รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กองทัพเรือ. 2543. การป้องกันมลพิษจากเรือรบในทะเล. เอกสารอ้างกองทัพเรือ (อทร.) หมายเลข 9502.

เกศินี สรรวานิช. 2534. ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในน้ำ ดินตะกอนและหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) บริเวณแม่น้ำท่าจีนตอนกลาง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สหสาขาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม. บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ควบคุมมลพิษ , กรม. 2544 คู่มือการใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมัน. กรุงเทพมหานคร : กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม [online]. Available from: http://www.marinepcd.org/document/information/dispersant

ควบคุมมลพิษ , กรม. 2547 สถิติน้ำมันรั่วไหลระหว่างปี พ.ศ. 2540-2545. กรุงเทพมหานคร : กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม [online]. Available from: http://www.marinepcd.org/document/information/statististic_oilspill.doc

ชำนาญ พวงเพชร, นาวาตรี. 2541. การพัฒนาขีดความสามารถในการป้องกันและขจัดคราบน้ำมันในทะเลของกองทัพเรือ. เอกสารวิจัยโรงเรียนเสนาธิการทหารเรือ สถาบันวิชาการทหารเรือชั้นสูง.

เฉลิงศักดิ์ ศิริสวัสดิ์, นาวาตรี. 2539. การพัฒนาองค์บุคคลในการขจัดคราบน้ำมันของกองทัพเรือ. เอกสารวิจัยโรงเรียนเสนาธิการทหารเรือ. สถาบันวิชาการทหารเรือชั้นสูง.

นพรัตน์ วานิชสุขสมบัติ. 2545. การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Pseudomonas* sp.สายพันธุ์ A 41 โดยใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาจุลชีววิทยา. บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิรันดร์ รุ่งสว่าง. 2542. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จาก *Bacillus subtilis* BBK1. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาจุลชีววิทยา. บัณฑิตวิทยาลัย. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปรานอม ขาวเมฆ. 2539. คู่มือหลักสูตรเข้มข้นการวิเคราะห์โดยใช้ Fourier transform infrared spectrometer. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปราโมทย์ ไชยเวช. 2533. ปิโตรเลียมเทคโนโลยี. ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เวคิน นพนิตย์. 2527. จุลทัศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน : การประยุกต์ทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศุภสินี เนียมแสง. 2546. พิษเฉียบพลันของน้ำมันดิบ สารเคมีขจัดคราบน้ำมัน และสารละลายผสมร่วมต่อกุ้งกุลาดำ *(Penaeus monodon)* วัยอ่อน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม . บัณฑิตวิทยาลัย.จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศุลกากร, กรม. 2548 . สถิติการนำเข้าน้ำมันดิบของประเทศไทย พ.ศ. 2545-2547. กรุงเทพมหานคร : กรมศุลกากร กระทรวงการคลัง [online]. Available from: http://www.customs.go.th/statistic/statisticindex.jsp

สุจริตรา เชาว์ปรีชา. 2530. ผลกระทบของน้ำมันดิบอะเรเบียนชนิดเบาในรูปที่ละลายน้ำต่อลูกปลากระพงขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เสน่ห์ ฉายโฉมเลิศ, พลเรือตรี. 2538. การขจัดมลภาวะคราบน้ำมันในน่านน้ำไทย. เอกสารประจำภาค. วิทยาลัยการทัพเรือ สถาบันวิชาการทหารเรือชั้นสูง.

อารีย์ กังฉิน. 2542. การแยกจุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ. ภาควิชาจุลชีววิทยา. บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อรรถวุฒิ อิ่มพูลทรัพย์ และคณะ 2536. รายงานสถานภาพเรื่องการศึกษาปัญหาและเทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อแก้ปัญหาเกี่ยวกับคราบน้ำมันตามแหล่งต่างๆในประเทศไทย. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

ภาษาอังกฤษ

Abraham, W.R., Strompl, C., Meyer, H., Lindholst, S., Moore, E.R.B., Christ, R., Vancanneyt, M., Tindall, B.J., Bennasar, A., Smit, J., and Tesar, M. 1999. Phylogeny and polyphasic taxonomy of *Caulobacter* species. Proposol of *Maricaulis* gen. nov. with *Maricaulis maris* (Poindexter) comb. nov. as the type species and emended descripton of the genera *Brevundimonas* and *Caulobacter*. Int. J. Syst. Bacteriol. 49: 1053-1073.

Anonymous .1993. Culture of *Rhodococcus erythropolis* for removal of petroleum

from waste and soil-soil decontamination, peroleum degradation,paraflin degradation,diesel fuel degadation and waste-disposal.Patent SU 1.805.097.

Atlas, R.M. 1984. The Fate of Petroleum in Marine Ecosystems in Petroleum Microbiology. (ed) New York: Macmillan Publishing Co. pp.373.

Atlas, R.M., and Bartha, R. 1975. Isolation of petroleum utiilizing microorganisms, in Marine and Esturine Microbiology Laboratory Manual. (Colwell, R.R. ed.) USA: University Park Press. University of Maryland. pp.75-76.

Ausubel, F.A., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A., and Struhl, K. 1999. Current Protocols in Molecular Biology. (4th ed.) New York: John Wiley & Sons.

Banat, I.M., 1995. Biosurfactants production and possible uses in microbial enhanced oil recovery and oil pollution remediation. Bioresour.Technol. 51: 1-12.

Banat, I.M., Samarah, N., Muras, M,. Horme, R., and Banerjce, S. 1991. Biosurfactant production and use in oil tank clean-up. World.J. Microbiol. Biotechnol. 7: 80-88.

Bruheim, P., Bredholt, H., and Eimhjellen, K. 1997. Bacterial degradation of emulsified crude oil and the effect of various surfactants. Can.J.Microbiol. 43: 17-22.

Bruheim, P., Bredholt, H., and Eimhjellen, K. 1999. Effect of surfactant mixtures, including Corexit 9527, on bacterial oxidation on acetate and alkanes in crude oil. Appl.Environ.Microbiol. 65: 1658-1661.

Calvo, C., Martinez-Checa, F., Toledo, F.L., Porcel, J., and Quesada, E. 2002. Characteristics of bioemulsifiers synthesised in cude oil media by *Halomonas eurihalina* and their effectiveness in the isolation of bacteria able to grow in the presence of hydrocarons. Appl.Microbiol.Biotechnol. 60: 347-351.

Catherine,N.M. 2005. Environmental applications for biosurfactants. Environmental Pollution.133: 183-198.

Chaineau, C.H., Morel, J., Dupont, J., Bury,E., and Oudot, J. 1999. Comparison of the fuel oil biodegration potential of hydrocarbon-assimilating microorganisms isolated from a temperate agricultural soil. The Science of The Total Environment. 237: 237-247.

Clint,J,H. 1992. Surfactant aggregation. New York: Chapmand and Hall.

Cooper, D.G., and Zajic, J.E. 1980. Surface active compounds from microorganisms. Adv.Appl.Microbiol. 26: 229-256.

Doelle, H.W.1975. Aerobic respiration-hydrocarbon metabolism, in Bacterial Metabolism. (Dolle,H.W.ed.) New York: Acedamic Press, Jovanovich Publishers. pp.491-501.

Duvnjak, Z., Cooper, D.G., and Kosaric, N. 1982. Production of surfactant by *Arthrobacter paraffineus* ATCC19558. Biotechnol.Bioeng. 24:165-175.

Dyksterhouse, S.E., Gray, J.P. and Herwig, R.P. 1995. *Cycloclasticus pugetii. gen.* nov., sp.nov., an aromatic hydrocarbon-degrading bacterium from marine sediments. Int. J. Syst.Bacteriol. 45:116-123.

Edwards, K.R., Lepo, J.E., and Lewis, M.A. 2003. Toxicity comparison of biosurfactrants and synthetic surfactants use in oil spill remediation to two esturine species. Mar.Poll.Bull. 46:1309-1316.

Fiechter, A. 1992. Biosurfactants: moving towards industrial application. Trends in Biotechnol.10: 208-217.

Fritz, I., Strompl, C., Nikitin, D.I., Lysenko, A.M., and Abraham, W.R. 2005. *Brevundimonas mediterranea* sp.nov., a non-stalked species from the Mediteranean Sea Int.J. Syst.Evol.Microbiol. 55: 479-486.

Gauthier, M., J., Lafay, B., Christen, R., Fernandez, L., Acquaviva, M., Bonin, P., and Bertrand, J-C. 1992. *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* gen.nov., sp. nov., a new, extremely holotolerant, hydrocarbon-degarding marine bacterium. Int. J. Syst.Bacteriol. 42: 568-576.

Gottschalk,H. 1986. Bacterial Metabolism (2"ed.) Virginia: University of Gottingen. Spriger Verlag. R.R.Donrlley & Son.

Greenberg, A.E., Clesceri, L.S. and Eaton ,A.D. 1 992. Standard methods for the examination of water and waste water. (18 th ed.) Washington DC: Publication office American Public Health Association. pp 5.24-5.29

Grishchenkov, V.G., Townsend, R.T., McDonald, T.J., Autenrieth, R.L., Bonner, J.S., and Boronin, A.M. 2000. Degradation of petroleum hydrocarbons by facultative anaerobic bacteria under aerobic and anaerobic conditions. Proc.Biochem. 35:

889-896.

Gutnick, D.L.and Rosenberg, E. 1977. Oil tankers and pollution : A microbial appproch. Ann.Rev.Microbiol. 31: 379-396.

Haines, J.R., Koran, K.M., Holder, E.L., and Venosa, A.D. 2003. Protocol for laboratory testing of crude-oil bioremediation products in freshwater conditions. J. Ind.Microbiol.Biotechnol. 30: 107-113.

Hedlund, B.P., Geiselbrecht, A.D., Bair, T.J., and Staley, J.T. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by a new marine bacterium *Neptunomonas naphthovorans* gen,nov, .sp.nov. Appl. Environ.Microbiol. 65: 251-259.

Herman, D.C., Zhang, Y., and Miller, R.M.1997. Rhamnolipid (biosurfactant) effects on cell aggregation and biodegradation of residual hexadecane under saturated flow conditions. Appl. Environ. Microbiol. 63: 3622-3627.

Holt, J.G., Krig, N.R., Sheath, P.H.A., Syaley, J.T. and Williams, S.T. 1994. Bergey's Manual of determinative bacteriology. (9th ed.) USA: William & Wilkins.

ITOPF. 2004. Fate of marine oil spills. Clean-up techniques. Historical Data. London: The international Tanker Owner Pollution Federation Limited, (ITOPF) [online] Aviable from : http://www.itopf.com

Ivshina, I.B., Kuyukina, M.S. , Philp , J.C., and Chistofi, N. 1998. Oil desorption from mineral and organic materials using biosurfactant complexes produced by *Rhodococcus* species. World.J. Microbiol. Biotechnol. 14: 711-717.

Kallio, R.E., Finnerty, W.R., Wawzonek, S., and Klimstra, P.D. 1963. Mechanisms in the microbial oxidation of alkanes, in Marine Microbiology. (Oppenheimer,C.H.ed.), USA: Charles C.Thomas Publisher. pp.453-463.

Kosaric,N. 1993. Biosurfactants Production Property Application. Surfactant Science. (Series: vol.48) New York: Marcel Dekker, Inc.

Li, Y., Kawamura, Y., Fujiwara, N., Naka, T,Liu, H., Huang, X., Kobayashi, K. and Ezaki, T. 2004. *Sphingomonas yabuchiae* sp.nov. and *Brevundimonas nasdae* sp. nov. isolated from the Russian space Laboratory Mir. Int. J.Syst. Evol. Microbiol. 54: 819-825.

Linsndstrom, J.E., and Braddock, J.F. 2002. Biodegradation of petroleum

hydrocarbons at low temperature in the presence of the dispersant Corexit 9500. Mar.Poll.Bull. 44: 739-747.

Machaughton, S.J., Stephen, J.R., Venosa, A.D., Davis, G.A., Chang, Y-J.,and White, D.C. 1999. Microbial population changes during bioremediation of and experimental oil spill. Appl. Environ. Microbiol. 65: 3566-3574.

Maier, U.M., and Doberon-Chavez, G. 2000. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential. Appl. Microbiol. Biotechnol. 54: 625-633.

Margesin, R. and Schinner, F. 1997. Bioremediation of diesel-oil-contaminated alpine soils at low temperatures. Appl. Microbial. Biotechnol. 47: 462-468.

Mishra, S., Jyot , J., Kuhad, R.C., and Lal, B. 2001. Evaluation of inoculum addition to stimulate *in situ* bioremediation of oily - sludge- contaminated soil. Appl. Environ.Microbiol. 67: 1675-1681.

Morikawa, M., Daido, H.,Takao, T., Miurata, S., Shimonishi, Y., and Imanaka, T. 1993. A new lipopeptide biosurfactant produced by *Arthrobacter* sp. strain MIS38. J.Bacteriol. 175: 6459-6466.

Nollet, L.M.L. 2000. Handbook of water analysis. New York: Marcel Dekker, Inc. pp.753-764.

Noordman, W.H.,Wachter, J.H.J., De Boer, G.J., and Janssen, D.B. 2002. The enhancement by surfactants of hexadecane degradation by *Pseudomonas aeruginosa* varies with substrate avialability. J. Biotechnol. 94: 195-212.

Olivera, N.L., Commendatore, M.G., Moran, A.C., and Esteves, J.L. 2000. Biosurfactant - enhanced degradation of residual hydrocarbons from ship bilge wastes. J. Ind.Microbiol.Biotechnol. 25: 70-73.

Rahman, K.S.M., Rahman, J.T., Kourdoutas, Y., Petsas, I.Marchant, R., and Banat, I.M. 2003. Enhanced bioremediation of *n*-alkane in petroleum sludge using bacteral consortium amened with rhamnolipid and micronutrients. Bioresour. Technol. 90: 159-168.

Rahman, K.S.M., Rahman, J.T., Lakshmanaperumalsamy, P., and Banat, I.M. 2002. Towards efficient crude oil degradation by a mixed bacteria consortium. Bioresour. Technol. 85: 257-261.

Rice, L.E. and Hemmingsen, B.B.1997. Enumeration of hydrocarbon-dergrading bacteria, in Bioremediation Protocols. (Sheehan, D. ed.) New Jersey: Humana Press, Totowa. pp.99-109.

Richard, J.Y., and Vogel, T.M. 1999. Characterization of a soil bacterial consortium capable of degrading diesel fuel. International Biodeterioration& biodegradation. 4: 93-100.

Roling, W.F.M., Milner, M.G., Jones, D.M., Lee, F.D., Swannell, R.J.P., and Head, I.M. 2002. Robust hydrocarbon degradation and dynamics of bacterial communities during nutrient-enhanced oil spill bioremediation. Appl. Environ. Microbiol. 68: 5537-5548.

Roongsawang, N., Thaniyavarn, J., Thaniyavarn, S., Kameyama, T., Haruki, M., Imanaka, T., Morikawa, M., and Kanaya, S. 2002. Isolation and characterization of a halotolerant *Bacillus subtilis* BBK-1 which produces three kinds of lipo-peptides: bacillomycin L, plipastatin, and surfactin. Extremophiles. 6: 499-506.

Ron, E.Z. , and Rosenberg, E. 2002. Biosurfactants and oil bioremediation. Curr.Opin.Biotechnol. 13: 249-252.

Santas, R., and Santas, P. 2000. Effects of wave action on the bioremediation of crude oil saturated hydrocarbons. Mar.Poll. Bull. 40: 434-439.

Seger, P., Vancanneyt, M., Pot, B., Torck, U., Hoste, B., Dewettinck, D., Falsen, E., Kersters, K., and de Vos, P. 1994. Classification of *Pseudomonas diminuta* Leifson and Huge 1954 and *Pseudomonas vesicularis* Busing, Doll, and Freytag 1953 in *Brevundimonas* gen. nov. as *Brevundimonas diminuta* comb. nov. and *Brevundimonas vesicularis* comb. nov. respectively. Int. J. Syst. Bacteriol. 44: 499-510.

Smith, J.W. 1983. Source of discharged into water " The control of oil pollution " (Smith, J.W.ed) London: Graham & Trotman Publishers. pp.3-23.

Suchanek, M., Kostal, K., Demnerova, K., and Kralova, B. 2000. Use of sodium dodecyl sulphate for stimulation of biodegradation of *n*-alkanes without residual contamination by the surfactant. International Biodeterioration & Biodegradation. 45: 27-33.

Swannell, R.P.J., Lee, K., and McDonagh, M. 1996. Field evaluation of marine oil spill bioremediation. Microbiol.Rev. 60: 342- 365.

Thaniyavarn, J., Chongchin, A., Wanitsuksombat, N., Thamiyavarn,S. Leppipatpaiboon, N., Morikawa, M., and Kanaya, S. 2005. Growth and production of biosurfactant produced from *Pseudomonas* sp. using vegetable oil and fatty acid as carbon sources. Abstract in The 1 st International Conference on Fermentation Technology For Value Added Agriculture Products. March 22-25, 2005. Khon-Kaen,Thailand.

Van Beilen, J.B., Wubbolts, M.G.,and Witholt, B.1994. Genetics of alkane oxidation by *Pseudomonas oleovoran*. Biodegradation. 5:161-174.

Van Hamme, J.D., and Ward, O.P. 2001. Physical and metabolic interactions of *Pseudomonas* sp. strain JA5-B45 and *Rhodococcus* sp. strain F9-D79 during growth on crude oil and effect of a chemical surfactant on them. Appl. Environ. Microbiol. 67: 4874-4879.

Vasheghani-Farahni, E., and Mehrnia, M. 2000. Bio-physicochemical treatment of oil contaminated sea water. Journal of Petroleum Science& Engineering. 26: 179-185.

Venkateswaran, K., Hoaki, T., Kato, M., and Maruyama, T. 1995. Microbial degradation of resins fractionated from Arabian light crude oil. Can.J. Microbiol. 41: 418-424.

Venosa, A.D., Haines, J.R., and Eberhart, B.L. 1997. Screening of bacterial products for their crude oil biodegradation effectiveness, in Bioremediation Protocol. **(Sheehan, D.ed.)** New Jersey: Humana Press, Totowa. pp.47-58.

Volkering, F., Breure, A.M., Van Andel, J.G., and Rulkens, W.H. 1995. Influence of nonionic surfactants on bioavailability and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Appl. Environ. Microbiol. 61: 1699-1705.

Wang, W.F., and Tan, H.M. 2001. Isolation,Identification and Molecular Studies of *Alcanivorax* sp.LE4, a hydrocarbon-degrading marine bacterium isolated in Singapore. in Microbial Diversity in Asia Technology and Prospects. (Nga, B.H.ed.) Singapore: World Scientific Publishing Co.Pte.Ltd. pp.177-195.

Yakimov, M.M., Golyshin, P.N., Lang, S., Moore, E.R.B., Araham, W-R., Lunsdorf, H.,

and Timmis, K.N.1998. *Alcanivorax borkumensis* gen.nov., sp.nov., a new, hydrocarbon-degrading and surfactant-producing marine bacterium. Int.J.Syst. Bacteriol. 48: 339-348.

Zhang, Y., and Miller, R.M. 1995. Effect of rhamnolipid (biosurfactant) structure on solubilization and biodegradation of *n*-alkanes. Appl.Environ.Microbiol. 61: 2247-2251.

Zhu, L., and Feng, S. 2003. Synergistic solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons by mixed anionic-nonionic surfactants. Chemosphere. 53:459-467.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.อาหารเหลว BH (Bushnell – Hass medium) 1 ลิตร

ที่มีน้ำทะเลเป็นองค์ประกอบ หรือ BH sea

โปแตสเซียมไนเตรต (KNO_3)	1.0	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1.0	กรัม
ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต($(NH_4)_2HPO_4$)	1.0	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2.2H_2O$)	0.02	กรัม
เฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$)	0.05	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.2	กรัม
น้ำกลั่น	500	มล.
น้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว	500	มล.

ละลายโปแตสเซียมไนเตรต โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ในน้ำกลั่นก่อนผสมน้ำทะเล ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เป็น 7.5 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน ส่วนแคลเซียมคลอไรด์ เฟอริกคลอไรด์ แมกนีเซียมซัลเฟต แต่ละสารแยกกันทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรอง (ถ้าผสมสารทุกชนิดรวมกัน จะเกิดตะกอนและสารแขวนลอยสีขาวซึ่งไม่ละลายน้ำ) สำหรับการทดสอบการเปลี่ยนสีจากการย่อยสลายน้ำมันดิบ เติมฟีนอลเรด (Phenol Red) 24 ไมโครกรัม ต่ออาหารเหลว 1 มล.

2. อาหารเหลว NB (Nutrient Broth) 1 ลิตร

ที่มีน้ำทะเลเป็นองค์ประกอบ หรือ NB sea

แบคโตเปปโตน (Bactopeptone)	5.0	กรัม
สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	3.0	กรัม
น้ำกลั่น	500	มล.
น้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว	500	มล.

ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เป็น 7.5 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

3. อาหารแข็ง NA (Nutrient Agar) 1 ลิตร

ที่มีน้ำทะเลเป็นองค์ประกอบ หรือ NA sea

แบคโตเปปโตน (Bactopeptone)	5.0	กรัม
สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	3.0	กรัม
แบคโตอะการ์ (Bacto agar)	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	500	มล.
น้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว	500	มล.

ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เป็น 7.5 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ และความดันมาตรฐาน

4.อาหารเหลว LB (Luria Bertani) 1 ลิตร

ที่มีน้ำทะเลเป็นองค์ประกอบ หรือ LB sea

สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	5.0	กรัม
ทริปโตน (Tryptone)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	500	มล.
น้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว	500	มล.

ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เป็น 7.5 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ และความดันมาตรฐาน

สำหรับอาหารแข็ง LB sea เติมแบคโตอะการ์ (Bacto agar) 15.0 กรัม

5.อาหารเลี้ยงเชื้อเอ็ม-โอ-เอฟ (MOF; Modified-Oxidative/Fermentative) 1 ลิตร

แคสซิโตน (Casitone)	1.0	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	0.1	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2 SO_4$)	0.5	กรัม
ทริสมาเบส (Trisma base)	0.5	กรัม
ฟีนอลเรด (Phenol red)	0.01	กรัม
แบคโตอะการ์ (Bacto agar)	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	500	มล.
น้ำทะเลที่ผ่านการกรองแล้ว	500	มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ละลายสารในน้ำกลั่นก่อนผสมน้ำทะเล ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ได้ 7.5 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน เติมกลูโคส หรือ น้ำตาล หรือ คาร์โบไฮเดรต หรือสารที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ที่ผ่านการทำให้ปลอดเชื้อแล้ว ความเข้มข้น 1%

6.อาหารเหลวกำหนดสูตร (Define medium) 1 ลิตร

น้ำมันปาล์ม	20.0	มล.
แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3)	4.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 .7H_2O$)	0.4	กรัม
โปตัสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.2	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2 .2H_2O$)	0.1	กรัม
กรดฟอสฟอริก (H_3PO_4)	0.5	กรัม
กรดบอริก (H_3BO_3)	1.53	มก.
คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 .5H_2O$)	0.284	มก.
แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4 .H_2O$)	1.71	มก.
โซเดียมโมลิบเดต ($Na_2MoO_4 .2H_2O$)	0.7	มก.
ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4 .7H_2O$)	2.9	มก.
เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4 .7H_2O$)	4.3	มก.
โคบอลคลอไรด์ ($CoCl_2 . 6H_2O$)	0.1	มก.
อีดีทีเอ (EDTA)	200.0	มก.
แคลเซียม-แพนโททีเนต (Calcium Pantothenate)	1. 176	มก.
ไบโอทิน (Biotin)	5.88	ไมโครกรัม
กรดโฟลิก (Folic acid)	5.88	ไมโครกรัม
อินโนซิทอล (Inositol)	0.588	ไมโครกรัม
ไนอาซิล (Niacin)	1.176	ไมโครกรัม
กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก (*p*-Aminobenzoic acid)	0.588	มก.
ไพโรดอกซิน-ไฮโดรคลอไรด์ (Pyrodoxine-HCl)	1.176	มก.
โรโบฟลาวิน (Riboflavin)	0.588	มก.
ไทอามีน-ไฮโดรคลอไรด์ (Thiamine-HCl)	1.176	มก.
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4 .12H_2O$)	14.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ได้ 7.5 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน สำหรับสารละลายวิตามินได้แก่ แคลเซียม-แพนโททีเนต ไบโอติน กรดโฟลิก อินโนซิทอล ไนอาซิน กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก โพโรดอกซิน-ไฮโดรคลอไรด์ โรโบฟลาวิน ไทอามิน-ไฮโดรคลอไรด์ แต่ละสารแยกกัน ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรอง

7.อาหารเหลว LB ดัดแปลงสำหรับ *Bacillus subtilis* BBK 1 1 ลิตร

แอมโมเนียมไนเตรต (NH_4NO_3)	2.0	กรัม
ซูโครส (Sucrose)	5.0	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	5.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	30.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มล.

ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้เป็น 7.5 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. บัฟเฟอร์ TE ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0

Tris-HCl	10.0	มิลลิโมลาร์
EDTA	1.0	มิลลิโมลาร์

ผสมสารละลาย Tris-HCl เข้มข้น 1.0 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ปริมาตร 10 มล. เข้ากับสารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 ปริมาตร 2 มล. เติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ. เป็นเวลา 20 นาที

2. สารละลาย 10% SDS

ชั่ง Sodium Dodecyl Sulfate น้ำหนัก 10 กรัม ค่อยๆ ละลายในน้ำปลอดประจุที่อุณหภูมิ 60°ซ. ปริมาตร 80 มล. เมื่อละลายหมดเติมน้ำปลอดประจุให้ครบปริมาตร 100 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ. เป็นเวลา 20 นาที (หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อครั้งแรกแล้วจะไม่สามารถนำไปนึ่งฆ่าเชื้อได้อีกเพราะสารละลาย SDS จะเสียสภาพ)

3. สารละลายโปรตีเนสเค (Proteinase K) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผงโปรตีนเนสเคน้ำหนัก 20 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ –20°ซ.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. สารละลาย CTAB/NaCl (10%CTAB ใน 0.7 M NaCl)

CTAB	10	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	0.7	โมลาร์

ละลาย CTAB ในน้ำปลอดประจุที่อุณหภูมิ 60 °ซ. ปริมาตร 80 มล. จากนั้นเติมสารละลายโซ.เดียมคลอไรด์ เมื่อละลายหมดแล้วเติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 100 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ. เป็นเวลา 20 นาที

5. สารละลายคลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

ผสมคลอโรฟอร์มและไอโซเอมิลแอลกอฮอล์เข้าด้วยกันในอัตราส่วน 24 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°ซ.

6. สารละลายฟีนอล/คลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

ผสมสารละลายฟีนอลอิ่มตัวด้วย Tris-HCl เข้ากับคลอโรฟอร์มและไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ในอัตราส่วน ฟีนอล : คลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ เป็น 25 : 24 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อปริมาตร) ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4°ซ.

7. สารละลาย RNase A เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ละลายผง RNase A น้ำหนัก 10 มก. ในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อให้ครบปริมาตร 1 มล. เก็บที่อุณหภูมิ –20°ซ.

8. บัฟเฟอร์ TAE (50X Tris-acetate)

Tris base	242	กรัม
กรดอะซีติกเข้มข้น	57.1	มล.
สารละลาย EDTA เข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 8.0	100	มล.

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำปลอดประจุปริมาตร 800 มล. แล้วเติมน้ำปลอดประจุจนเป็นปริมาตร 1,000 มล. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °ซ. เป็นเวลา 20 นาที

9. Loading dye

Bromphenolblue	0.025%
ซูโครส	40 %

ละลายส่วนผสมในน้ำปลอดประจุปลอดเชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ.

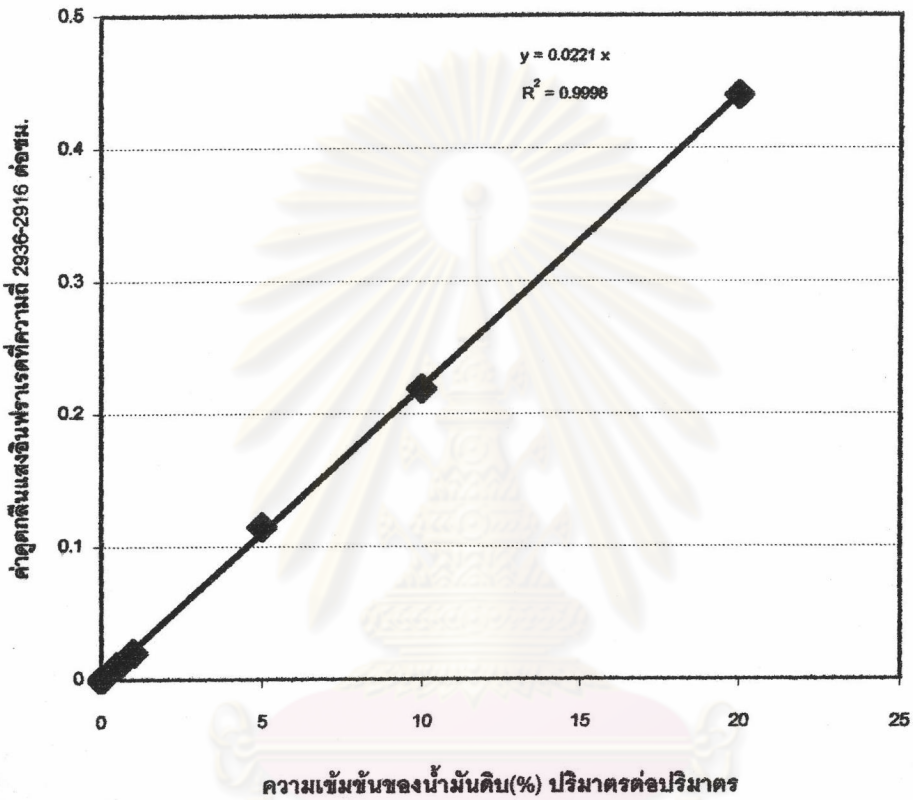
10. สารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ในบัฟเฟอร์ TAE

ละลายผงเอธิเดียมโบรไมด์ในบัฟเฟอร์ TAE ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทในที่มืด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

1. กราฟมาตรฐานของน้ำมันดิบเมอร์บาน



รูปที่ ค.1 กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของน้ำมันดิบ กับ ค่าการดูดกลืนแสงอินฟาเรดที่ความถี่ 2,936-2,916 ต่อซม.

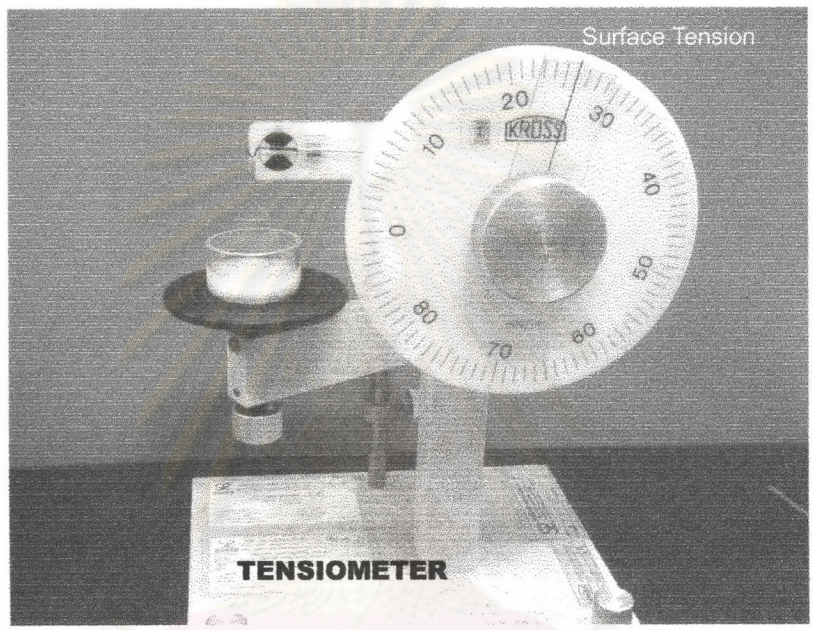
หาความเข้มข้นของน้ำมันดิบ ได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงอินฟาเรด ที่ช่วงคลื่น 2,936-2,916 ต่อซม. ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วย FTIR แล้วแทนค่าในสมการเส้นตรงดังนี้

ค่าการดูดกลืนแสงอินฟาเรด = (ความชันของกราฟมาตรฐาน x ความเข้มข้นของน้ำมันดิบ) + จุดตัดแกน Y

โดยที่ ความชันของกราฟมาตรฐาน = 0.0221

จุดตัดแกน Y = 0

2. เครื่องวัดแรงตึงผิว (Ring Tensiometer) รุ่น K6 ของบริษัท Kruss, Germany



รูปที่ ค.2 เครื่องวัดแรงตึงผิว (Ring Tensiometer) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

เรือเอกนภดล สว่างนาวิน เกิดเมื่อวันที่ 18 พฤษภาคม พ.ศ.2514 ที่จังหวัดสงขลา จบการศึกษาระดับประถมศึกษาจากโรงเรียนปานะพันธุ์วิทยา ในปี2526 ระดับมัธยมศึกษาตอนต้นและตอนปลายจากโรงเรียนสวนกุหลาบวิทยาลัย ในปี2532 และวิทยาศาสตรบัณฑิต ชีววิทยา สาขาวิชาพันธุศาสตร์ จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปี2536

ภายหลังสำเร็จการศึกษาแล้ว เข้าทำงานที่บริษัทพนาเทคโนโลยี จำกัด ปี2537 ย้ายมาทำงานที่บริษัทไซเอนซ์คอมเพล็กซ์ จำกัด และ ปี2538 เข้ารับราชการกองทัพเรือ เป็นว่าที่เรือตรี ตำแหน่งประจำแผนกควบคุมคุณภาพและประเมินผล กองวิทยาการ กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ ปี2540 เป็นเรือโท ปี2542 เป็นตำแหน่งประจำแผนกวิชาการ กองวิทยาการ ปี 2543 เป็นเรือเอก ตำแหน่งประจำแผนกวิเคราะห์ทั่วไป กองวิเคราะห์และทดสอบ ปี 2545 เป็นตำแหน่งประจำกรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ และลาราชการเพื่อศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ที่คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เป็นระยะเวลา 3 ปี ปี 2548 เป็นนาวาตรี ตำแหน่งประจำแผนกวิเคราะห์ทั่วไป กองวิเคราะห์และทดสอบ กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ

ระหว่างรับราชการได้เข้ารับการศึกษาอบรมเพิ่มเติม ได้แก่ หลักสูตรการวิจัยและพัฒนาทางการทหาร ที่สำนักวิจัยและพัฒนาการทางทหาร กองทัพเรือ หลักสูตรฝ่ายอำนวยการเบื้องต้น ที่สถาบันวิชาการทหารเรือชั้นสูง หลักสูตรนายทหารป้องกันนิวเคลียร์ ชีวะ เคมี ที่โรงเรียนวิทยาศาสตร์ทหารบก และหลักสูตร ISO GUIDE 25 ที่สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

งานที่ได้รับบอบหมายและงานวิจัยที่สำคัญ ได้แก่ คณะปฏิบัติงานวิทยาการโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ฯ กองทัพเรือ ปี2540-45 โครงการวิจัยและพัฒนาระบบบำบัดน้ำเสียและน้ำมันเสื่อมสภาพสำหรับเรือหลวง ปี2541-45 คณะนายทหารชุดฝึกปฏิบัติการสงครามเคมี-ชีวะ ร่วม/ผสมคอบร้าโกลด์ ของกองทัพเรือไทยและนาวิกโยธินสหรัฐฯ ปี2541-44 โครงการวิจัยการจัดทำระบบการจัดการสารเคมีอันตรายในกองทัพเรือ ปี2542-44 โครงการวิจัยการทดสอบและการผลิตน้ำมันดิบจากยางที่ดูดซับน้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้ว ปี2543-45 คณะทำงานเพื่อจัดทำรายงานผลกระทบสิ่งแวดล้อมในพื้นที่ที่กองทัพเรือใช้ประโยชน์บริเวณเกาะช้าง จังหวัดระนอง ปี2544-45 และโครงการวิจัยการนำแบคทีเรียทะเลไปใช้ย่อยสลายคราบน้ำมันในทะเล ปี2544-47

สถานที่ทำงานปัจจุบันคือ กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ กองวิเคราะห์และทดสอบ ตั้งอยู่ที่ ถนนพุทธมณฑลสาย 3 แขวงศาลาธรรมสพน์ เขตทวีวัฒนา กรุงเทพ ฯ 10170