

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนโดยแบคทีเรียทะเลที่มีความ
สามารถทนเค็มซึ่งแยกได้จากชายฝั่งทะเลตะวันออกของอ่าวไทย
Biodegradation of Petroleum Hydrocarbon by the Marine
Bacteria Isolated from the Eastern Gulf of Thailand

โดย

กรประภา เครือวัลย์

Kornprabha Kruawal

22 ส.ค. 2552

๒๕๕๒/๒๕

249054

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

งานวิจัยระดับอุดมศึกษา แผนงานวิจัยพื้นฐาน

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2543

เริ่มบริการ

26 ส.ค. 2552

บทคัดย่อ

การย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนโดยแบคทีเรียทะเลที่มีความสามารถทนเค็ม
ซึ่งแยกได้จากชายฝั่งทะเลตะวันออกของอ่าวไทย

กรประภา เครือวัลย์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

จากการทดลองแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณชายฝั่ง พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่สูญเสียความสามารถในการเจริญเติบโตและย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนหลังจากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 2 หรือ 3 โดยมีแบคทีเรียเพียง 10 ชนิดเท่านั้นที่มีคุณสมบัติตามต้องการหลังจากผ่านการถ่ายเชื้อครบ 7 ครั้ง เมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 10 ชนิดมาทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน พบว่า แบคทีเรียหมายเลข 2.3 มีความสามารถในการย่อยสลายสูงที่สุดคือ 90% รองลงมาคือ แบคทีเรียหมายเลข 2.6 2.2 และ 9.1 มีความสามารถในการย่อยสลาย 65 57.5 และ 55% ตามลำดับ การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อการย่อยสลายพบว่า แบคทีเรียทั้ง 10 ชนิดมีความสามารถในการย่อยสลายลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนมากกว่า 200 พีพีเอ็ม เมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 10 ชนิดมาจำแนกชนิด โดยศึกษา การย้อมสีแกรมและปฏิกิริยาทางชีวเคมีพบว่า เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Pseudomonas 4 ชนิด กลุ่ม Alcaligenes 2 ชนิด กลุ่ม Enterobacter 2 ชนิด และกลุ่ม Aeromonas และ Acinetobacter กลุ่มละ 1 ชนิด

Abstract

Biodegradation of Petroleum Hydrocarbon by the Marine Bacteria Isolated

from the Eastern Gulf of Thailand

Kornprabha Kruawal

Department of Biotechnology

Faculty of Science Burapha University

Hydrocarbon degrading bacteria were isolated from seawater samples. The samples were inoculated and cultivated in medium containing 200 ppm hydrocarbon as a sole source of carbon and energy. The serial transfer procedure was used to establish bacteria capable of growth and degrading hydrocarbon compound. Most cultures lost their growth and degradability after the second or third transfer. Only 10 isolates were found to be able to degrade the hydrocarbon compound during seven serial transfers. They were subsequently studied by their ability to degrade and grow on the hydrocarbon compound. Isolate #2.3 gave the highest degradation (90% removal). Isolate #2.6, 2.2, and 9.1 showed 65, 57.5, and 55% removal, respectively. The effect of various hydrocarbon concentration (0, 100, 200, 300, and 400 ppm) on degradability of the bacterial isolates were examined. The hydrocarbon degradation by the isolates decreased with increasing hydrocarbon concentration (more than 200 ppm). These bacterial cultures, therefore, are a promising candidate for development of effective cultures for hydrocarbon degradation.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	i
Abstract.....	ii
สารบัญรูป.....	iii
สารบัญตาราง.....	iv
บทนำ.....	1
วัตถุประสงค์.....	2
วิธีการทดลอง.....	3
ผลการทดลอง.....	4
วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง.....	17
ภาคผนวก.....	18
เอกสารอ้างอิง.....	19

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 1.3 และ # 1.1a.....	5
2 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 2.2 และ # 2.3	6
3 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 2.5a และ # 2.6	7
4 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 7 และ # 8.1	8
5 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 8.2 และ # 9.1	9
6 เปอร์เซ็นต์ของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ถูกใช้ไปโดยแบคทีเรียที่แยกได้	10
7 ผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 1.1a และ # 1.3	12
8 ผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 2.2 และ # 2.3	13
9 ผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 2.5a และ # 2.6	14
10 ผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 7 และ # 8.1a	15
11 ผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 8.2b และ # 9.1	16

สารบัญตาราง

ตารางที่

หน้า

- 1 การจำแนกชนิดของבקเตરીที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน
.....11

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการพัฒนาทางด้านเศรษฐกิจและอุตสาหกรรมอยู่ในระดับสูง โดยเฉพาะทางชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศ จึงทำให้มีการตั้งโรงงานอุตสาหกรรมเช่น โรงกลั่นน้ำมัน โรงงานอุตสาหกรรมปิโตรเคมี โรงแยกแก๊สธรรมชาติ เป็นต้น โรงงานอุตสาหกรรมเหล่านี้มีการใช้สารที่คงทนต่อการย่อยสลายในปริมาณมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน ดังนั้นจึงทำให้สารเหล่านี้มีโอกาสแพร่กระจาย และปนเปื้อนลงสู่สิ่งแวดล้อมมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งลงสู่ทะเล

สารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนมีความเป็นพิษสูง และคงทนต่อการย่อยสลาย สามารถสะสมในสิ่งแวดล้อมได้เป็นเวลานาน สารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนมีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตทางทะเลหลายชนิด เช่นสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนสามารถรบกวนการตอบสนองทางเคมีของแบคทีเรีย ซึ่งจะมีผลทำให้การย่อยสลายสารอินทรีย์ในทะเลถูกยับยั้ง อัตราการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายลดลง การพัฒนาตัวอ่อนของสัตว์ทะเลผิดปกติ เป็นต้น นอกจากนี้ปลาทะเลหลายชนิดสามารถสะสมสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในเนื้อเยื่อไขมัน และสามารถถ่ายทอดไปสู่สิ่งมีชีวิตระดับสูงขึ้นไปในห่วงโซ่อาหารได้ ซึ่งจะมีผลกระทบต่อทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศโดยเฉพาะระบบนิเวศบริเวณชายฝั่งทะเล ที่มีการประกอบกิจกรรมต่างๆ เช่น ประมงชายฝั่ง กีฬา การท่องเที่ยวทางทะเล เป็นต้น

จุลินทรีย์ที่แยกสายพันธุ์จากทะเลหลายชนิดที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มีทั้ง แบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์ เช่น *Acinetobacter*, *Cladosporium*, *Candida* (Austin, 1988)

Bertarand et al. (1990) พบว่า Halobacteria ที่แยกสายพันธุ์ได้ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนสายตรง เช่น Tetradecane Hexadecane Eicosane และ ไฮโดรคาร์บอนแบบวงแหวน เช่น Acenaphthene Phenanthrene Anthracene การย่อยสลายมีประสิทธิภาพสูงสุด เมื่อความเข้มข้นของเกลือเป็น 3.5 M และสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนถูกย่อยสลายระหว่าง 19 – 24%

DeFrank และ Cheng (1991) แยก halophilic bacteria ที่สามารถย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนประเภท organophosphorus หลายชนิดโดยเอนไซม์ anhydrase

การปนเปื้อนของสารดังกล่าวส่วนมากเกิดขึ้นในทะเล ดังนั้นการศึกษาหาชนิด จำนวน และคุณสมบัติของจุลินทรีย์จากทะเลที่มีความสามารถย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน จึงเป็นประโยชน์ต่อการแก้ไขปัญหาภาวะมลพิษทางน้ำต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อสร้างกลุ่มจุลินทรีย์จากทะเลที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

เพื่อแยกชนิดแบคทีเรียจากทะเลที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียจากทะเลที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบถึงชนิด และจำนวน ตลอดจนประสิทธิภาพของแบคทีเรียจากทะเลที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

คำสำคัญของเรื่องที่ทำการวิจัย

Petroleum hydrocarbon, Marine bacteria, Xenobiotic compounds, Biodegradation

วิธีการทดลอง

■ การเก็บตัวอย่างเพื่อการวิจัย

เก็บตัวอย่างน้ำทะเลจากสถานีต่างๆในเขตที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แชนด์ในถังน้ำแข็งจนกระทั่งนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

■ การสร้างกลุ่มบักเตรีจากทะเลที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

นำตัวอย่างน้ำทะเลมาใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเกลื้อแร่ ที่มีความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน 200 ppm นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 – 10 วัน

นำตัวอย่างที่มีการเจริญเติบโตของบักเตรี มาถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ที่มีสภาพเดียวกัน และทำเช่นนี้ซ้ำกัน 7 ครั้ง

นำ culture ที่ผ่านการถ่ายเชื้อครบ 7 ครั้ง และยังคงแสดงว่า มีการเจริญเติบโตของบักเตรีมาซีตบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง ที่มีสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน เพื่อให้เชื้อบริสุทธิ์

■ การจำแนกชนิดของบักเตรี

ทำการจำแนกชนิดของบักเตรีที่แยกได้ โดยวิธีย้อมสีแกรม ปฏิกริยา oxidase ปฏิกริยา catalase และตามวิธีของ Bergey's Manual of Systemic Bacteriology

■ การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

เลี้ยงบักเตรีที่แยกเชื้อบริสุทธิ์แล้ว ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนความเข้มข้น 200 ppm วัดการเจริญเติบโตของบักเตรีที่เวลาต่างๆ พร้อมทั้งวัดความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีบักเตรี นำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณ % removal

■ การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

เลี้ยงบักเตรีแต่ละชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่างๆกันคือ 0 100 200 300 และ 400 ppm บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน วัดการเจริญเติบโตของบักเตรี และความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน นำผลการทดลองมาคำนวณ % removal

ผลการทดลอง

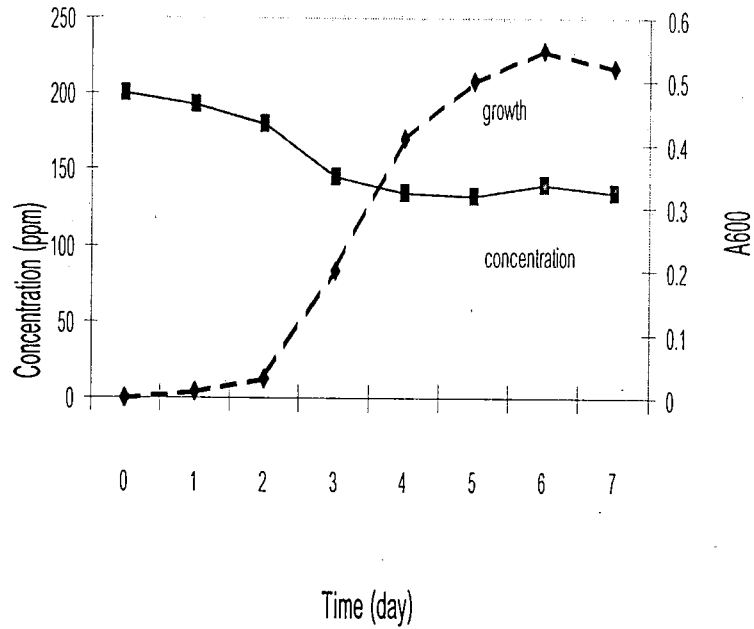
จากตัวอย่างน้ำทะเลที่นำมาใช้ในการสร้างกลุ่มแบคทีเรียที่คาดว่า น่าจะมีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน และนำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์พบว่า ได้เชื้อแบคทีเรียทั้งสิ้น 28 ชนิด เมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 28 ชนิดนี้มาทดลองเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงานเพียงชนิดเดียว พบว่ามีแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในขั้นการทดลองนี้เพียง 10 ชนิดเท่านั้นคือ 1.1a 1.3c 2.2 2.3 2.5a 2.6 7 8.1 8.2b และ 9.1

เมื่อนำแบคทีเรียแต่ละชนิดทั้ง 10 ชนิดดังกล่าว มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน โดยวัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละชนิดทุกวันเป็นเวลา 7 วัน พร้อมทั้งวัดปริมาณสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนควบคู่ไปด้วย แล้วนำผลการทดลองที่ได้ไปเขียนกราฟจะได้ผลดังแสดงในรูปที่ 1 - 5 และเมื่อนำความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่เหลืออยู่ หลังจากการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียครบ 7 วัน มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 6 แบคทีเรียหมายเลข 2.3 มีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนสูงที่สุด คือ 90% โดยมีแบคทีเรียที่มีความสามารถรองลงมาคือ แบคทีเรียหมายเลข 2.6 2.2 และ 9.1 สามารถย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้ 65 57.5 และ 55% ตามลำดับ

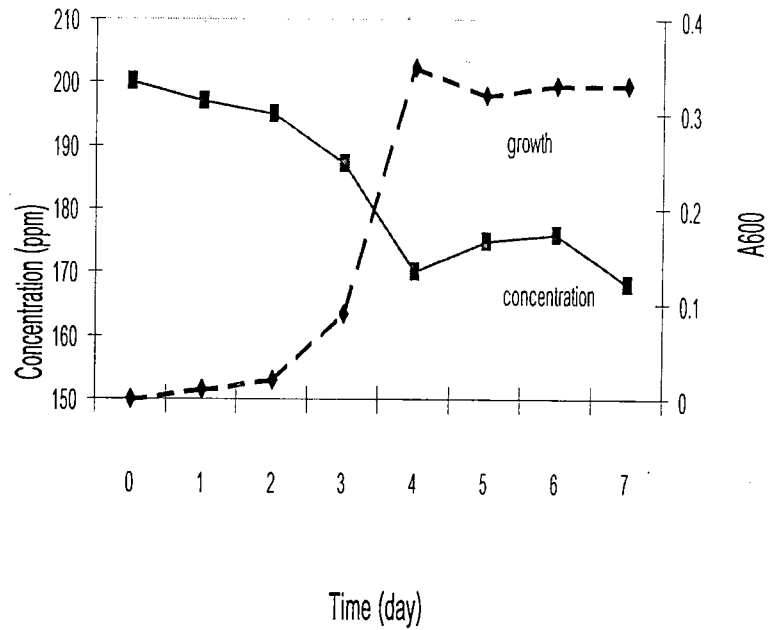
การจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย 10 ชนิดโดยวิธีการย้อมสีแกรม ปฏิกริยา oxidase ปฏิกริยา catalase และปฏิกริยาทางชีวเคมี ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1 จากแบคทีเรียที่แยกได้ 10 ชนิดพบว่าเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Pseudomonas 4 ชนิด กลุ่ม Alcaligenes 2 ชนิด กลุ่ม Enterobacter 2 ชนิด กลุ่ม Aeromonas 1 ชนิด และกลุ่ม Acinetobacter 1 ชนิด

การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนพบว่า แบคทีเรียทั้ง 10 ชนิดมีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน จาก 200 ppm เป็น 300 และ 400 ppm (ดังแสดงในรูปที่ 7 - 11) ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm มีความใกล้เคียงกัน โดยแบคทีเรียหมายเลข 2.3 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรียบางตัว ได้แก่หมายเลข 1.3c 2.5a และ 7 ไม่สามารถเจริญเติบโตและย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่มีความเข้มข้นมากกว่า 200 ppm ได้

Isolate #1.1a

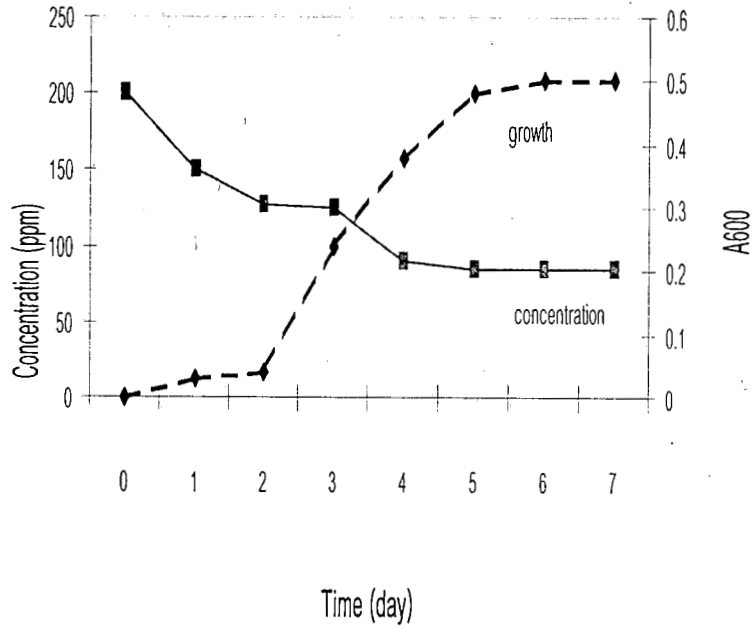


Isolate #1.3c

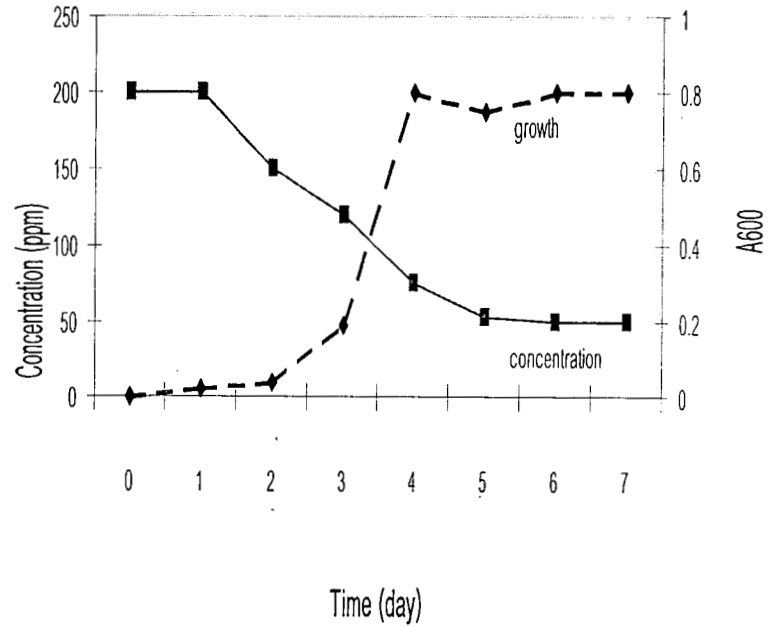


รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate #1.1a และ #1.3c

Isolate #2.2

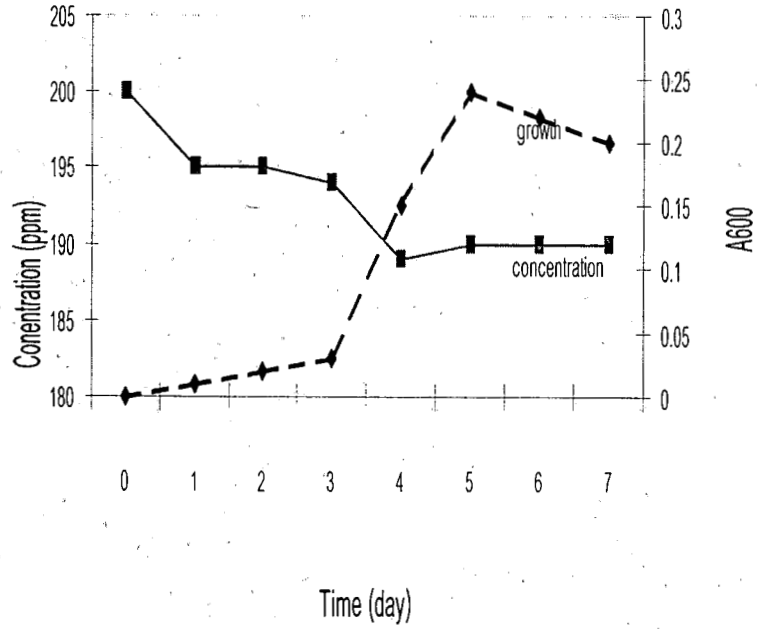


Isolate #2.3

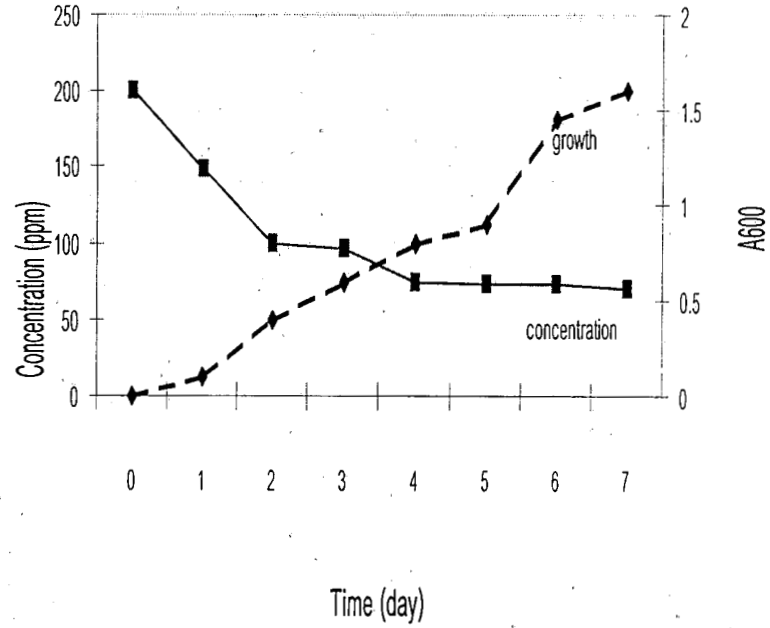


รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 2.2 และ # 2.3

Isolate #2.5a

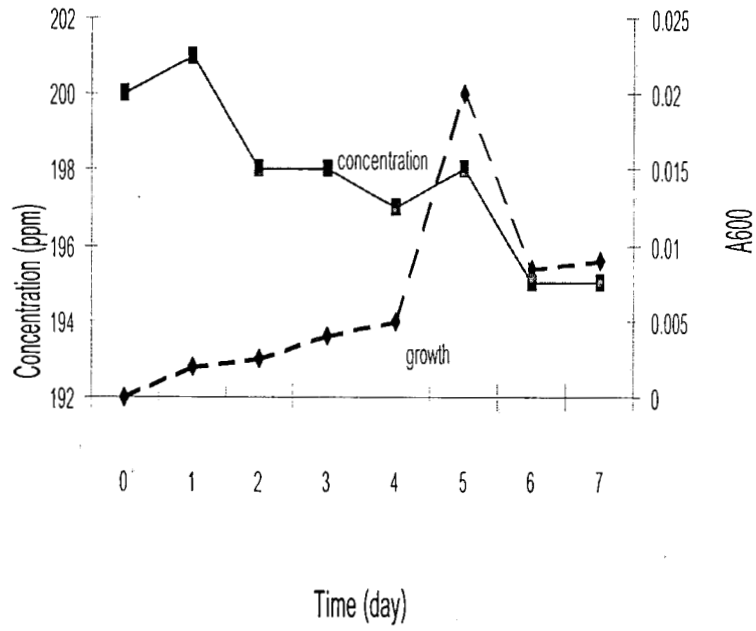


Isolate #2.6

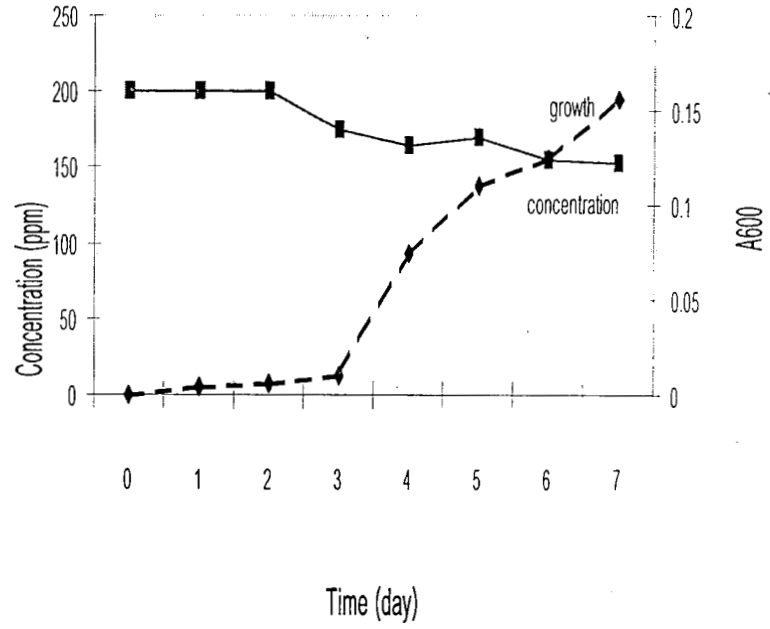


รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 2.5a และ # 2.6

Isolate #7

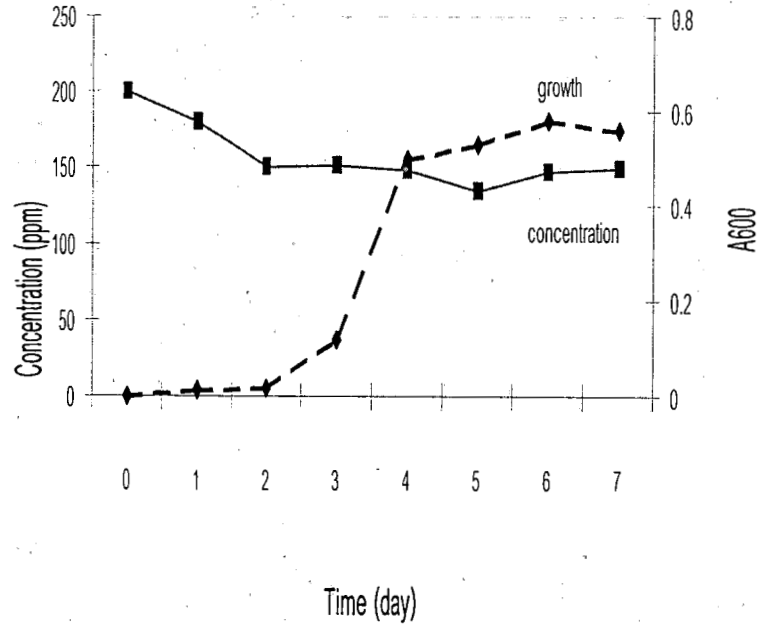


Isolate #8.1

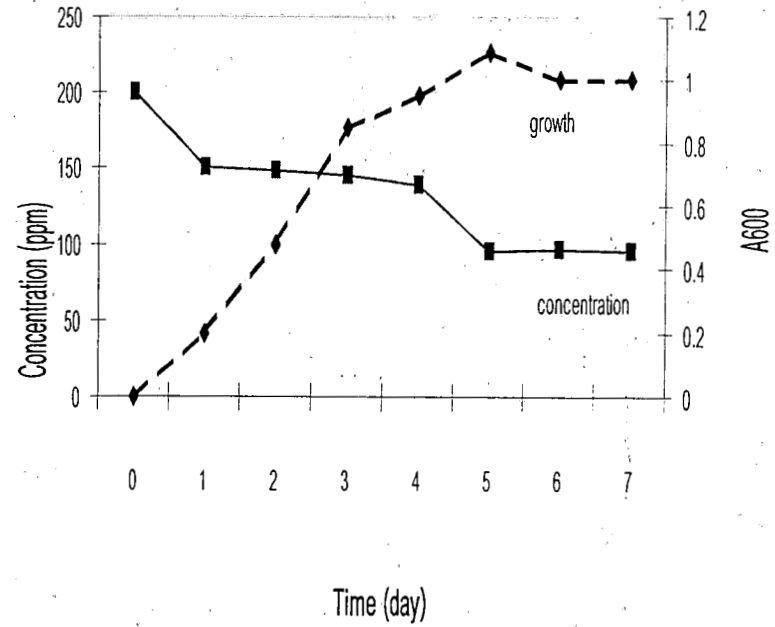


รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและความเข้มข้นของสารปีโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 7 และ # 8.1

Isolate #8.2b

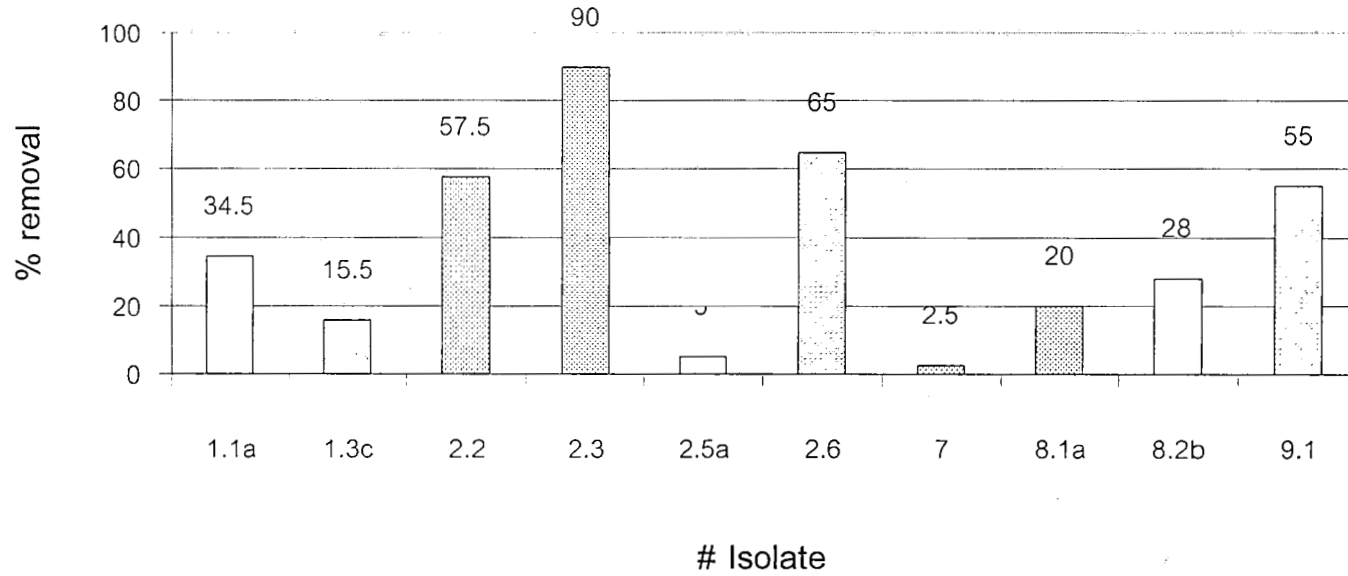


Isolate #9.1



รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและความเข้มข้นของสารปีโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 8.2 และ # 9.1

% Hydrocarbon Removal

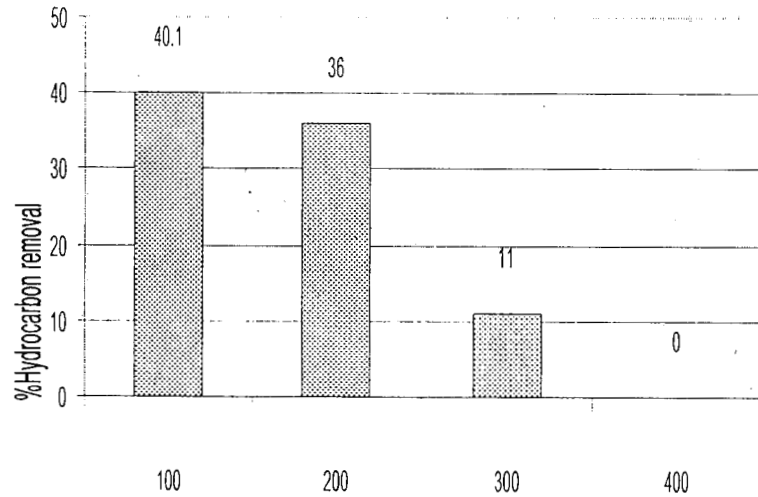


รูปที่ 6 เปอร์เซนต์ของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ถูกใช้ไปโดยแบคทีเรียที่แยกได้

ตารางที่ 1 การจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายสาร
ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

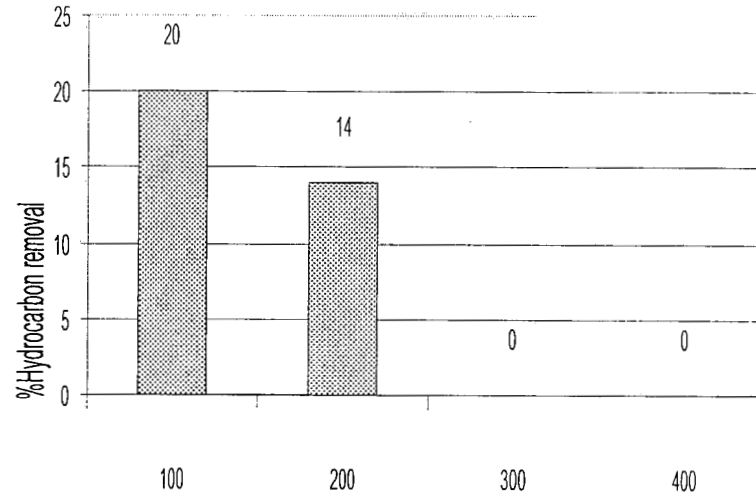
Isolates	Identification
1.1a	<i>Pseudomonas fluorescences</i>
1.1a	<i>Enterobacter</i> sp.
2.2	<i>Acinetobacter</i> sp.
2.2	<i>Pseudomonas putida</i>
1.1a	<i>Aeromonas</i> sp.
2.6	<i>Alcaligenes</i> sp.
1.1a	<i>Enterobacter</i> sp.
1.1a	<i>Alcaligenes</i> sp.
8.2b	<i>Pseudomonas</i> sp.
9.1	<i>Pseudomonas</i> sp.

Isolate #1.1a



Hydrocarbon concentration (ppm)

Isolate#1.3c

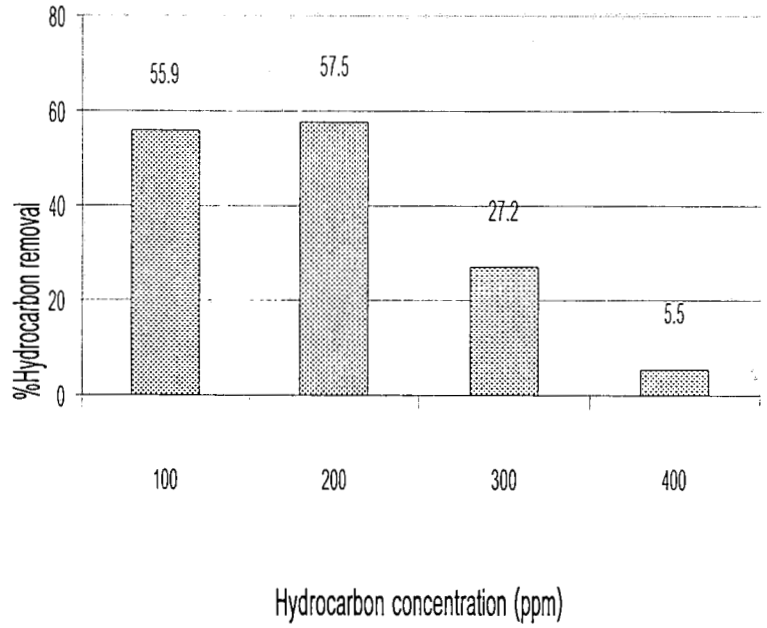


Hydrocarbon concentration (ppm)

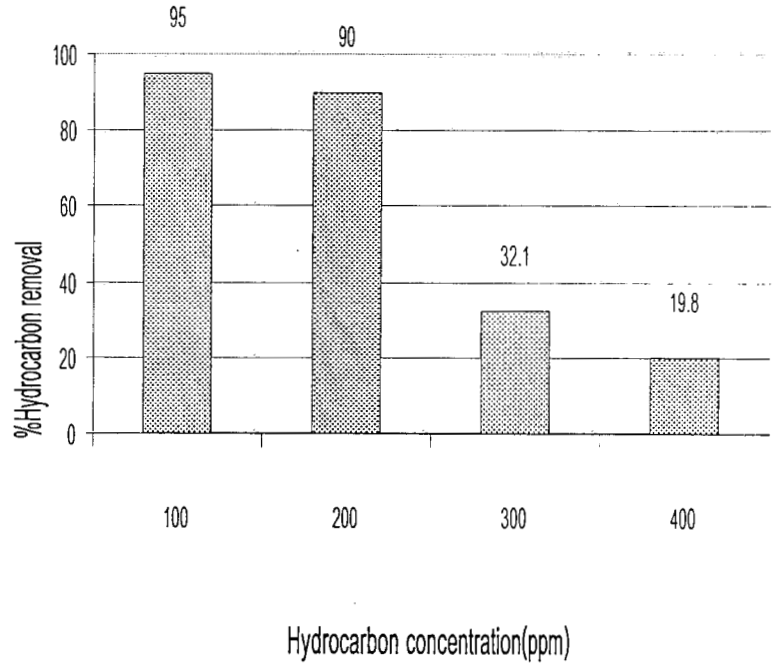
รูปที่ 7 ผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate #1.1a และ #1.3c

249054

Isolate#2.2

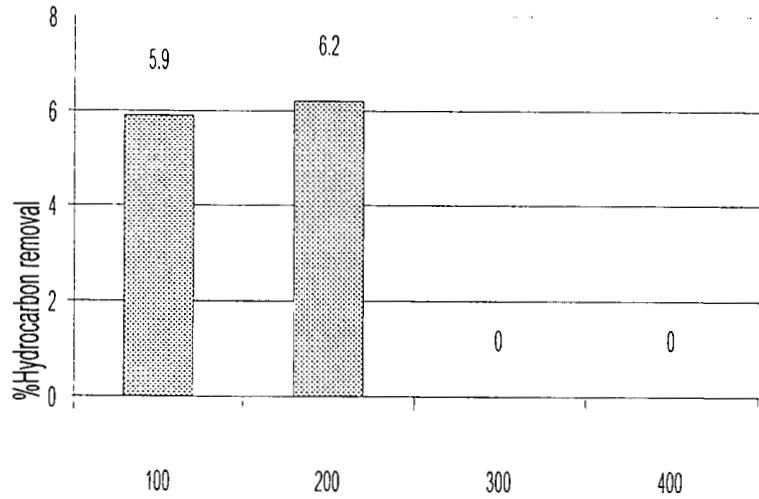


Isolate#2.3



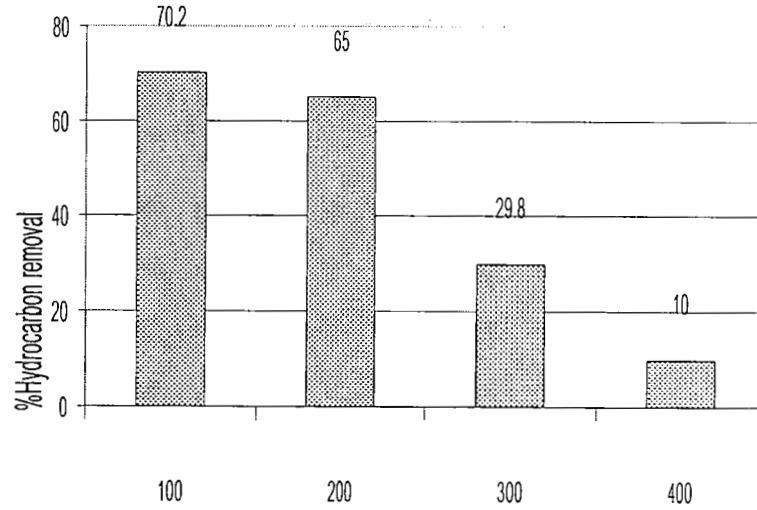
รูปที่ 8 ผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 2.2 และ # 2.3

Isolate#2.5a



Hydrocarbon concentration (ppm)

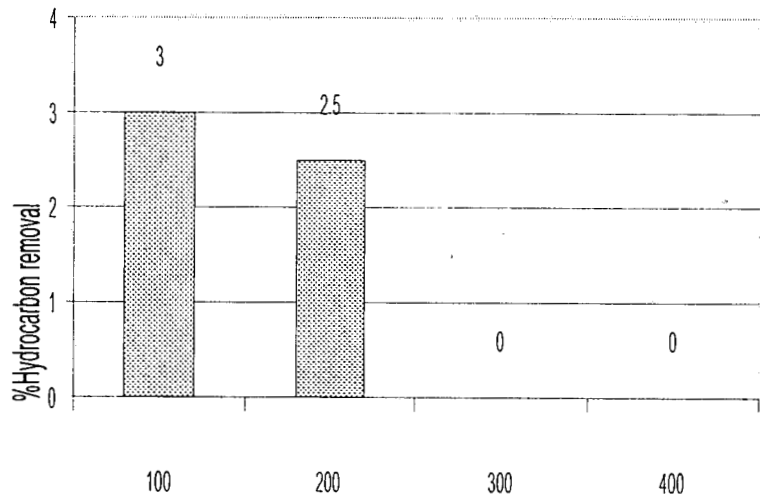
Isolate#2.6



Hydrocarbon concentration (ppm)

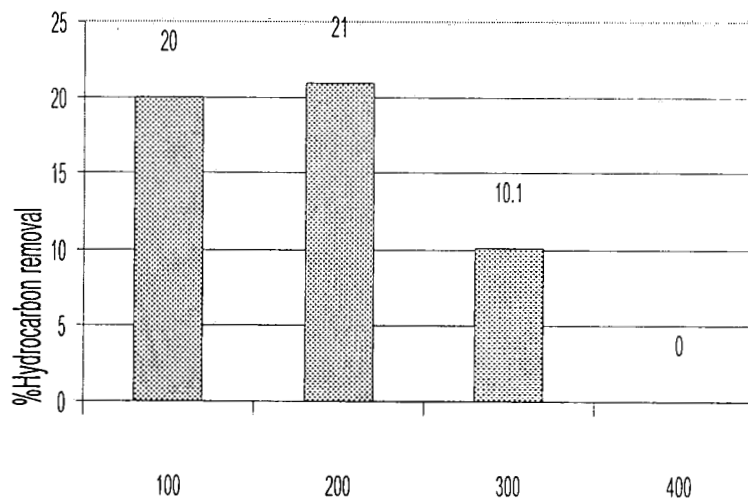
รูปที่ 9 ผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 2.5a และ # 2.6

Isolate#7



Hydrocarbon concentration (ppm)

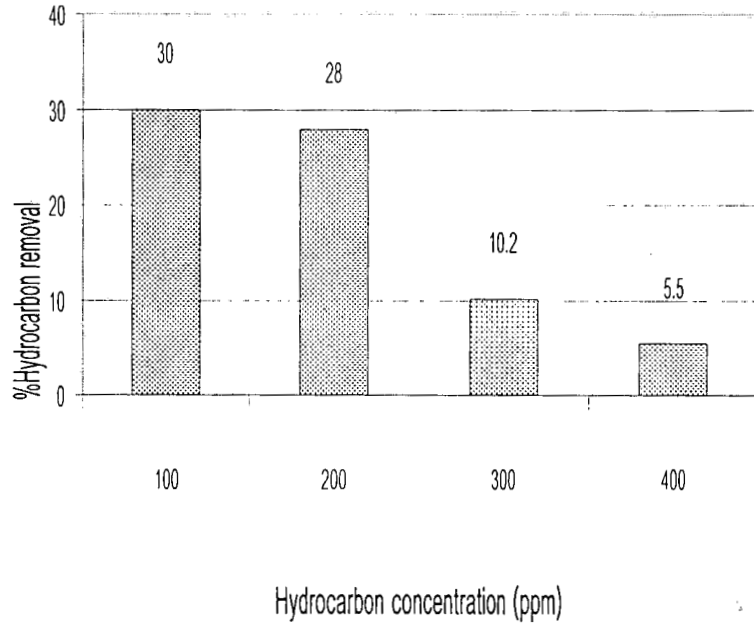
Isolate#8.1a



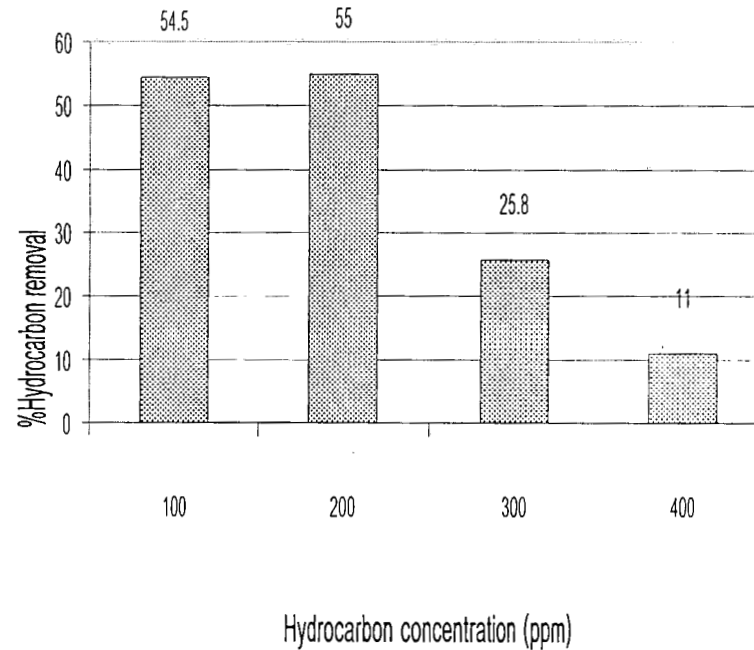
Hydrocarbon concentration (ppm)

รูปที่ 10 ผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 7 และ # 8.1a

Isolate#8.2b



Isolate#9.1



รูปที่ 11 ผลของความเข้มข้นของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่อเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของ Isolate # 8.2b และ # 9.1

วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

จากการทดลองนำตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณชายฝั่ง มาแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน โดยใช้สารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานเพียงแหล่งเดียวพบว่า มีแบคทีเรียเพียง 10 ชนิดที่มีคุณสมบัติตามต้องการ แบคทีเรียที่แยกได้ส่วนใหญ่ (ประมาณ 80%) เป็นแบคทีเรียรูปท่อนสั้น ดิดส์แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ และใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต เมื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียทั้ง 10 ชนิด พบว่า แบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายสูงเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Pseudomonas ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ และมีความสามารถในการย่อยสลายสารต่างๆ ทั้งที่เป็นสารธรรมชาติ และสารที่มนุษย์สร้างขึ้น แบคทีเรียดังกล่าวจึงทำหน้าที่สำคัญในวัฏจักรต่างๆ โดยเฉพาะวัฏจักรคาร์บอน นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ช่วยกำจัดสารที่ทนต่อการย่อยสลายและเป็นพิษที่สะสมในสิ่งแวดล้อมอีกด้วย การแยกแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจากธรรมชาติ แสดงว่า จุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติสามารถย่อยสลาย และกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้ แต่จุลินทรีย์เหล่านี้มีจำนวนน้อย และสามารถย่อยสลายได้ที่ความเข้มข้นไม่เกิน 200 ppm

การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ ชีวภาพ รวมทั้งคุณสมบัติระดับโมเลกุล ของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสารพิษ จะช่วยให้การกำจัดสารพิษเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังใช้เป็นข้อมูลในการจัดการสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ขณะนี้ได้มีการนำจุลินทรีย์ที่แยกได้จากธรรมชาติ มาปรับปรุงประสิทธิภาพ ในห้องทดลอง และใส่กลับไปสู่ธรรมชาติเพื่อเพิ่มความสามารถในการกำจัดของเสียมากขึ้น

ปัจจุบันได้มีการนำวิธีทางชีวภาพมาใช้ในการกำจัดสาพิษต่างๆที่ตกค้างในธรรมชาติ วิธีนี้ให้ประสิทธิภาพสูง ราคาประหยัด และไม่ก่อให้เกิดสารพิษตกค้างหรือสารที่มีความเป็นพิษเพิ่มขึ้น การกำจัดสารพิษโดยวิธีทางชีวภาพจึงน่าจะนำไปสู่การพัฒนาทางสิ่งแวดล้อมที่ยั่งยืนต่อไปในอนาคตด้วย

ภาคผนวก

อาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salt medium ประกอบด้วย

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	80 mg/l
KH_2PO_4	13.49 mg/l
K_2HPO_4	34.84 mg/l
Na_2HPO_4	71.66 mg/l
NaCl	20 g/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250 mg/l
$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	31 mg/l
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	3 mg/l
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	23.40 mg/l

ละลายส่วนประกอบต่างๆในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร นำไป

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ในกรณีอาหารแข็งเติมวุ้นปริมาณ 15 – 17 g

เอกสารอ้างอิง

- Atlas A.M. and Berth R. 1993 *Microbial Ecology; Fundamentals and Applications*. Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc. Redwood, CA.
- Austin B. 1988 *Marine Microbiology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bergey D.H., and Holt R. 1994 *Bergey's Manual of Determination Bacteriology*. Williams & Willeins. Baltimore, MD
- Bertrand J.C., Almallah M., Acquaviva M., and Mille G. 1990 Biodegradation of Hydrocarbons by an Extremely Halophilic Archaeobacterium. Letters in Applied Microbiology. 11: 260 – 263
- DeFrank F. and Cheng T.C. 1991 Purification and Properties of an Organophosphorus Acid Anhydrase from a Halophilic Bacterium. Journal of Bacteriology 173: 1938 - 1943
- McMeekin T.A., Nicholls P.D., Nicholls D.S., Juhasz A., and Franzmann P.D. 1993 Biology and Biotechnological Potential of Halotolerant Bacteria from Antarctic Saline Lakes. Experienta 49: 1042 – 1046
- Osswald P., Courtes R., Bauda P., Block C., and Sunde E. 1995 Xenobiotic Biodegradation Test Using Attached Bacteria in Synthetic Seawater. Ecotoxicology and Environmental Safety 31; 211 - 217
- Shailubhai K. 1986 Treatment of Petroleum Industry Oil Sludge in Soil. Trends in Biotechnology August: 202 – 206
- Van Hamme J.D., Odumern J.A., and Ward O.P. 2000 Community Dynamics of a Mixed Bacterial Culture Growing on Petroleum Hydrocarbons in Batch Culture. Canadian Journal of Microbiology 46: 441 – 450