

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

5.1 อภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากทรายทะเลและน้ำทะเลที่ปนเปื้อนคราบน้ำมันที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบ จากบริเวณชายหาดหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 3 ไอโซเลตคือ HU1, HU2, และ HU3 และชายหาดทวาย จังหวัดชลบุรี จำนวน 3 ไอโซเลตคือ PA 214, PA 226 และ PA 415 แต่เมื่อศึกษาความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบของเชื้อที่คัดแยกได้พบว่า แบคทีเรียไอโซเลต HU2 ที่คัดแยกได้จากทรายทะเลบริเวณชายหาดหัวหิน มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้สูงสุดที่ 89.59 % ภายในเวลา 8 วัน ส่วนในทรายทะเลจากชายหาดทวาย พบว่าไอโซเลต PA 214 มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบ 63.80 % ภายในเวลา 8 วัน จากการทดสอบการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยไอโซเลตทั้ง 6 เชื้อ พบว่าปริมาณน้ำมันดิบที่ถูกย่อยสลายจะเริ่มคงที่ในวันที่ 3 ดังนั้นการศึกษาผลการเติมสารลดแรงตึงผิวลงไปต่อการย่อยสลายโดยแบคทีเรียจึงได้ลดระยะเวลาเหลือเพียง 4 วัน

แบคทีเรียไอโซเลต HU2 ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้สูงสุดนี้ เมื่อนำมาจำแนกชนิดอนุกรมวิธานด้วยการวิเคราะห์ 16S rDNA สามารถวิเคราะห์ได้จำนวนนิวคลีโอไทด์ 1,425 bp เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แบคทีเรียใน Gene Bank พบว่าไอโซเลต HU2 เป็นแบคทีเรียในสกุล *Brevundimonas* ด้วยความคลึง 99.3 % จึงตั้งชื่อว่า *Brevundimonas* sp. สายพันธุ์ HU2 ซึ่งแบคทีเรียสกุลนี้ถูกบันทึกขึ้นเมื่อปี ค.ศ. 1994 (Segar และคณะ, 1994) จึงจัดเป็นสกุลแบคทีเรียที่ค่อนข้างใหม่ และยังไม่มีการบันทึกไว้ใน Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ดังนั้นสมบัติทางสรีรวิทยาที่เป็นมาตรฐานของแบคทีเรียสกุลนี้ตามวิธีใน Bergey's จึงไม่มีการบันทึกไว้ด้วย จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสมบัติทางสรีรวิทยาที่สำคัญพบว่า *Brevundimonas* sp. สายพันธุ์ HU2 มีลักษณะเป็นท่อนสั้นโค้ง ติดสีแกรมลบ มีขนาดประมาณ 1.5 ไมครอน สามารถเจริญได้ที่มีเกลือ 0-10% ไม่สามารถเคลื่อนที่ เจริญได้ในอาหารที่มีความเป็นกรด ต่าง 7.5-12.0 และมีโคไลนีสีเหลือง บนอาหาร NA ที่มีน้ำทะเลเป็นองค์ประกอบ จากรายงานการวิจัยของ Abraham และคณะ (1999); Fritz คณะ (2005) พบว่าแบคทีเรียสกุล *Brevundimonas* มีหลายชนิด (species) ที่ค้นพบได้ในแหล่งน้ำทะเล (marine isolate) ได้แก่ *B. mediterranea* *B. diminuta* *B. aurantiaca* *B. nasdae*

Brevundimonas sp. V4.BO.07 และ *Brevundimonas* sp. V4.BO.05 และจากรายงานยังพบว่าแบคทีเรียในสกุลนี้ส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ในที่มีเกลือ 0-6 % และ 0-8%

Brevundimonas sp. สายพันธุ์ HU2 นี้เมื่อทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอนและพลังงานพบว่าสามารถย่อยสลายโอดีเคน ($C_{12}H_{26}$) เฮกซะเดเคน ($C_{16}H_{34}$) ซึ่งเป็นอัลเคนที่มีไฮโดรคาร์บอนเป็นโซ่ตรงสายยาว แต่ไม่สามารถย่อยสลายเฮกเซน (C_6H_{14}) ซึ่งเป็นไฮโดรคาร์บอนที่เป็นโซ่ตรงสายสั้น และไม่สามารถย่อยสลายไซโคลเฮกเซนซึ่งเป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีโครงสร้างเป็นวง และสารประกอบพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน รวมทั้งไม่สามารถย่อยสลายสารลดแรงตึงผิวที่มีประจุบวก (CTAB), ที่มีประจุลบ (SDS) และไม่มีประจุ (ไตรตอนเอ็กซ์-100) และไม่สามารถย่อยสลายสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้

จากรายงานการวิจัยของ Chaineau และคณะ (1999) ได้เปรียบเทียบศักยภาพของเชื้อจุลินทรีย์ในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันเชื้อเพลิงที่สะสมในดิน ที่คัดแยกได้จากพื้นที่การเกษตรใกล้ท่าอากาศยาน Montmirail, France พบแบคทีเรีย และ รา หลายชนิด ในจำนวนนี้มี *Brevundimonas vesicularis* ซึ่งมีความสามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนชนิดอิมิตัว (อัลเคน) ได้ 83 % และอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนได้ 16 % ภายในเวลา 30 วัน ในอาหารเหลว MMB และเติมน้ำมันเชื้อเพลิงเข้มข้น 0.13 % โดยปริมาตร ในภาวะไม่มีการเขย่าที่อุณหภูมิ 24 °C.

การที่แบคทีเรียทะเลสกุล *Brevundimonas* สามารถย่อยสลายน้ำมันได้ดีอาจเนื่องจากมีผนังเซลล์ที่เป็นชั้นไขมันที่หนาซึ่งไม่ละลายน้ำ (hydrophobic) ชั้นไขมันที่หนานี้ประกอบด้วยไขมัน 6 ชนิด ซึ่งมากกว่าแบคทีเรียสกุลอื่นๆ (Abraham และคณะ 1994) อันได้แก่

phosphatidylglycerol (PG), 1,2-diacyl-3-o-dulcoguinovosylglycerol (SQDG),

1,2-di-o-acyl-3-o-[glucopyranosyl- (1 →4)α-D-glucopyranosyl]glycerol (DGL)

1,2-di-o-[6 phosphatidyl-]α-D-glucopyranosyl glycerol (PGL)

1,2-di-o-acyl-3-o-α-D-glucopyranosyl glycerol (MGD)

1,2-di-o-acyl-3-o- α-D-glucopyranuronosyl glycerol (MGDOx)

การวิเคราะห์ตัวอย่างทรายทะเลและน้ำทะเล สำหรับการคัดแยกจุลินทรีย์ ทรายทะเลมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.4 -7.8 ความเค็ม 1.5-1.6 % มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 11.6-12.5 พบว่า ทรายพิทยา มีปริมาณไนโตรเจน อินทรีย์คาร์บอน และสารอินทรีย์สูงกว่าทรายหัวหิน แต่มีปริมาณฟอสฟอรัส และโปแตสเซียมต่ำกว่า ส่วนน้ำทะเลจากทั้ง 2 บริเวณ มีองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกันทุกรายการวิเคราะห์ทรายทะเลและน้ำทะเลที่นำมาคัดเลือกเชื้อนี้ ได้สุ่มตัวอย่างจากบริเวณที่มีการปนเปื้อนของคราบน้ำมันแต่จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน และปริมาณไขมันและน้ำมันต่ำกว่า 5 มก.ต่อลิตร (ppm) และต่ำกว่า 1 มก.ต่อลิตร ตามลำดับ

ซึ่งไม่มีค่าการปนเปื้อนที่แน่นอนได้ เนื่องจากการวิเคราะห์ดังกล่าวให้มีค่าที่แน่นอนถึงระดับไมโครกรัมต่อลิตร (ppb) นั้น จะต้องใช้ตัวอย่างปริมาณมาก วิธีการสกัดสาร และทำให้สารเข้มข้นขึ้น ต้องมีประสิทธิภาพ

จากรายงานวิจัยของศรัณย์ เพ็ชรพิรุณ (2531) อ่างถึงในเกศินี สรรวานิช (2534) นั้นผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งอ่าวไทยภาคตะวันออก (พัทยา-ตราด) โดยวิธีฟลูออเรสเซนส์สเปกโตรสโคปี พบว่า มีปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน 0.02-5.29 ไมโครกรัมต่อลิตร (2.0×10^{-5} - 5.29×10^{-3} มก.ต่อลิตร)

กัลยา วัฒนากร (2529) อ่างถึงในเกศินี สรรวานิช (2534) วิเคราะห์ดินตะกอนบริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน พบปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (เทียบกับน้ำมันดิบ) 0.70- 62.0 ไมโครกรัมต่อลิตร (0.0007-0.062 มก. ต่อลิตร)

ดังนั้นทรายทะเลและน้ำทะเลจากบริเวณที่ปนเปื้อนที่คราบน้ำมันที่ใช้ในงานวิจัย ตรวจพบปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่ำกว่า 5 มก.ต่อลิตร และปริมาณไขมัน และน้ำมันต่ำกว่า 1 มก.ต่อลิตร นั้นแสดงว่าอาจมีการปนเปื้อนของไฮโดรคาร์บอน ไขมัน และน้ำมันอยู่ในทรายทะเลและน้ำทะเลจริง จุลินทรีย์ท้องถิ่นที่คัดแยกได้นี้จึงมีความคุ้นเคยกับสารไฮโดรคาร์บอน ไขมันและน้ำมัน และสามารถย่อยสลายน้ำมันได้จริง

น้ำมันดิบที่นำมาใช้ในการศึกษาวิจัยนี้ เป็นน้ำมันดิบเมอร์บานชนิดเบา (Murban ight crude-oil) เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วย FTIR พบว่าเป็นสารกลุ่มอัลเคน (*n*-alkane) และเมื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบด้วย GC-FID พบว่าน้ำมันดิบเป็นสารประกอบอัลเคนที่มีไฮโดรคาร์บอนตั้งแต่ C₁₃-C₃₆ (Tridecane C₁₃ H₂₈- Hexatricosane C₃₆ H₇₄) มีปริมาณอัลเคนชนิด C₁₃-C₃₆ คิดเป็น 58.547 % มีค่าความหนาแน่นจำเพาะ API เท่ากับ 41.24 (ข้อมูลจากกรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ) ดังนั้นน้ำมันดิบเมอร์บาน จึงเป็นน้ำมันดิบชนิดเบา (Light Crude-oil) โดยน้ำมันดิบชนิดหนักจะมีค่าความถ่วงจำเพาะ API ต่ำกว่า 17.5° ลงไป (ปราโมทย์ ไชยเวช, 2533)

จากการวิเคราะห์น้ำมันดิบโดยใช้ FTIR พบว่า เป็นสารไฮโดรคาร์บอนกลุ่มอัลเคน มีอินฟราเรดสเปกตรัมที่ช่วงคลื่น 2,536-2,916 ซม.⁻¹ และ 2,836-2,843 ซม.⁻¹ จึงใช้ช่วงคลื่นดังกล่าว ในการสร้างกราฟมาตรฐานของความเข้มข้นของน้ำมันดิบ สำหรับใช้วิเคราะห์ปริมาณน้ำมันดิบที่เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากการย่อยสลายโดยแบคทีเรีย การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันโดยใช้ FTIR นี้เป็นวิธีที่รวดเร็ว (ใช้เวลาตัวอย่างละประมาณ 5 นาที) ใช้สารตัวอย่างปริมาณเล็กน้อย(10-20ไมโครลิตร)ให้ผลทดสอบที่ถูกต้องและเป็นไปตามมาตรฐานการวิเคราะห์ของ ASTM (American Society for Testing and Material) AWWA (American Water Works

Association) และ USEPA (United States Environmental Protection Agency) อ้างถึงใน Greenberg และคณะ (1992) Nollet และคณะ (2000) และปรานอม ขาวเมฆ (2539) การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันดิบและปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนด้วยเครื่อง FTIR ได้มีการนำมาใช้งานวิจัยของ Vasheghani-Farahni และ Mehmia (2000) Richard และ Vogel (1999) Margesin และ Schinner (1997)

เมื่อศึกษาการย่อยสลายน้ำมันดิบในอาหารเหลว BH ที่มี Phenol Red ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 โดยเชื้อ *Brevundimonas* sp. สายพันธุ์ HU2 นี้สามารถเปลี่ยนสีอาหารเหลว BH ที่มี Phenol Red จากสีแดงไปเป็นสีส้มภายในระยะเวลา 2 วัน แสดงว่า อาหารมี pH ต่ำลงและเหมือนกับ ค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหาร BH sea หลังจากเลี้ยงเชื้อในวันที่ 2 ซึ่งมีค่า เป็น 7.32 และลดลงเหลือ 7.05 ในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ แสดงว่า การย่อยสลายน้ำมันดิบโดยแบคทีเรีย นั้น อัลเคนในน้ำมันดิบถูกสลายไปเป็นกรดไขมันและจากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันดิบที่ถูกย่อยสลายไปด้วย FTIR ยังพบว่า อินฟราเรดสเปกตรัมของอัลเคนเริ่มต่ำลงในวันที่ 2 และเริ่มปรากฏพีคของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เริ่มเด่นขึ้น และเด่นชัดในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ แสดงว่า อัลเคนในน้ำมันดิบอาจถูกเชื้อย่อยสลายไปเพื่อการเจริญและเพิ่มจำนวน และสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้น ซึ่งตรงกับวิถีการออกซิไดซ์อัลเคนโดยแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ได้เป็นกรดไขมัน และคาร์บอนไดออกไซด์ (Kallio และคณะ, 1963)

จากผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของอัลเคนที่ถูกย่อยสลายไปโดย *Brevundimonas* sp. สายพันธุ์ HU2 ด้วย GC-FID พบว่า อัลเคนที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ C_{14} - C_{32} จะถูกย่อยสลายได้ดีกว่าอัลเคนที่มีจำนวนคาร์บอน ซึ่งต่างจากการย่อยสลายโดยแบคทีเรียส่วนใหญ่ เช่น *Acinetobacter calcoacticus* และ *Pseudomonas fluorescens* จะย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่มีมวลโมเลกุลต่ำก่อน (จำนวนคาร์บอน C_7 - C_{18}) ซึ่งรายงานโดย Gottschalk (1986)

สำหรับการย่อยสลายน้ำมันดิบทางกายภาพ (ชุดควบคุมที่ไม่เติมแบคทีเรีย) พบว่า อัลเคนที่มีจำนวนคาร์บอน C_{14} - C_{24} จะสลายไปได้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะ Tetradecane ($C_{14}H_{30}$) จะสลายไปจนหมดภายใน 2 วัน เนื่องจากมีจุดเดือดต่ำกว่าอัลเคนชนิดอื่น จึงเกิดการระเหยได้กว่า ส่วนอัลเคนที่มี C_{26} - C_{32} ซึ่งมีจุดเดือดสูงกว่าก็จะมีอัตราการสลายได้น้อย และเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวแรมโนลิพิค เพื่อส่งเสริมการย่อยสลายน้ำมันดิบโดย *Brevundimonas* sp. สายพันธุ์ HU2 พบว่า เชื้อมีการเจริญและสามารถย่อยสลายอัลเคนทุกชนิดให้ลดลง อย่างรวดเร็วจนเหลือปริมาณน้อยลงต่ำกว่า 0.1% จึงสอดคล้องกับงานวิจัยต่างๆ ที่รายงานว่าสารลดแรงตึงผิวจะเพิ่มการละลายน้ำของอัลเคน ทำให้โมเลกุลของอัลเคนกระจายตัวออกไป เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวให้เซลล์แบคทีเรีย

เข้าไปจับโมเลกุลของอัลเคน จึงเกิดการย่อยสลายได้รวดเร็วขึ้น (Zhang และ Miller, 1995 Herman และคณะ, 1997)

การทดสอบประสิทธิภาพสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในงานวิจัยนี้ 4 ชนิด คือ แรมโนลิทิด เซอร์แฟคติน ไตรตอนเอ็กซ์-100 และสารเคมีขจัดคราบน้ำมัน เคมีเทค 307 ทดสอบประสิทธิภาพโดยการวัดค่าแรงตึงผิว การหาค่าความเข้มข้นของจุดวิกฤติในการเกิดไมเซลล์ (CMC) และการวัดค่าการกระจายตัวของน้ำมัน (oil displacement) พบว่าที่ความเข้มข้นเท่ากัน สารทั้ง 4 ชนิด จะมีประสิทธิภาพที่แตกต่างกันทั้ง 3 ค่า

ในงานวิจัยนี้ทำการวัดค่า CMC ของเซอร์แฟคตินที่ผลิตได้ เท่ากับ 180 มก.ต่อลิตร จากรายงานวิจัยค่า CMC ของเซอร์แฟคตินซึ่งผลิตจาก *B.subtilis* นั้นมีค่าอยู่ระหว่าง 12-200 มก.ต่อลิตร (นิรันดร์ รุ่งสว่าง 2542 ; Olivera, 2000) แรมโนลิทิดที่ผลิตได้ มีค่า CMC 260 มก.ต่อลิตร จากรายงานการวิจัยค่า CMC ของแรมโนลิทิดซึ่งผลิตโดย *P.aeruginosa* นั้นมีค่าอยู่ระหว่าง 11-400 มก.ต่อลิตร (Lang และ Wullbrandt, 1999 อ้างถึงโนนพรัตน์, 2545)

ทำการวัดค่า CMC ของไตรตอนเอ็กซ์-100 ได้ 200 มก.ต่อลิตร จากรายงานการวิจัยค่า CMC ของไตรตอนเอ็กซ์-100 นั้นมีค่าอยู่ระหว่าง 120-220 มก.ต่อลิตร (อารีย์ กิ่งฉิน, 2542 ; Zhu และ Feng, 2003) ส่วนเคมีเทค 307 ซึ่งเป็นสารเคมีกลุ่มอัลคิลซัลโฟเนต ทำการวัดค่า CMC ได้ 2,500 มก.ต่อลิตร จากรายงานการวิจัยค่า CMC ของสารเคมีขจัดคราบน้ำมันมีค่าระหว่าง 500-3,000 มก.ต่อลิตร (Bruheim และคณะ 1999; Zhu และ Feng, 2003) เมื่อเปรียบเทียบค่าการกระจายตัวของน้ำมันที่ความเข้มข้นเท่ากัน พบว่า ไตรตอนเอ็กซ์-100 มีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือเซอร์แฟคติน แรมโนลิทิด และเคมีเทค 307 ตามลำดับ

ผลการเติมสารลดแรงตึงผิวต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ พบว่า ชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวมีผลต่อเจริญเติบโตของเชื้อและการย่อยสลายน้ำมันดิบ เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวลงไป พบว่าการเติมสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นสูงกว่าค่า CMC แบคทีเรียจะเจริญเติบโตมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น และย่อยสลายน้ำมันดิบได้รวดเร็วกว่า ที่ความเข้มข้นเท่ากับค่า CMC และความเข้มข้นต่ำกว่าค่า CMC ตามลำดับ เนื่องจากการเติมสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นสูงขึ้น จะทำให้แรงตึงผิวของชั้นน้ำลดลงมากขึ้น น้ำกับน้ำมันจึงรวมตัวกันได้มากขึ้นเกิดเป็นอิมัลชันได้ดี และเป็นภาวที่เพิ่มการละลายของไฮโดรคาร์บอนในน้ำ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดการกระจายตัวของน้ำมันเป็นหยดเล็กๆ มากขึ้น เป็นภาวที่เพิ่มพื้นที่ผิวส่วนที่ไม่ละลายน้ำ ทำให้เซลล์แบคทีเรียเข้าไปเกาะกับโมเลกุลน้ำมันได้มากขึ้น น้ำมันดิบจึงถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียได้รวดเร็วขึ้น (Catherine, 2005) และเนื่องจากแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ไม่สามารถใช้สารลดแรงตึงผิว

ทั้ง 4 ชนิด เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานได้ จึงสามารถย่อยน้ำมันเพียงอย่างเดียวเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน

จากการวิจัยนี้พบว่าแรมโนลิติด และเซอร์แฟคติน มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมย่อยสลายน้ำมันดิบใกล้เคียงกันที่ความเข้มข้นสูงกว่า และ เท่ากับและน้อยกว่าค่า CMC และมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมย่อยสลายน้ำมันดิบโดยแบคทีเรียสูงกว่า ไตรตอนเอ็กซ์-100 และ เคมเทค 307 ตามลำดับ

นอกจากนี้ได้ศึกษาของเติมแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิว ต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบร่วมกันกับแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ พบว่า *P. aeruginosa* สายพันธุ์ A 41 และ *B. subtilis* สายพันธุ์ BBK 1 สามารถส่งเสริมการเจริญและการย่อยสลายน้ำมันดิบโดย *Brevundimonas* sp. สายพันธุ์ HU2 ซึ่งให้ผลการวิจัยใกล้เคียงกับการเติมสารลดแรงตึงผิวลงไป สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Rahman และคณะ (2002) โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อผสม (Mixed Culture) ระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ท้องถิ่นร่วมกับจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวได้ จะเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้มากกว่าการใช้เชื้อบริสุทธิ์ (Pure Culture) เพียงเชื้อเดียว และแสดงให้เห็นว่าการเติมเชื้อจุลินทรีย์จากภายนอกเพิ่มเข้าไป (Bioaugmentation) จะสามารถส่งเสริมการย่อยสลายน้ำมันดิบได้

ปัจจัยอีกอย่างหนึ่งที่มีผลต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบ คือ ธาตุอาหารในอาหาร BH และน้ำทะเล อาหารเลี้ยงเชื้อ BH ประกอบด้วย ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม และเหล็ก ส่วนในน้ำทะเลทรายทะเล มีองค์ประกอบของแร่ธาตุใกล้เคียงกับอาหาร BH แต่จะมีโซเดียม และคาร์บอนเพิ่มขึ้นมา จากงานวิจัยพบว่า การย่อยสลายน้ำมันดิบโดยแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ในอาหาร BH ที่มีน้ำทะเลจะเกิดขึ้นได้รวดเร็วกว่าในอาหาร BH ที่ไม่มีน้ำทะเลและในน้ำทะเลที่ไม่มีอาหาร BH แสดงให้เห็นว่า ในน้ำทะเลและทรายทะเล ซึ่งแหล่งที่แยกเชื้อแบคทีเรียได้ มีแร่ธาตุที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต การเติมแร่ธาตุจากอาหาร BH (ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม) จะเป็นการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารอย่างสมบูรณ์ เพื่อกระตุ้นให้เชื้อเจริญได้มากขึ้น (Biostimulation) อันจะเป็นการส่งเสริมให้เกิดการย่อยสลายน้ำมันดิบได้อย่างรวดเร็วต่อไป (ITOPF, 2004; Rahman และคณะ, 2003; Venosa และคณะ, 1997)

5.2 สรุปผลการวิจัย

1. *Brevundimonas* sp. สายพันธุ์ HU2 เป็นแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำมันได้ดี คัดแยกได้จากชายฝั่งทะเลของประเทศไทย บริเวณชายหาดหัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์ เป็น Oil degrading Halotolerance bacterium ลักษณะ thin-bended short rod shape, Gram negative, non-motility, non-biosurfactant producer สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบและผลิตไบโอดีเซลได้

2. กระบวนการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยเชื้อสายพันธุ์นี้ จะสามารถย่อย *n*-alkane ที่เป็นโซ่ตรงสายยาวเกิดเป็นกรด, ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และ *n*-alkane สายสั้น แต่ไม่สามารถย่อยสลาย *n*-alkane สายสั้น และ aromatics โดยจะย่อยสลาย *n*-alkane C_{14} - C_{32} ได้ดี ซึ่งต่างจากวิถี Alkane Oxidation โดยแบคทีเรียส่วนใหญ่ ซึ่งจะเกิดขึ้นที่ *n*-alkane C_7 - C_{18}

3. กระบวนการย่อยสลายทางกายภาพของน้ำมันดิบจะเกิดกับ *n*-alkane ที่มี C ต่ำๆ หรือ C_{24} ลงมา เพราะมีจุดเดือดต่ำกว่า ระเหยได้เร็วกว่า

4. การใช้สารลดแรงตึงผิวทั้ง 4 ชนิด คือ Rhamnolipid, Surfactin, Triton X-100 และ Chemtec 307 ที่ความเข้มข้นสูงกว่าหรือเท่ากับค่า CMC จะส่งเสริมการย่อยน้ำมันดิบทางชีวภาพ โดยเชื้อสายพันธุ์นี้ได้เป็นอย่างดี

5. การเติมธาตุอาหาร N,P,K (Biostimulation) จากอาหาร BH เพียงอย่างเดียว ไม่สามารถส่งเสริมการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยเชื้อนี้ได้ การย่อยสลายจะเกิดสมบูรณ์เมื่อมีการเติมสารลดแรงตึงผิวลงไป

6. การเติมแบคทีเรียที่สร้างสารลดแรงตึงผิว (Bioaugmentation) สามารถส่งเสริมการย่อยสลายน้ำมันดิบทางชีวภาพให้เกิดสมบูรณ์ได้

7. การย่อยสลายน้ำมันดิบหรือการกำจัดคราบน้ำมันให้หมดไปอย่างสมบูรณ์ จำเป็นจะต้องใช้หลายวิธีร่วมกันทั้งวิธีกายภาพ การใช้สารเคมี และวิธีทางชีวภาพ

8. สามารถใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดคราบน้ำมันได้

9. FTIR สามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณน้ำมันที่เหลืออยู่ในตัวอย่างได้เช่นเดียวกับ GC แต่ประหยัดเวลา และประหยัดค่าใช้จ่ายกว่า

10. จากวิธีการวิจัยนี้ สามารถใช้เป็นแนวทางในการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายทางชีวภาพของสารเคมีหรือสารทดแทนที่ใช้ในการขจัดคราบน้ำมันได้ โดยสามารถเลือกชนิดของสารและปริมาณที่เหมาะสมเพื่อการกำจัดมลพิษให้กับสิ่งแวดล้อมได้



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย