแหล่ง	Viable count บน NA (CFU/ml)	จำนวนไอโซเลตใน NA	จำนวนไอโซเลตใน BH-oil agar	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนีบน BH-oil agar	แกรม
EX 01	2.3×10^4	2	-	-	-	-
EX 02	5.3×10^4	3	2	C-01	มีสีเหลือง มันวาว	บวก
				C-02	สีขาว โคโลนีขนาดเล็ก	บวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

รหัสแหล่ง	Viable count บน NA (CFU/ml)	จำนวนไอโซเลตใน NA	จำนวนไอโซเลตใน BH-oil agar	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนีบน BH-oil agar	แกรม
EX 03	8.5×10^5	4	4	C-03	สีขาว โคโลนีมีขนาดเล็ก	ลบ
				C-04	สีครีม มี clear zone	ลบ
				C-05	สีเหลืองอ่อน เยิ้ม	ลบ
				C-06	สีครีม แผ่กระจาย	บวก
EX 04	1.2×10^4	2	2	C-07	สีส้ม มันวาว	ลบ
				C-08	สีขาวขุ่น แผ่กระจาย	บวก
EX 05	3.8×10^4	3	2	C-09	สีขาว แผ่คล้ายกิ่งไม้	ลบ
				C-10	สีขาว โคโลนีกลม ขนาดเล็ก	ลบ
EX 06	6.7×10^5	4	4	C-11	สีขาวจาง ๆ แผ่กระจาย	ลบ
				C-12	สีครีมโคโลนีกลมขนาดใหญ่	ลบ
				C-13	สีขาว ขอบสีเข้ม	ลบ
				C-14	สีส้ม มันวาว เห็นขอบชัดเจน	ลบ
EX 07	5.2×10^5	5	5	C-15	สีขาวขุ่น โคโลนีขนาดเล็ก	ลบ
				C-16	สีครีมอมเหลืองโคโลนีขนาดเล็ก	ลบ
				C-17	สีขาวขุ่น ลักษณะคล้ายกิ่งไม้	ลบ
				C-18	สีส้ม โคโลนีขนาดเล็ก	ลบ
				C-19	สีครีม โคโลนีมีลักษณะกลมใหญ่	ลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

รหัสแหล่ง	Viable count บน NA (CFU/ml)	จำนวนไอโซเลตใน NA	จำนวนไอโซเลตใน BH-oil agar	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนีบน BH-oil agar	แกรม
EX 08	9.5×10^5	8	8	C-20	สีเหลือง เห็นขอบโคโลนีชัดเจน	ลบ
				C-21	สีขาวขุ่น โคโลนีขนาดเล็ก	ลบ
				C-22	สีส้ม มันวาว	บวก
				C-23	สีขาวขุ่น มันวาว	ลบ
				C-24	สีขาว แผ่คล้ายกิ่งไม้	บวก
				C-25	สีครีมอมเหลือง	ลบ
				C-26	มันวาวสีขาวครีมแผ่คล้ายกิ่งไม้	ลบ
				C-27	สีครีมอมส้ม เยิ้ม	ลบ
EX 09	2.9×10^6	8	8	C-28	สีขาวใส โคโลนีขนาดเล็กกลม	ลบ
				C-29	สีเหลือง ผิวด้าน เห็นขอบชัดเจน	ลบ
				C-30	สีครีม ผิวโคโลนีมันวาว	ลบ
				C-31	สีขาวจาง โคโลนีแผ่คล้ายกิ่งไม้	ลบ
				C-32	สีเหลือง เห็นขอบโคโลนีชัดเจน	บวก
				C-33	สีครีมอมส้มโคโลนีมีขนาดเล็ก	ลบ
				C-34	สีครีม เยิ้ม	ลบ
				C-35	สีส้ม ผิวโคโลนี มันวาว	ลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

รหัสแหล่ง	Viable count บน NA (CFU/ml)	จำนวนไอโซเลตใน NA	จำนวนไอโซเลตใน BH-oil agar	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนีบน BH-oil agar	แกรม
EX 10	5.3×10^4	7	4	C- 36	สีขาวใส โคโลนีขนาดเล็ก	ลบ
				C- 37	สีขาวขุ่น ผิวโคโลนีด้านเห็นขอบชัดเจน	ลบ
				C- 38	สีครีม โคโลนีขนาดเล็ก	ลบ
				C- 39	สีขาว โคโลนีขนาดใหญ่แผ่กระจาย	ลบ
				C-40	สีขาว มีสีเข้มที่ขอบนอกผิวมันวาว	ลบ
EX 11	2.8×10^4	4	2	C-41	สีขาวจาง โคโลนีแผ่คล้ายกิ่งไม้	ลบ
				C-52	สีส้มอ่อน เห็นขอบชัดเจนผิวมันวาว	ลบ
EX 12	4.5×10^4	4	4	C-53	สีขาวขุ่น มันเยิ้ม	ลบ
				C-54	สีขาวจาง โคโลนีใหญ่	ลบ
				C-55	สีเหลือง ผิวโคโลนีมันวาว	ลบ
				C-42	สีครีม โคโลนีขนาดเล็กเห็นขอบชัด	ลบ
				C-43	สีขาวขุ่น เยิ้ม	ลบ
EX 13	4.5×10^4	5	5	C-44	สีขาว โคโลนีแผ่กิ่งก้าน	ลบ
				C-45	สีครีมอมเหลืองผิวโคโลนีมันวาว	ลบ
				C-46	สีขาว โคโลนีมีขนาดเล็กกลม	ลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

รหัสแหล่ง	Viable count บน NA (CFU/ml)	จำนวนไอโซเลตใน NA	จำนวนไอโซเลตใน BH-oil agar	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนีบน BH-oil agar	แกรม
EX 14	2.5×10^5	5	5	C-47	สีส้ม มันวาว	ลบ
				C-48	สีครีม เยิ้ม	ลบ
				C-49	สีขาวขุ่น โคโลนีแผ่คล้ายกิ่งไม้	ลบ
				C-50	สีขาวจาง โคโลนีแผ่กระจาย	ลบ
				C-51	สีครีมอมส้ม ผิวโคโลนีมันวาว	ลบ
EX 15	4.8×10^5	6	6	C-56	สีเหลืองเข้ม ผิวโคโลนีมันวาว	ลบ
				C-57	สีขาวขุ่น เยิ้ม	ลบ
				C-58	สีขาว ขอบใส	ลบ
				C-59	สีขาวขุ่น โคโลนีขนาดเล็ก	ลบ
				C-60	สีครีม เยิ้ม	ลบ
				C-61	สีขาว โคโลนีแผ่คล้ายกิ่งไม้	ลบ
EX 16	3.2×10^4	4	4	C-62	สีขาวขุ่น มันวาว	ลบ
				C-63	สีขาว ผิวด้าน โคโลนีมีขนาดเล็ก	ลบ
				C-64	สีขาว ขอบแห้ง	ลบ
				C-65	สีขาว มันวาว โคโลนีคล้ายไข่ดาว	ลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

รหัสแหล่ง	Viable count บน NA (CFU/ml)	จำนวนไอโซเลตใน NA	จำนวนไอโซเลตใน BH-oil agar	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนีบน BH-oil agar	แกรม
EX 17	4.9×10^5	5	4	C-66	สีขาว โคโลนีอยู่กันเป็นกลุ่ม	ลบ
				C-67	สีขาวจาง แผ่กระจาย	ลบ
				C-68	สีขาว โคโลนีแผ่คล้ายกิ่งไม้	ลบ
				C-69	สีครีมอมเหลือง ขอบจาง	ลบ
EX 18	4.9×10^5	5	5	C-70	สีครีม ผิวโคโลนีมันวาว	ลบ
				C-71	สีครีม ขอบโคโลนีสีจาง	ลบ
				C-72	สีขาวขุ่น ผิวโคโลนีมันวาว	ลบ
				C-73	สีขาวขอบ เข้ม	ลบ
				C-74	สีขาว โคโลนีแผ่กระจาย	ลบ

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันเครื่องของเชื้อที่คัดเลือกได้

4.2.1 การคัดเลือกกลุ่มเชื้อแบคทีเรียจากแหล่งตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องดีที่สุด

เมื่อนำแบคทีเรียจากแหล่งตัวอย่างไปทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องโดยเลี้ยงในอาหาร BH-oil broth ที่มีน้ำมันเครื่อง 0.5 เปอร์เซ็นต์ แสดงได้ในตารางที่ 4.2 พบว่าจากแหล่งตัวอย่าง EX 16 ซึ่งเป็นตัวอย่างดินจากท่อน้ำทิ้งของนิคมอุตสาหกรรมบางปู จ. สมุทรปราการ มีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องได้ดีที่สุดเท่ากับ 19.96 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มแบคทีเรียจากตัวอย่างที่ EX 18 ซึ่งเป็น ตัวอย่างน้ำจากท่อน้ำทิ้งสถานบริการน้ำมัน JET จ. กรุงเทพฯ มีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องรองลงมา โดยมีเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันที่เหลือ 26.32 เปอร์เซ็นต์ หลังจากทดสอบเป็นเวลา 7 วัน ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.2 ส่วนแบคทีเรียจากแหล่งตัวอย่าง EX 06 เป็นตัวอย่างดินจากบริเวณท่อน้ำทิ้งสถานีบริการน้ำมัน PT จ. สุราษฎร์ธานี มีประสิทธิภาพการย่อยสลายต่ำที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือ 78.73 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ผลการย่อยน้ำมันโดยเชื้อแบคทีเรียในแต่ละแหล่งตัวอย่างเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำมันเครื่องรถยนต์ที่เหลือจากการย่อย หลังจากเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร BH-oil broth เป็นเวลา 7 วัน

แหล่งตัวอย่าง	ร้อยละของปริมาณน้ำมันเครื่องรถยนต์ที่เหลือจากการย่อยโดยเฉลี่ย
Ex01	-
Ex02	56.63
Ex03	72.59
Ex04	76.81
Ex05	76.62
Ex06	78.73
Ex07	55.49
Ex08	76.63
Ex09	63.22
Ex10	43.51
Ex11	59.63
Ex12	52.77
Ex13	47.40
Ex14	42.46
Ex15	48.04
Ex16	19.96
Ex17	38.64
Ex18	26.32

จากการทดลองพบว่า สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยน้ำมันเครื่องจากแหล่งที่มีการปนเปื้อนน้ำมันได้ 20 ไอโซเลต จากจำนวนเชื้อทั้งหมดจากแหล่งตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนน้ำมันที่แยกได้บน NA 21 ไอโซเลต คิดเป็น 95.24 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อที่แยกได้จากแหล่งที่มีการปนเปื้อนน้ำมัน (EX 05, EX 06, EX 07, EX 16 และ EX 18) ส่วนแหล่งตัวอย่างที่ไม่มีการปนเปื้อนของน้ำมัน สามารถคัดแยกเชื้อได้ 54 ไอโซเลต จากจำนวนเชื้อทั้งหมดจากแหล่งตัวอย่างที่ไม่มีการปน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปื้อนน้ำมันที่แยกได้บน NA 63 ไอโซเลต คิดเป็น 85.71 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อที่แยกได้จากแหล่งที่ไม่มีการปนเปื้อนทั้งหมด

แหล่งตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนน้ำมัน เช่น EX 16 ซึ่งเป็นดินบริเวณท่อน้ำทิ้งนิคมอุตสาหกรรมบางปู จ. สมุทรปราการ และมีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องสูงสุด และจากแหล่งตัวอย่าง EX 17 จากท่อน้ำทิ้งสถานีบริการน้ำมัน JET จ. กรุงเทพฯ มีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องรองลงมา เนื่องจากแหล่งตัวอย่าง EX 16 เป็นบริเวณที่มีน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมปนเปื้อน ซึ่งจะมีน้ำมันชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำมันหล่อลื่น น้ำมันเครื่อง ปะปนอยู่ด้วย จึงทำให้เชื้อแบคทีเรียที่ได้จากแหล่งตัวอย่างนี้มีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องสูงสุด

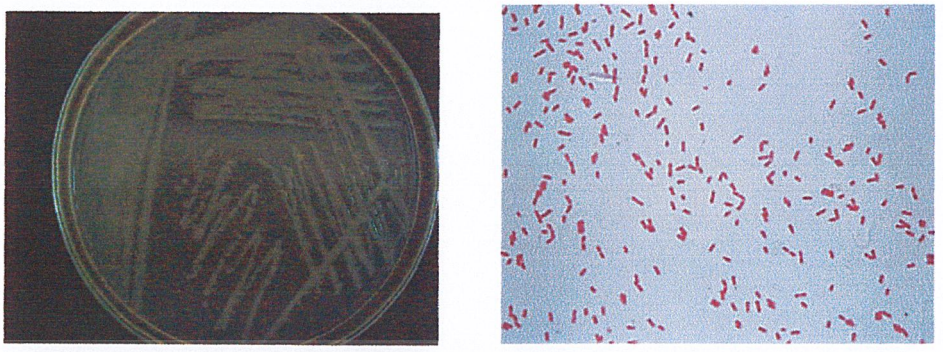
ส่วนเชื้อจากแหล่ง EX 06 มีประสิทธิภาพในการย่อยน้ำมันเครื่องน้อยที่สุด ถึงแม้ว่าตัวอย่างดินนี้เก็บได้ในบริเวณท่อน้ำทิ้งสถานีบริการน้ำมัน PT แต่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องต่ำสุด เนื่องจากก่อนหน้าวันที่เก็บตัวอย่าง มีฝนตกทำให้มีเชื้อจุลินทรีย์ในแหล่งนั้นถูกชะล้าง รวมทั้งแหล่งน้ำมันที่ปนเปื้อนลดน้อยลง เป็นสาเหตุให้เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้มีประสิทธิในการย่อยน้ำมันลดลง หรือเนื่องมาจากสภาวะที่ใช้ในการทดสอบ เช่น อุณหภูมิ การให้อากาศ หรือสารอาหารไม่เหมาะสม ทำให้แบคทีเรียที่ได้จากแหล่งนี้มีประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันเครื่องต่ำสุด (Atlas, 1981)

4.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันของกลุ่มเชื้อในแต่ละแหล่งตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพการย่อยดีที่สุด

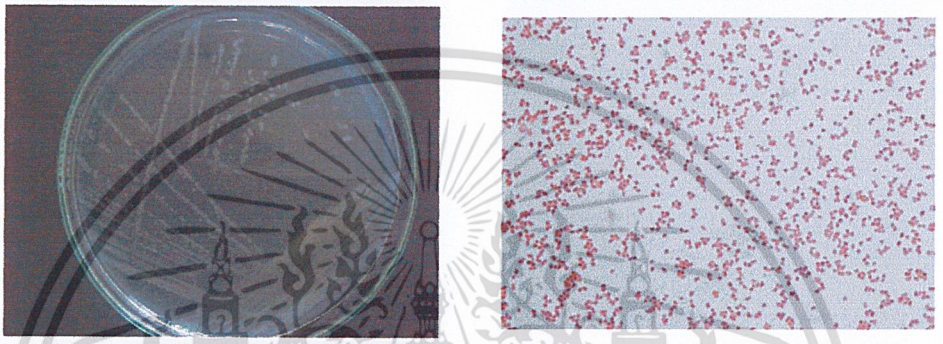
เมื่อนำเอากลุ่มเชื้อแบคทีเรียเชื้อกลุ่ม EX 16 ซึ่งมีทั้งหมด 4 ไอโซเลต ได้แก่ C-62 โคโลนีมีสีขาวขุ่น ผิวมันวาว แกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น (รูปที่ 4.1a) เชื้อแบคทีเรีย C-63 ลักษณะโคโลนีมีสีขาว ผิวด้าน แกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น (รูปที่ 4.1b) เชื้อแบคทีเรีย C-64 ลักษณะโคโลนีมีสีขาว ผิวด้านและขอบแห้ง แกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น (รูปที่ 4.1c) เชื้อแบคทีเรีย C-65 ลักษณะโคโลนีมันวาวคล้ายไข่ดาว แกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น (รูปที่ 4.1d) มาเพาะเลี้ยงร่วมกันในอาหาร BH- oil broth เป็นเวลา 7 วัน โดยวัดอัตราการเจริญของเชื้อด้วยวิธี viable count พบว่าในวันที่ 0 จะมีเชื้อเริ่มต้น 9.7 x 10^6 CFU/ml และจะมีปริมาณเชื้อสูงสุด 3.7 x 10^9 CFU/ml ในวันที่ 1 หลังจากนั้นในวันที่ 2 ปริมาณของเชื้อจะลดลงเหลือ 3.3 x 10^8 CFU/ml และจะค่อย ๆ ลดลงอีกครั้งในวันที่ 3 จนถึง วันที่ 4 และหลังจากนั้นก็จะคงที่จนถึงวันที่ 7 โดยมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 3.8 x 10^8 CFU/ml (รูปที่ 4.2) พบว่าในวันที่ 7 เชื้อแบคที่เรียเริ่มต้นจาก 4 ไอโซเลต เชื้อแบคทีเรีย เหลือเพียง 1 ไอโซเลต คือ เชื้อ C - 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

a) C-62



b) C-63

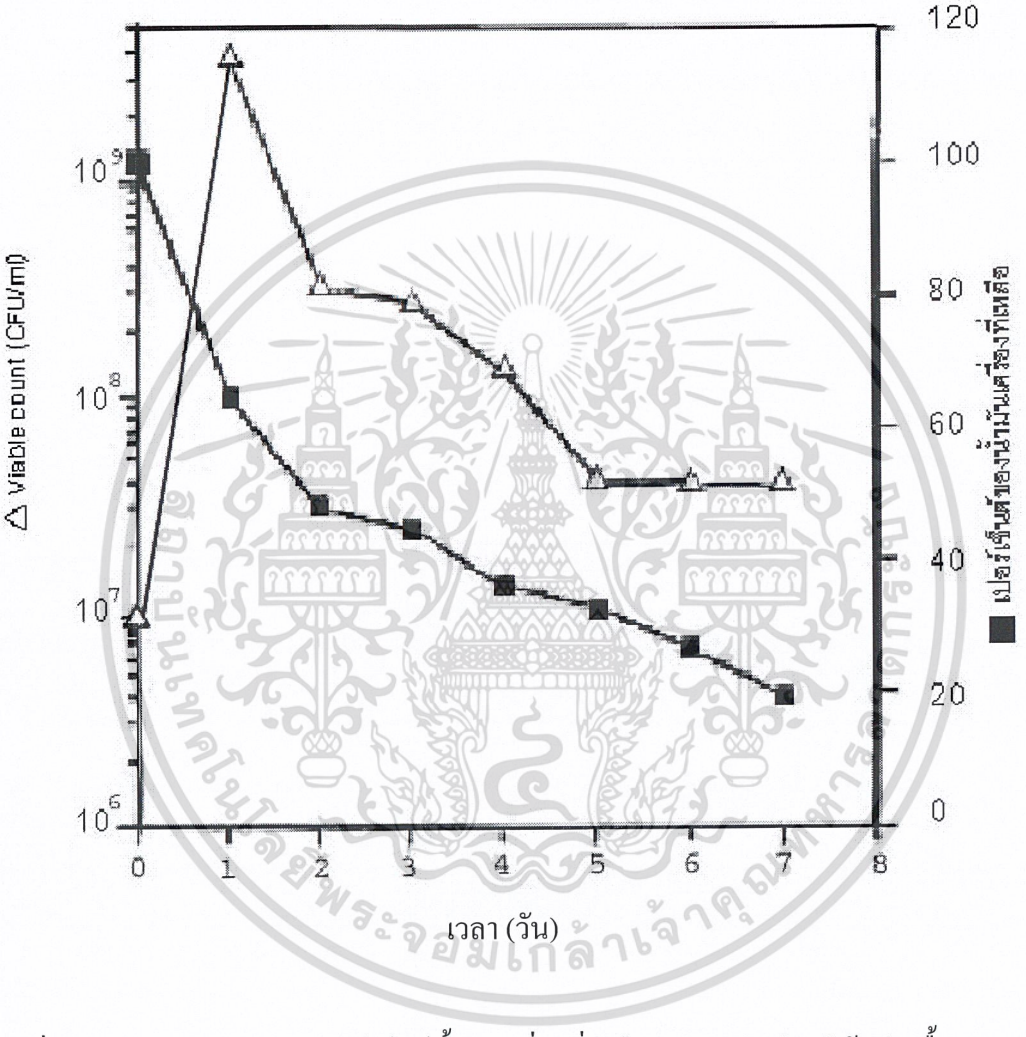


c) C-64

d) C-65

รูปที่ 4.1 ลักษณะโคโลนีและการติดสีแกรมของเชื้อที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่าง EX16

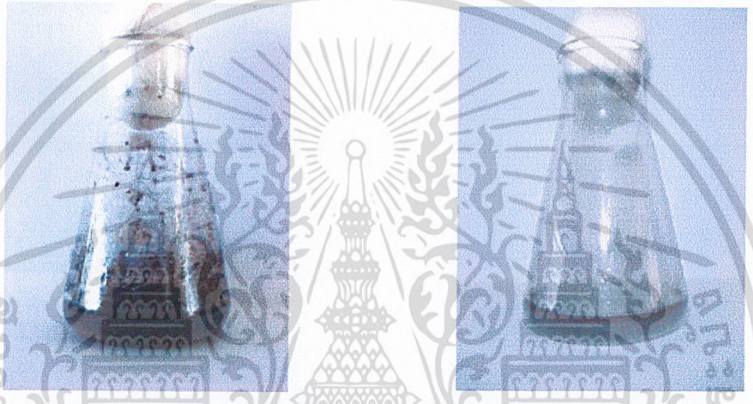
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 อัตราการเจริญและเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้กลุ่มเชื้อที่เพาะเลี้ยงใน 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยหลังจากการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 7 วัน โดยในวันที่ 0 จะมีปริมาณน้ำมันมาก และเมื่อครบ 7 วัน พบว่า ปริมาณน้ำมันจะลดน้อยลง ดังแสดงในรูปที่ 4.3 เมื่อนำไปสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม พบว่า สีของน้ำมันที่ผ่านการสกัดจะมีสีจางลง โดยในวันที่ 7 สีจะจางมากที่สุด (รูปที่ 4.4) เมื่อทำการวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของน้ำมันเครื่องที่เหลือพบว่าแหล่งตัวอย่าง EX16 ลดลดจาก 100 เปอร์เซ็นต์ เหลือ 47.94 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 2 วัน และหลังจากนั้นในวันที่ 5 และ 7 จะมีปริมาณน้ำมันเครื่องลดเหลือ 32.5 เปอร์เซ็นต์ และ 19.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 4.2)



(a) (b)

รูปที่ 4.3 ลักษณะของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้เชื้อผสมที่เพาะเลี้ยงใน 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm
(a) วันที่ 0 (b) วันที่ 7

รูปที่ 4.4 ลักษณะของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้เชื้อผสมเป็นเวลา 7 วัน ที่เพาะเลี้ยงใน 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm แล้วนำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม (จากซ้าย→ขวา :วันที่0→7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

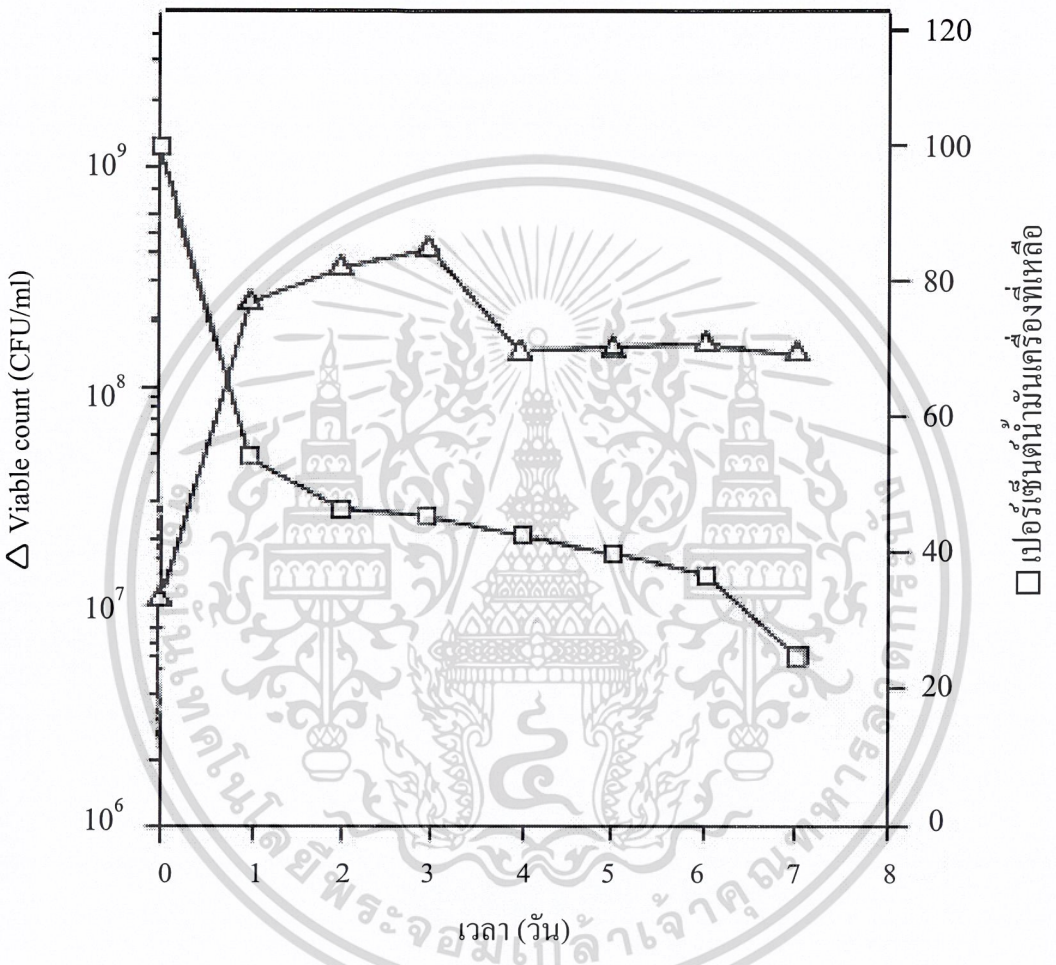
4.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันของเชื้อบริสุทธิ์ในแหล่งตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพการย่อยดีที่สุด

เมื่อนำเชื้อโคโลนีเดี่ยวของเชื้อบริสุทธิ์ C-63 ที่แยกได้จากกลุ่มเชื้อที่มีประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันเครื่องได้สูงสุด โดยคัดเลือกจากกลุ่มเชื้อ EX16 ที่เลี้ยงในอาหาร BH- oil broth ที่มีน้ำมันเครื่อง 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 วัน ซึ่งมีลักษณะโคโลนีสีขาวขุ่น ผิวของโคโลนีด้าน เมื่อนำไปย้อมสีแกรม พบว่า รูปร่างเป็นท่อนสั้น แกรมลบ อัตราการเจริญของเชื้อ ในวันที่ 0 เท่ากับ 1.0×10^7 CFU/ml และจะค่อย ๆ เพิ่มจนถึง 4.1×10^8 CFU/ml ในวันที่ 3 หลังจากนั้นจะลดลงเหลือ 1.3×10^8 CFU/ml ในวันที่ 4 และจะคงที่จนถึงวันที่ 7 ดังรูปที่ 4.5

สำหรับลักษณะของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยหลังจากการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ในวันที่ 0 จะมีน้ำมันเหลืออยู่มาก และในวันที่ 7 ปริมาณน้ำมันจะลดน้อยลง ดังแสดงในรูปที่ 4.6 เมื่อนำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม พบว่า ลักษณะน้ำมันในวันที่ 0 จะมีสีดำเข้มที่สุด และสีจะค่อย ๆ จางลงเมื่อเวลาผ่านไปดังแสดงในรูปที่ 4.7 จากการวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของน้ำมันเครื่องที่เหลือ พบว่า จากการย่อยสลายโดยเชื้อบริสุทธิ์ C-63 จะลดลงจาก 100 เปอร์เซ็นต์ ถึง 46.70 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 2 วัน และหลังจากนั้นจะลดลงเรื่อย ๆ จนเหลือ 39.81 เปอร์เซ็นต์ และ 24.54 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 5 และวันที่ 7 ตามลำดับ

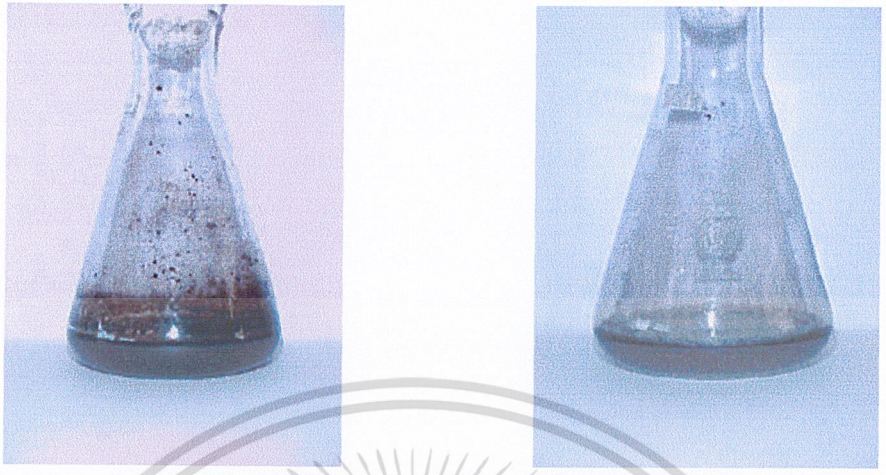
Koma และคณะ (2000) ทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งดิน พบว่าเชื้อ สายพันธุ์ *Acinetobacter* sp. มีความสามารถในการย่อยพาราฟินสายยาวในน้ำมันเครื่องรถยนต์ที่ใช้แล้ว ส่วน Huy และคณะ (1999) ได้คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนของน้ำมันดิบในประเทศเวียดนาม พบว่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพย่อยน้ำมันดิบได้ดี คือ เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ สายพันธุ์ *Acinetobacter* sp. และ สายพันธุ์ *Pseudomonas* sp. ซึ่งสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเติมน้ำมันดิบ 5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรในอาหาร mineral medium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 อัตราการเจริญและเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยงใน 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

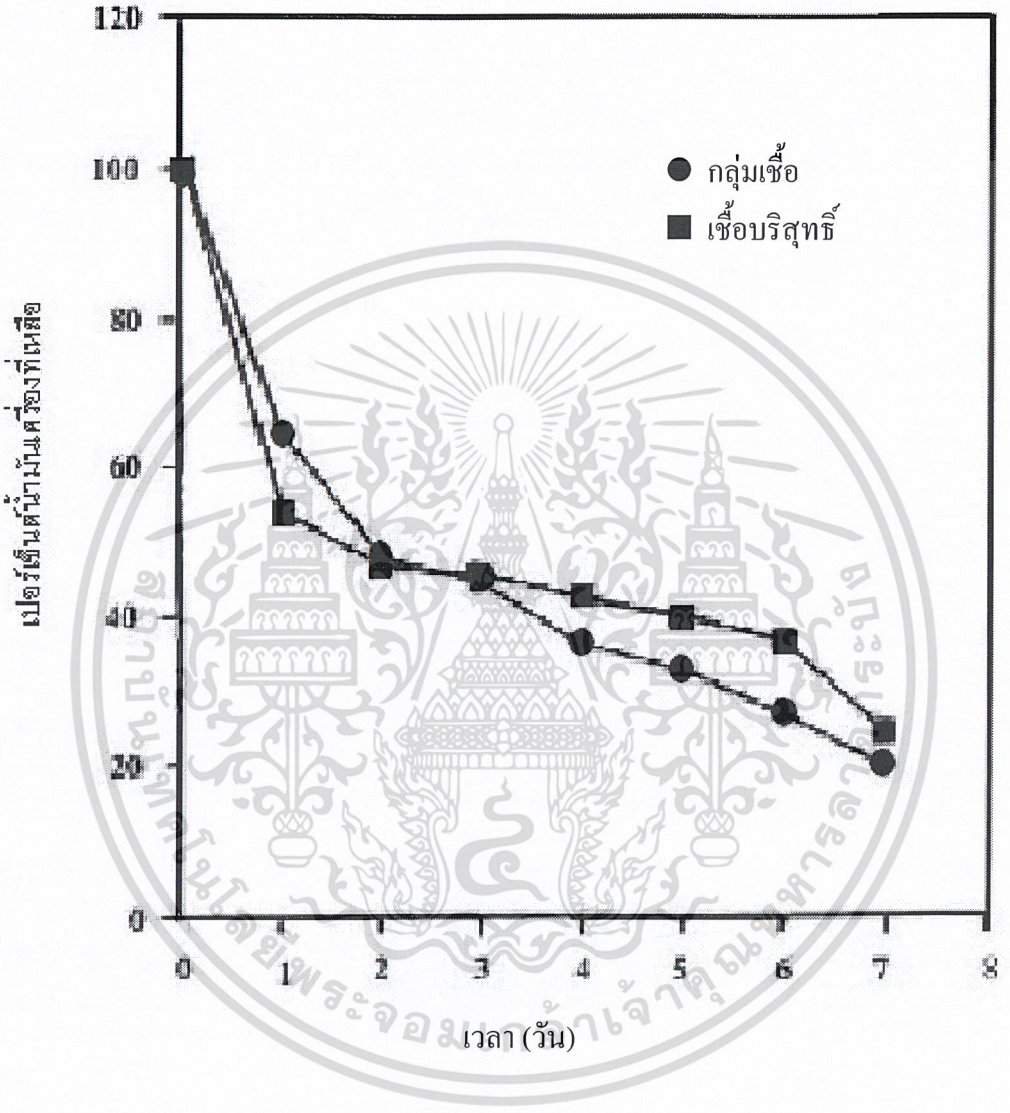


(a) (b)

รูปที่ 4.6 ลักษณะของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยงใน 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm
(a) วันที่ 0 (b) วันที่ 7

รูปที่ 4.7 ลักษณะของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม (จากซ้าย→ขวา :วันที่0→7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันเครื่องที่เหลือของเชื้อบริสุทธิ์และเชื้อผสมจากการเพาะเลี้ยงใน 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth โดยใช้ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพ การย่อยน้ำเครื่องของกลุ่มเชื้อและเชื้อบริสุทธิ์

เมื่อนำปริมาณน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของกลุ่มเชื้อและเชื้อบริสุทธิ์ โดยนำมาเปรียบเทียบ (รูปที่ 4.8) พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของทั้งกลุ่มเชื้อและเชื้อบริสุทธิ์ต่างก็ลดลง โดยเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือในวันที่ 1 จากการย่อยของกลุ่มเชื้อมีเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องเหลือมากกว่าการย่อยโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ แต่เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือในวันที่ 2 และวันที่ 3 มีค่าใกล้เคียงกัน และหลังจากนั้นเมื่อครบ 7 วันพบว่า เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของกลุ่มเชื้อจะเหลือเพียง 19.96 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เชื้อบริสุทธิ์มีเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันเครื่องที่เหลือเท่ากับ 24.54 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำไปเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือทางสถิติ (ตารางที่ 4.3) พบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของกลุ่มเชื้อในแต่ละวันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของเชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งพบว่าในแต่ละวันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันเครื่องที่เหลือระหว่างการใช้กลุ่มเชื้อกับเชื้อบริสุทธิ์ แม้ว่าน้ำมันเครื่องที่เหลือในวันที่ 1 และวันที่ 5 แตกต่างกัน แต่เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของกลุ่มเชื้อในวันที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของเชื้อบริสุทธิ์ในวันที่ 3 และ 5 อย่างไรก็ตามเมื่อย่อยสลายครบ 7 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากทั้งกลุ่มเชื้อและเชื้อบริสุทธิ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือของกลุ่มเชื้อและเชื้อบริสุทธิ์ จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

แบคทีเรีย	เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือ				
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7
กลุ่มเชื้อ	100^{a}	64.66^{b}	44.59^{de}	32.54^{f}	19.96^{g}
เชื้อบริสุทธิ์	100^{a}	54.18^{c}	45.57^{d}	39.81^{e}	24.54^{g}

จากการทดลอง เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องระหว่างการใช้เชื้อบริสุทธิ์กับกลุ่มเชื้อที่คัดเลือกได้ พบว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์มีเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันเครื่องที่เหลือสูงกว่าการเพาะเลี้ยงกลุ่มเชื้อ แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องของกลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อดีกว่าการใช้เชื้อบริสุทธิ์ นอกจากนั้น จากการทดลองแสดงให้เห็นว่ากลุ่มเชื้อสามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องได้เร็วกว่าเชื้อบริสุทธิ์ดังข้อมูลทางสถิติของเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของกลุ่มเชื้อในวันที่ 3 ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของกลุ่มเชื้อในวันที่ 5 ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีความสามารถย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ต่างกัน ทำให้เมื่อใช้กลุ่มเชื้อจึงสามารถย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้เร็วกว่าเชื้อบริสุทธิ์ (กุลวดี, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการทดลอง การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องรถยนต์ได้ จากแหล่งตัวอย่าง 18 แหล่งธรรมชาติในประเทศไทย โดยสามารถแยกแบคทีเรียบนอาหาร Nutrient agar (NA) ได้เชื้อทั้งหมด 84 ไอโซเลต เมื่อทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ย่อยน้ำมันเครื่องบนอาหาร BH-oil agar พบว่า ได้เชื้อทั้งหมด 74 ไอโซเลต คิดเป็น 88.09 เปอร์เซ็นต์ของไอโซเลตทั้งหมดที่แยกได้จาก NA โดยเป็นแบคทีเรียแกรมลบ 67 ไอโซเลต และเป็นแบคทีเรียแกรมบวก 7 ไอโซเลต แหล่งตัวอย่าง EX 16 ซึ่งเป็นตัวอย่างดินจากท่อน้ำทิ้งนิคมอุตสาหกรรมบางปู จ. สมุทรปราการ มีประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันเครื่องสูงสุด โดยมีเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth หลังจากการย่อยเป็นเวลา 7 วัน เท่ากับ 19.96 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำแหล่งตัวอย่างดังกล่าวมาคัดเลือกเชื้อบริสุทธิ์ พบว่า เชื้อแบคทีเรีย C-63 เป็นแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ มีลักษณะโคโลนีมีสีขาว ผิวด้าน แกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น เมื่อทดสอบประสิทธิภาพการย่อยน้ำมันเครื่องของเชื้อ C-63 ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth เป็นเวลา 7 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยเท่ากับ 24.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปทดสอบทางสถิติ พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของกลุ่มเชื้อในแต่ละวันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของเชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งพบว่าในแต่ละวันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันเครื่องที่เหลือระหว่างการใช้กลุ่มเชื้อกับเชื้อบริสุทธิ์ แม้ว่าน้ำมันเครื่องที่เหลือในวันที่ 1 และวันที่ 5 แตกต่างกัน แต่เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของกลุ่มเชื้อในวันที่ 3 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับเปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของเชื้อบริสุทธิ์ในวันที่ 3 และ 5 เมื่อย่อยสลายครบ 7 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือจากทั้งกลุ่มเชื้อและเชื้อบริสุทธิ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

อย่างไรก็ตาม จากข้อมูลทางสถิติในวันที่ 7 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มเชื้อกับเชื้อบริสุทธิ์ ในการนำไปประยุกต์ใช้งานจึงควรเลือกใช้เชื้อบริสุทธิ์ เนื่องจากสามารถควบคุมสภาวะได้ง่ายกว่าการเลือกใช้กลุ่มเชื้อ ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของสภาพแวดล้อม และการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปใช้ สำหรับแนวทางในการนำไปใช้งานคาดว่าสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดที่เป็นระบบปิด เช่น ระบบบำบัดน้ำเสียของสถานีบริการน้ำมัน อู่ซ่อมรถ โรงงานอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กุลวดี ทองภูเบศร์. 2540. การคัดเลือกและศึกษาลักษณะของแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ.

เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์. 2535. วิศวกรรมการกำจัดน้ำเสีย เล่ม 2. น. 119. สำนักพิมพ์มิตรนราการพิมพ์. กรุงเทพฯ.

ชนะรัฐ ภาระอังกูร. 2538. การทดลองผลิตหัวเชื้อแบคทีเรียสำหรับกำจัดคราบน้ำมัน. โครงงานพิเศษ. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์. คณะวิทยาศาตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพ ฯ

ชรัตน์ รุ่งเรืองศิลป์. 2532. ปัญหามลพิษจากการปนเปื้อนของน้ำมัน และการกำจัดแก้ไข. กองวิเคราะห์ผลกระทบสิ่งแวดล้อม สำนักคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. ฉบับที่ 15 น. 84-96.

น้อม งามพิสัย. 2537. ปัญหามนุษย์กับภาวะแวดล้อม. น. 118. ภาควิชาภูมิศาสตร์. คณะสังคมศาสตร์. มศว. ประสานมิตร. กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ วงศ์วิเศษสิริกุล. 2544. กระบวนการเคมีอุตสาหกรรม. น. 33-36. คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2535. จุลชีววิทยาเบื้องต้น. น. 53 – 63. โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี.

ประพันธ์ บุญกลิ่นขจร. 2535. เปิดอกคนวท. เรื่องจุลินทรีย์กำจัดคราบน้ำมัน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ฉบับเดือนมิถุนายน. น. 11-15.

ปราโมทย์ ชัยเวช. 2533. ปิโตรเลียมเทคโนโลยี. น. 139-175. ภาควิชาเคมีเทคนิค. คณะวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2542. เทคโนโลยีบำบัดน้ำเสียอุตสาหกรรม เล่ม 1. น. 45-50. ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม. คณะวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

วินัย วีระวัฒนานนท์ และบานชื่น สีพันผ่อง. 2537. การศึกษาสิ่งแวดล้อม. น. 163-175. ไอเอส พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ.

สมรัตน์ ยินดีพิธ. 2536. การกำจัดคราบน้ำมันด้วยวิธีทางชีวภาพ. วารสารความรู้คือประทีป. 10/ 35. น. 13-15.

เอกสารนี้สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุโขทัย เตจะวณิช และอุบลวรรณ ยอดแสง. 2541. การนำน้ำเสียจากสถานีน้ำมันกลับมาใช้ใหม่โดยวิธี O_3/H_2O บำบัด. โครงงานพิเศษ. ภาควิชาเคมีประยุกต์. คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพ ฯ.

Ahearn D. G., Meyers S. P. and Standard P. G. 1971. The role of yeasts in deconposition of oils in marine environments. Dev. Ind. Microbiol. 12 : 126-134. *In* Atlas R. M. (1981). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons : an environment Perspective. ATLAS. 45(1) : 180-209.

Borden R. C. 1993. Natural Bioremediation of Hydrocarbon-Contaminate Ground Water. *In* Robert D. Norris. Handbook of Bioremediation. Lewis Pub., Ann Arbor, Ml. pp. 177-193.

Bossert I. and Bartha R. 1984. The fate of petroleum in soil ecosystems. In: Atlas RM, editor. Petroleum microbiololgy. New York: Macmillan. pp. 436-473.

Cernigia C. E., Gibson D.T. and Baalen C. V. 1980. Oxidation of naphthalene by cyanobacteria and microalgae. J. Gen. Microbiol. 116:495-500. *In* Atlas R. M. (1981). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons : an environment Perspective. ATLAS. 45(1) : 180-209.

Davis J. B. and Weatlake W.S. 1979. Crude oil utilization by fungi. Can. J. Microbiol. 25 : 146-156. *In* Atlas R. M. (1981). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons : an environment Perspective. ATLAS. 45(1) : 180-209.

Facundo J. M. R., Vanessa H. R. and Lamela M.T. 2000. Biodegradation of diesel oil in soil by a microbial consortium. Water, air, and Soil Pollution. 128 : 313 –320.

Huy N. Q., Jin S., Amada K., Haruki M., Huu B. N., Hang D. T., Ha D. T. C., Imanaka T., Morikawa M. and Kanaya S. 1999. Characterization of Petroleum-Degradation Bacteria from Oil-Contaminated Sites in Vietnam. J. Biosci. Bioeng. 88 : 1. 100-102.

Kampfer P., Steiof M., Beacker P.M., Dott W. 1993. Chrarcterization of chemohetrophic bacteria associated with *in situ* bioremediation of a waste-oil contaminated site. Microb Ecol. 26 : 161-188.

Kato T., Haruki M., Imanaka T., Morikawa M. and Kanaya S. 2001. Isolation and Charcterization of Long-Chain-Alkane Degrading Bacillus thermoleovorans from Deep Subterranean Petroleum Reservoirs. J. Biosci. Bioeng. 1 : 64-70.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Koma D., Hasumi F., Yamamoto E., Ohta T., Chung S. Y. and Kubo M. 2001. Biodegradation of Long-Chain Paraffins from Waste Oil of Car Engine by *Acinetobacter* sp. J. Biosci. Bioeng. 91 : 94-96.

Komagata,. K., Nakase T., and Katsuya N. 1964. Assimilation of hydrocarbons by yeasts. I. Preliminary screening. J. Gen. Appl. Microbiol. 10 : 313-321. *In* Atlas R. M. (1981). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons : an environment Perspective. ATLAS. 45(1) : 180-209.

Novon-VeneZia S., Zosim Z., Gottlieb A.,Legmann R., Carmeli S., Ron E. Z. and Rosen B. E. 1995. Alasan, a New Bioemulsifier from *Acinetobacter radiotesistens*. J. App. Environ. Microbiol. Sept. 3240-3244.

Whyte L. G., Hawari J., Zhou E., Bourbonniere L., Inniss W. E. and Greer C. W. 1998. Biodegration of Variable-Chain-Length Alkanes at low Temperature by Psychrotrophic *Rhodococcus* sp. J. Appl. Environ. Microbiol. 2578-2584.

Walker J. D., Austin H. F. and Colwell R. R. 1975. Utilization of mixed hydrocarbon substrate by pretroleum-degradating microorganisms. J. Gen. Appl. Microbiol. 21 : 27-39. *In* Atlas R. M. (1981). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons : an environment Perspective. ATLAS. 45(1) : 180-209.

http://www.school.net.th/library/create-web/1000/generalty/10000-6740.html. 2002.

http://www. Nicnas.gov.au/PUBLICATIONS/CAR/NEW/NA/NA…/na191.ht. 2002.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

ตารางแสดงผลการทดลอง

ตารางที่ ก-1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยของกลุ่มเชื้อต่าง ๆในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

แหล่งตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันที่เหลือจากการย่อย			เฉลี่ย
	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	
Ex01	-	-	-	-
Ex02	52.04	59.82	58.02	56.63
Ex03	71.52	73.02	70.23	72.59
Ex04	75.79	79.04	75.58	76.81
Ex05	79.58	79.01	74.26	76.62
Ex06	79.12	81.86	75.22	78.73
Ex07	53.91	58.52	54.02	55.49
Ex08	75.42	79.04	75.33	76.63
Ex09	59.99	61.44	68.23	63.22
Ex10	43.07	43.13	44.26	43.51
Ex11	61.61	58.26	59.02	59.63
Ex12	51.95	54.96	51.41	52.77
Ex13	48.52	44.09	49.58	47.40
Ex14	39.67	46.61	41.11	42.46
Ex15	53.99	51.72	38.40	48.04
Ex16	18.63	19.78	21.45	19.96
Ex17	37.52	29.84	48.56	38.64
Ex18	28.79	29.79	20.39	26.32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-2 น้ำหนักแห้ง (dry weight) ของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยกลุ่มเชื้อ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

วัน/ซ้ำ	น้ำหนักขวดก้นกลม(กรัม)	น้ำหนักขวดก้นกลม+น้ำมันที่เหลือ(กรัม)				น้ำหนักแห้ง (กรัม)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	เฉลี่ย	
0/1	91.4209	91.5337	91.5336	91.5335	91.5336	0.1127
0/2	93.4858	93.5989	93.5988	93.5988	93.5988	0.1130
0/3	83.9849	83.0974	83.0973	83.0973	83.0974	0.1125
1/1	86.6884	86.7576	86.7575	86.7575	86.7575	0.0691
1/2	87.8499	77.9260	77.9260	77.9260	77.9260	0.0761
1/3	87.8065	87.8800	87.8799	87.8799	87.8799	0.0734
2/1	86.0306	86.0766	86.0767	86.0766	86.0766	0.0460
2/2	88.8870	88.9530	88.9528	88.9528	88.9528	0.0658
2/3	91.4254	91.4756	91.4756	91.4755	91.4756	0.0502
3/1	89.6731	89.7209	89.7208	89.7208	89.7208	0.0477
3/2	83.5478	83.5981	83.5981	83.5980	83.5980	0.0502
3/3	87.2225	87.2755	87.2754	87.2753	87.2754	0.0529
4/1	80.7283	80.7718	80.7718	80.7717	80.7718	0.0435
4/2	84.1635	84.2035	84.2035	84.2036	84.2035	0.0400
4/3	87.2885	87.1999	87.1999	87.1999	87.1999	0.0394
5/1	84.6720	84.7056	84.7056	84.7056	84.7056	0.0336
5/2	87.7366	87.7770	87.7770	87.7769	87.7796	0.0403
5/3	86.9541	86.9905	86.9905	86.9905	86.9905	0.0364
6/1	86.5834	86.6166	86.6167	86.6167	86.6166	0.0332
6/2	90.5485	90.5816	90.5817	90.5816	90.5816	0.0331
6/3	82.9835	83.0079	83.0078	83.0079	83.0079	0.0244
7/1	83.7332	83.7542	83.7542	83.7541	83.7542	0.0216
7/2	85.4623	85.4845	85.4845	85.4846	85.4846	0.0223
7/3	87.8129	87.8354	87.8355	87.8354	87.8354	0.0242

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-3 น้ำหนักแห้งของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยกลุ่มเชื้อ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

วัน	ปริมาณน้ำมันที่เหลือในรูปน้ำหนักแห้ง(กรัม)			น้ำหนักเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	(กรัม)
0	0.1127	0.1130	0.1125	0.1127
1	0.0691	0.0761	0.0734	0.0728
2	0.0460	0.0658	0.0502	0.0540
3	0.0477	0.0502	0.0529	0.0502
4	0.0435	0.0400	0.0394	0.0410
5	0.0336	0.0403	0.0364	0.0367
6	0.0332	0.0331	0.0244	0.0302
7	0.0210	0.0223	0.0242	0.0225

ตารางที่ ก-4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำมันเครื่องที่เหลือจากการย่อยโดยกลุ่มเชื้อ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil brothที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

วัน	เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำมันที่เหลือจากการย่อย			เฉลี่ย
	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	
0	100.00	100.00	100.00	100.00
1	61.27	67.54	65.18	64.66
2	40.85	58.48	44.54	47.94
3	42.31	44.51	46.95	44.59
4	38.65	35.49	35.04	36.39
5	29.86	35.46	32.32	32.54
6	29.46	29.38	21.65	26.83
7	18.63	19.78	21.45	19.96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-5 การตรวจสอบการเจริญของกลุ่มเชื้อ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

วัน	Viable count บน NA (CFU/ml)	OD 600nm	เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือ
0	9.7×10^{6}	0.057	100
1	3.7×10^{9}	0.203	64.66
2	3.3×10^{8}	0.208	47.94
3	2.7×10^{8}	0.300	44.59
4	1.3×10^{8}	0.398	36.39
5	4.0×10^{7}	0.501	32.54
6	3.8×10^{7}	0.537	26.83
7	3.8×10^{7}	0.530	19.96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-6 น้ำหนักแห้ง (dry weight) ของน้ำมันเครื่องรถยนต์ที่เหลือจากการย่อยโดยเชื้อบริสุทธิ์ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

วัน/ซ้ำ	น้ำหนักขวดก้นกลม(กรัม)	น้ำหนักขวดก้นกลม+น้ำมันที่เหลือ(กรัม)				น้ำหนักแห้ง (กรัม)
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	เฉลี่ย	
0/1	91.4209	91.5337	91.5336	91.5335	91.5336	0.1127
0/2	93.4858	93.5989	93.5988	93.5988	93.5988	0.1130
0/3	83.9849	83.0974	83.0973	83.0973	83.0974	0.1125
1/1	86.9493	87.0173	87.0171	87.0169	89.0171	0.0678
1/2	80.6397	80.6935	80.6934	80.6934	80.6934	0.0615
1/3	86.5842	86.6381	86.6381	80.6380	86.6380	0.0538
2/1	77.8448	87.8905	87.8985	87.8985	87.8985	0.0537
2/2	88.2991	88.3507	88.3506	88.3505	88.3506	0.0515
2/3	87.8083	87.8609	87.8096	87.8608	57.8609	0.0526
3/1	87.7325	87.7883	87.7881	87.7882	87.7882	0.0557
3/2	87.8081	87.8597	87.8596	87.8596	87.8596	0.0515
3/3	83.9462	84.0019	84.0019	84.0018	84.0019	0.0513
4/1	88.8792	88.9272	88.9271	88.9271	88.9271	0.0479
4/2	85.4563	85.5068	85.5066	85.5066	85.5066	0.0503
4/3	90.5441	90.5896	90.5895	90.5895	90.5896	0.0455
5/1	84.1656	84.2129	84.2129	84.2128	84.2129	0.0473
5/2	84.6732	84.7201	84.7200	84.7200	84.7200	0.0468
5/3	87.2887	87.3292	87.3290	87.3290	87.3290	0.0403
6/1	86.6910	86.7359	86.7359	86.7358	87.7358	0.0449
6/2	83.7344	84.1385	84.1984	84.1383	84.1383	0.0404
6/3	87.2249	87.2632	87.2632	87.2632	87.2632	0.0383
7/1	86.0338	86.0660	86.0659	86.0659	86.0659	0.0321
7/2	89.6759	89.6986	89.6986	86.6985	89.6985	0.0227
7/3	92.4513	92.4793	92.4793	92.4793	92.4793	0.0280

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-7 น้ำหนักแห้งของน้ำมันเครื่องรถยนต์ที่เหลือจากการย่อยโดยเชื้อบริสุทธิ์ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

วัน	ปริมาณน้ำมันที่เหลือในรูปน้ำหนักแห้ง(กรัม)			น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	
0	0.1127	0.1130	0.1125	0.1127
1	0.0678	0.0615	0.0538	0.0611
2	0.0537	0.0515	0.0526	0.0526
3	0.0557	0.0515	0.0513	0.0513
4	0.0479	0.0503	0.0455	0.0479
5	0.0473	0.0468	0.0403	0.0448
6	0.0449	0.0404	0.0383	0.0412
7	0.0321	0.0227	0.0280	0.0276

ตารางที่ ก-8 ผลการย่อยน้ำมันเครื่องรถยนต์โดยเชื้อบริสุทธิ์ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

วัน	เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำมันที่เหลือจากการย่อย			เฉลี่ย
	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	
0	100.00	100.00	100.00	100.00
1	60.20	54.57	47.77	54.18
2	47.67	15.73	46.70	46.70
3	49.42	45.73	45.57	45.57
4	42.53	44.66	42.53	42.53
5	42.04	41.55	35.83	39.81
6	39.92	35.92	34.02	36.62
7	28.55	20.21	24.86	24.54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-9 การตรวจสอบการเจริญของเชื้อบริสุทธิ์ ในอาหาร 0.5 เปอร์เซ็นต์ BH-oil broth ที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 7 วัน

วัน	Viable count บน NA	OD 600 nm	เปอร์เซ็นต์น้ำมันเครื่องที่เหลือ
0	1.0×10^{7}	0.159	100
1	2.3×10^{8}	0.328	54.18
2	3.4×10^{8}	0.380	46.70
3	4.1×10^{8}	0.309	45.57
4	1.3×10^{8}	0.410	42.53
5	1.4×10^{8}	0.495	39.81
6	1.4×10^{8}	0.379	36.62
7	1.3×10^{8}	0.484	24.54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

เทคนิคทางจุลชีววิทยา

1.1 การย้อมสีแกรม (บัญญัติ, 2535)

การย่อมสีนี้ผู้นำมาใช้เป็นคนแรกคือ Has Christian Gram ในปี ค.ศ. 1884 ทำให้จำแนกแบคทีเรียออกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive) และแบคทีเรียแกรมลบ (gram negative)

สารเคมี

1. crystal violet
2. safranin
3. grame iodine solution
4. alcohol 95%

วิธีการ

1. เกลี่ย (smear) เชื้อที่ต้องการย้อมบนสไลด์ที่ล้างสะอาด ทิ้งให้แห้งแล้ว heat fix โดยผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง การ fix เพื่อให้เซลล์แห้งยึดติดแน่นกับสไลด์
2. หยดสี crystal violet บนเชื้อที่เกลี่ยนาน 1-2 นาที แล้วเทสีทิ้ง
3. หยด grame iodine solution บนเชื้อที่เกลี่ยนาน 2 นาที แล้วเททิ้ง สารละลายไอโอดีนจะช่วยเซลล์ติดสีย้อมได้ดีขึ้น
4. นำสไลด์มาล้างสี ด้วย alcohol 95% นานประมาณ 30 วินาทีแล้วจึงล้างด้วยน้ำ
5. หยดสี safranin บนเชื้อที่เกลี่ยนาน 15-30 วินาที ล้างน้ำ ซับให้แห้งแล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศ์

1.2 การตรวจนับจำนวนเซลล์โดยวิธี spread plate

อุปกรณ์

1. อาหาร NA
2. จานเพาะเชื้อ
3. แท่งแก้วรูปตัวแอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์

วิธีการ

1. ปิเปตต์เชื้อที่มีความเจือจางที่เหมาะสม 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาการวุ้นในจานเพาะเชื้อ
2. ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เผาไฟและปล่อยให้เปลวไฟที่แท่งแก้วดับ ทิ้งไว้ให้แท่งแก้วเย็น
3. เปิดฝาจานเพาะเชื้อในข้อ 1 นำแท่งแก้วเกลี่ยหยดของเชื้อผสมให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารแข็ง หลังจากนั้นทำการฆ่าเชื้อแท่งแอลรูปตัว ตามวิธีในข้อ 2
4. นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสม นับจำนวนโคโลนี

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

การคำนวนทางสถิติ

One Way Analysis of Varience

Normality Test: passed (p: 0.5589)

Equal varience Test: Passed (p:0.6356)

Group	N	Missing
do	3	0
d1 pure	3	0
d3 pure	3	0
d7 pure	3	0
d1 mix	3	0
d3 mix	3	0
d5 mix	3	0
d7 mix	3	0

Group	Mean	Std Dev	SEM
do	100.0	0.00	0.00
d1 pure	54.2	6.22	3.59
d3 pure	46.9	2.19	1.26
d5 pure	39.8	3.45	1.99
d7 pure	23.2	4.64	2.68
d1 mix	64.7	3.17	1.83
d3 mix	44.6	2.32	1.34
d5 mix	32.6	2.96	1.71
d7 mix	19.9	1.42	0.82

Power of performed test with alpha = 0.0500 : 1.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Source of varience	DF	SS	MS
Between Treatments	8	14201.2	1775.1
Residual	18	206.4	11.5
Total	26	14407.6	
Source of varience	F	P	
Between Treatments	154.8	< 0.0001	
Residual			
Total			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance ; there is a statiscally signicant difference (P = 5.38E-0.15)

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Student – newman – Keuls Method) :

Comparison	Diff of Means	P	q
d0 vs d7 mix	80.06	9	40.95
d0 vs d7 pure	76.79	8	39.28
d0 vs d5 mix	67.35	7	34.45
d0 vs d5 pure	60.19	6	30.79
d0 vs d3 mix	55.41	5	28.34
d0 vs d3 pure	53.11	4	27.16
d0 vs d1 pure	45.82	3	23.44
d0 vs d1 mix	35.34	2	18.07
d1 mix vs d7 mix	44.73	8	22.88
d1 mix vs d7 pure	41.46	7	21.21
d1 mix vs d5 mix	32.02	6	16.38
d1 mix vs d5 pure	24.86	5	12.71
d1 mix vs d3 mix	20.07	4	10.27
d1 mix vs d3 pure	17.77	3	9.09
d1 mix vs d1 pure	10.48	2	5.36
d1 pure vs d7 mix	34.24	7	17.52
d1 pure vs d7 pure	30.97	6	15.84

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Comparison	Diff of Means	P	q
d1 pure vs d5 mix	21.53	5	11.01
d1 pure vs d5pure	14.37	4	7.35
d1 pure vs d3 mix	9.59	3	4.91
d1 pure vs d3 pure	7.29	2	3.73
d3 pure vs d7 mix	26.96	6	13.73
d3 pure vs d7 pure	23.69	5	12.12
d3 pure vs d5 mix	14.25	4	7.29
d3 pure vs d5 pure	7.09	3	3.62
d3 pure vs d3 mix	2.30	2	1.18
d3 mix vs d7 mix	24.65	5	12.61
d3 mix vs d7 pure	21.38	4	10.94
d3 mix vs d5 mix	11.94	3	6.11
d3 mix vs d5 pure	4.78	2	2.45
d5 pure vs d7 mix	19.87	4	10.16
d5 pure vs d7 pure	16.60	3	8.49
d5 pure vs d5 mix	7.16	2	3.66
d5 mix vs d7 mix	12.71	3	6.50
d5 mix vs d7 pure	9.44	2	4.83
d7 pure vs d7 mix	3.27	2	1.67

Comparison	P < 0.05
d0 vs d7mix	Yes
d0 vs d7pure	Yes
d0 vs d5mix	Yes
d0 vs d5pure	Yes
d0 vs d3mix	Yes
d0 vs d3pure	Yes
d0 vs d1pure	Yes
d0 vs d1mix	Yes
d1mix vs d7mix	Yes

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

d1mix vs d7mix	Yes
Comparison	P < 0.05
d1mix vs d7pure	Yes
d1mix vs d5mix	Yes
d1mix vs d5pure	Yes
d1mix vs d3mix	Yes
d1mix vs d3pure	Yes
d1mix vs d1pure	Yes
d1pure vs d7mix	Yes
d1pure vs d7pure	Yes
d1pure vs d5mix	Yes
d1pure vs d5pure	Yes
d1pure vs d3mix	Yes
d1pure vs d3pure	Yes
d3pure vs d7mix	Yes
d3pure vs d7pure	Yes
d3pure vs d5mix	Yes
d3pure vs d5pure	Yes
d3pure vs d3mix	No
d3mix vs d7mix	Yes
d3mix vs d7pure	Yes
d3mix vs d5mix	Yes
d3mix vs d5pure	No
d5pure vs d7mix	Yes
d5pure vs d7pure	Yes
d5pure vs d5mix	Yes
d5mix vs d7mix	Yes
d5mix vs d7pure	Yes
d7pure vs d7mix	No

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้