

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา

เลขที่หนังสือ: ๒๐๑๖/๒๕๕๖

การคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถย่อยสลายปิโตรเลียม

ไฮโดรคาร์บอนจากจังหวัดจันทบุรี

ISOLATION OF BACTERIA FOR PETROLEUM HYDROCARBON DEGRADATION

FROM CHANTHABURI PROVINCE

นายยงยุทธ แก้วบุญกว้าง

YONGYUT KAEWBUNKWANG

1401

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเทคโนโลยีทางทะเล

คณะเทคโนโลยีทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

ปีการศึกษา 2548

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

หัวข้อปัญหาพิเศษ

การคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถย่อยสลายปิโตรเลียม  
ไฮโดรคาร์บอนจากจังหวัดจันทบุรี

ISOLATION OF BACTERIA FOR PETROLEUM HYDROCARBON  
DEGRADATION FROM CHANTHABURI PROVINCE

โดย

นายขงยุทธ แก้วบุญกว้าง

คณะ

เทคโนโลยีทางทะเล

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์สุพรรณิการ์ สมใจเพ็ง

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

อาจารย์ ดร.ชลิ ไพบุลย์กิจกุล

คณะเทคโนโลยีทางทะเล ได้พิจารณาปัญหาพิเศษฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางทะเล ของ  
มหาวิทยาลัยบูรพา

.....คณบดีคณะเทคโนโลยีทางทะเล

(อาจารย์วสันต ฐานะเดมิย์)

คณะกรรมการตรวจสอบปัญหาพิเศษ

.....ผู้ทรงคุณวุฒิ.....ประธาน

(อาจารย์สุพรรณิการ์ สมใจเพ็ง)

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ชลิ ไพบุลย์กิจกุล)

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร.เบญจมาศ ไพบุลย์กิจกุล)

## ประกาศคุณูปการ

ปัญหาพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลือจาก อาจารย์สุพรรณิการ์ สมใจเพ็ง อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่ได้กรุณาชี้แนะแนวทางให้คำปรึกษา ให้ความรู้ เสนอความคิดเห็น แก่ใจชอบพร้อม ให้การสนับสนุนให้ปัญหาพิเศษนี้ผ่านพ้นไปได้ด้วยดี อีกทั้งยังให้กำลังใจแก่ ข้าพเจ้าตลอดมาขณะทำการวิจัย ซึ่งข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ชติ ไพบุลย์กิจกุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่คอยให้คำชี้แนะ คำปรึกษา ให้ความรู้ แก่ใจชอบพร้อม และให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้ามาตลอดเวลาที่ทำการวิจัย ทำให้ ข้าพเจ้าสามารถแก้ไขข้อผิดพลาดต่างๆ ของงานวิจัยได้ และทำงานได้สำเร็จลุล่วง

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์เบ็ญจมาศ ไพบุลย์กิจกุล กรรมการสอบปัญหาพิเศษที่คอย ให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาชี้แนะ และให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้าเสมอมาตลอดเวลาที่ทำการวิจัย ทำให้ ข้าพเจ้าสามารถทำงานวิจัยได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ให้คำปรึกษา และคอยอบรมสั่งสอนให้ความรู้แก่ ข้าพเจ้ามาตลอดการศึกษา

ขอขอบคุณพี่เปิ้ล พี่อ้น พี่ต้น พี่แป๊ะ พี่เชยดี และพี่บุศลากรทุกท่านที่อำนวยความสะดวก ในการใช้สถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ ทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำงานได้อย่างสะดวกราบรื่น และ ขอขอบคุณพี่บรรณารักษ์ห้องสมุดที่อำนวยความสะดวกเรื่องเอกสาร

ขอขอบคุณบริษัท Star Petroleum ที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำมันดิบเพื่อทำงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณนายภาณุมาศ นาครักษ์ ที่คอยให้การช่วยเหลือในการทำงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณ นาย รังสิทธิ์ สายวรรณ และนางสาว อังชัน เกิดแพ ที่คอยให้กำลังใจข้าพเจ้า ขอขอบคุณเพื่อนทุกคนที่ ให้ความช่วยเหลือในการทำงาน และถามไถ่ความคืบหน้า และขอบคุณน้องมนต์ เต็ง น้อง จี๊บ เคย และน้องๆ ทุกคน ที่ช่วยเหลือและให้กำลังใจในการทำงาน

สุดท้ายขอขอบพระคุณคุณแม่ผู้ให้กำเนิดอย่างสุดซึ้ง ที่คอยให้กำลังใจ คอยสนับสนุนให้ การศึกษา และสนับสนุนกำลังทรัพย์ ทำให้ข้าพเจ้ามีชีวิตสามารถศึกษาเล่าเรียนจนได้ทำปัญหา พิเศษนี้สำเร็จลุล่วง

ยงยุทธ แก้วบุญกว้าง

2 มิถุนายน 2549

45330864: สาขาวิชา: เทคโนโลยีทางทะเล; วท.บ.(เทคโนโลยีทางทะเล)

คำสำคัญ: แบคทีเรีย/ การคัดแยก/ ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

ยงยุทธ แก้วบุญกว้าง: การคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน จากจังหวัดจันทบุรี (ISOLATION OF BACTERIA FOR PETROLEUM HYDROCARBON DEGRADATION FROM CHANTHABURI PROVINCE) อาจารย์ผู้ควบคุมปัญหาพิเศษ: สุพรรณิการ์ สมใจเพ็ง, วท.ม., อาจารย์ผู้ควบคุมปัญหาพิเศษร่วม: ชลธิ์ ไพบุลย์กิจกุล, วท.ค. 81 หน้า. ปี พ.ศ. 2549

จุดประสงค์ในการศึกษาเพื่อคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งพลังงานในดินที่มีการปนเปื้อนบริเวณจังหวัดจันทบุรี ในการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในดินชั้นต้นจากบริเวณท่าเรืออ่าวคุ้งกระเบน และท่าเรือปากแม่น้ำแฉมหนู ได้เชื้อที่คาดว่าจะสามารถใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งพลังงานได้ 21 และ 9 ชนิด ตามลำดับ จากนั้นทำการศึกษาเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด จากที่ทำการแยกได้โดยพิจารณาจากลักษณะโคโลนีของเชื้อ ได้แก่ KB08, KB11 และ KN09 ซึ่งเชื้อทั้งสามมีค่าการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.6306, 0.6716 และ 0.2312 ตามลำดับ สิ้นสุดระยะ log phase ที่ประมาณชั่วโมงที่ 4, 4 และ 8 ชั่วโมงตามลำดับ และมีปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ  $4.50 \times 10^8$ ,  $5.16 \times 10^8$  และ  $1.15 \times 10^9$  CFU/ml ตามลำดับ โดย KB08 และ KB11 เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อนยาว โคโลนีเป็นวงกลม มีการยักตัวแบบมีจุดยอด และขอบไม่เรียบ แต่ KB08 มีโคโลนีสีขาว ส่วน KB11 มีโคโลนีสีเหลือง ส่วนเชื้อ KN09 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อนสั้น โคโลนีมีสีขาวมันเงาทรงกลม และมีการยักตัวแบบโค้งนูนจากผิวอาหาร ขอบเรียบ

45330864: MAJOR : MARINE TECHNOLOGY ; B.Sc. (MARINE TECHNOLOGY)

KEYWORD: BACTERIA/ ISOLATION/ PETROLEUM HYDROCARBON

YONGYUT KAEWBUNKWANG: ISOLATION OF MICROORGANISMS FOR  
PETROLEUM HYDROCARBON DEGRADATION FROM CHANTHABURI PROVINCE.

SPECIAL PROBLEM ADVISOR: SUPUNNIKA SOMJAIPENG, M.Sc., SPECIAL

PROBLEM CO-ADVISOR: CHALEE PAIBULKICHAKUL, Ph.D. 81 P. 2006

The objective of this study was to screen natural bacteria in contaminated soil by petroleum hydrocarbon at Chanthaburi Province. The primary screenings of the bacteria at Kungkraban and Kamnoo estuary ports found 21 and 9 isolation, respectively. Then, 3 isolations KB08, KB11 and KN09 were selected to study the physiological character and cell morphology considered by colony character. Specific growth rates of KB08, KB11 and KN09 were 0.6306, 0.6716 and 0.2312, respectively. Log phase of KB08, KB11 and KN09 were 4, 4 and 8 hr, respectively. Maximum cell number of KB08, KB11 and KN09 were  $4.50 \times 10^8$ ,  $5.16 \times 10^8$  and  $1.15 \times 10^9$  CFU/ml, respectively. Cell morphology of KB08 and KB11 was positive gram, long rod shape. Colony morphology of KB08 and KB11 was circular, umbonate and undulate. KB08 colony had white color but KB11 had yellow color. Morphology of KN09 was negative gram, short rod shape cell and circular, convex and entire colony.

## สารบัญ

	หน้า
ประกาศคุณูปการ.....	ข
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
สารบัญ.....	จ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฅ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
ขอบเขตของการวิจัย.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
มลพิษ.....	5
แหล่งกำเนิดมลพิษจากน้ำมัน.....	5
ปิโตรเลียม.....	26
การวิเคราะห์ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน.....	37
วิธีการกำจัดคราบน้ำมัน.....	43
วิธีบำบัดทางชีวภาพ.....	46
เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	49
3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	52
อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	52
วิธีการวิจัย.....	53
การเก็บตัวอย่าง.....	53
การเพิ่มความทนทาน (Tolerant).....	53
การเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ (Enrichment).....	53

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
การแยกเชื้อบริสุทธิ์ (Purified).....	53
การถ่ายภาพโคโลนี.....	53
การย้อมสีแกรม (Gram's stain).....	54
การวัดอัตราการเจริญเติบโต.....	54
4 ผลและการวิจารณ์ผลการวิจัย.....	55
การคัดแยกจุลินทรีย์ที่คาดว่าสามารถย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้.....	55
การถ่ายภาพโคโลนี.....	57
การย้อมสีแกรม (gram's stain).....	58
การวัดอัตราการเจริญเติบโต.....	60
5 สรุปผลการวิจัย.....	64
สรุป.....	64
ข้อเสนอแนะ.....	65
บรรณานุกรม.....	66
ภาคผนวก.....	69
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อและสารที่ใช้ในการวิจัย.....	70
ภาคผนวก ข ตารางอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด.....	73
ภาคผนวก ค ลักษณะโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด.....	75
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	81

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณน้ำจากกระบวนการผลิตปีโตรเลียมปี 2543 (หน่วย บาร์เรลต่อวัน).....	8
2	การขนส่งน้ำมันทางน้ำ.....	10
3	สถิติการเกิดน้ำมันรั่วไหล ตั้งแต่ปี 2516 จนถึงปี 2545.....	10
4	สถิติการเกิดน้ำมันรั่วไหลสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ตั้งแต่ปี 2516 ถึง 2546.....	14
5	แสดงปริมาณปีโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ลงสู่ทะเลและมหาสมุทร (ล้านเมตริกตันต่อปี).....	25
6	การจำแนกลักษณะพื้นฐานของปีโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน.....	27
7	ธาตุที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันดิบ.....	28
8	วิธีการวิเคราะห์ปีโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในแหล่งน้ำ.....	39
9	ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณปีโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนใน แหล่งน้ำ.....	40
10	ลักษณะโคโลนีของเชื้อซึ่งคัดแยกได้จากบริเวณท่าเรืออ่าวคังกระเบนทั้งหมด 21 ชนิด.....	56
11	ลักษณะโคโลนีของเชื้อซึ่งคัดแยกได้จากบริเวณท่าเรือปากแม่น้ำแฉมหนูทั้งหมด 9 ชนิด.....	57
12	อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด (CFU/ml).....	74



## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แท่นขุดเจาะน้ำมันกลางทะเล.....	6
2	พื้นที่สัมปทานปิโตรเลียมในอ่าวไทย.....	7
3	ดัชนีความอ่อนไหวของทรัพยากรชายฝั่งต่อมลพิษจากน้ำมันบริเวณ อ่าวศรีราชา.....	9
4	เรือบรรทุกน้ำมันขนาดใหญ่.....	11
5	อุบัติเหตุน้ำมันรั่วไหลจากเรือบรรทุกน้ำมันขนาดใหญ่.....	12
6	เรือ Eastern Fortitude ที่เกิดอุบัติเหตุเมื่อวันที่ 15 มกราคม 2545.....	13
7	เรือ SKY ACE ที่ถูกชนและท่อกักคราบน้ำมันที่ล้อมรอบตัวเรือ.....	13
8	สัดส่วนของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจากแหล่งต่างๆที่ลงสู่ทะเล.....	24
9	กลไกการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนโดยจุลชีพ.....	32
10	ตัวอย่างสัตว์ที่ได้รับผลกระทบจากน้ำมันที่รั่วไหลสู่แหล่งน้ำ.....	34
11	การกำจัดน้ำมันที่รั่วไหลสู่แหล่งน้ำด้วยวิธีการเผา.....	45
12	วิธีการย่อยสลายอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน.....	48
13	วิธีการย่อยสลายอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน.....	48
14	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรหัสด KB08 ซึ่งมีสีขาวยาบที่บึงแสง รูปร่างเป็นวงกลม (circular) การยกตัวเป็นแบบมีจุกยอด (umbonate) และขอบไม่เรียบ (undulate).....	58
15	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรหัสด KB11 ซึ่งมีสีเหลืองขาวยาบที่บึงแสง รูปร่างเป็น วงกลม (circular) การยกตัวเป็นแบบมีจุกยอด (umbonate) และขอบไม่เรียบ (undulate).....	58
16	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรหัสด KN09 ซึ่งมีสีขาวยับเงา รูปร่างเป็นวงกลม (circular) การยกตัวเป็นแบบโค้งนูนจากผิวอาหาร (convex) และขอบเรียบ (entire).....	58
17	ลักษณะเซลล์รูปท่อนยาว และติดสีแกรมบวกของเชื้อรหัสด KB08 (กำลังขยาย 1000x).....	59

### สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	ลักษณะเซลล์รูปท่อนยาว และติดสีแกรมบวกของเชื้อรหัสด KB11 (กำลังขยาย 1000x).....	59
19	ลักษณะเซลล์รูปท่อนสั้น และติดสีแกรมลบของเชื้อรหัสด KN09 (กำลังขยาย 1000x).....	60
20	อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของเชื้อรหัสด KB08.....	62
21	อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของเชื้อรหัสด KB11.....	62
22	อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของเชื้อรหัสด KN09.....	63
23	โคโลนีเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งคัดแยกได้จากบริเวณท่าเรือคู้งกระเบนทั้งหมด 21 ชนิด...	76
24	โคโลนีเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งคัดแยกได้จากบริเวณท่าเรือปากแม่น้ำแฉมหนูทั้งหมด 9 ชนิด.....	79

มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ระบบนิเวศต่างๆ มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตและมนุษย์เป็นอย่างมาก มนุษย์ได้ใช้ประโยชน์จากระบบนิเวศต่างๆ ทั้งในด้านที่อยู่อาศัย แหล่งอาหาร แหล่งกำจัดของเสีย ตลอดจนศูนย์กลางการคมนาคมต่างๆ และอื่นๆอีกมากมาย (สมถวิล จริตควร, 2540) โดยระบบนิเวศหนึ่งในโลกที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์คือระบบนิเวศทางทะเล เนื่องจากเป็นทั้งแหล่งอาหาร เส้นทางการคมนาคม และมีการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรทางทะเลอื่นๆ อีกหลากหลาย ทำให้มนุษย์มีการถูกล่าเข้าใช้ประโยชน์จากท้องทะเลมากขึ้น เป็นผลให้ในปัจจุบันเกิดการนำสิ่งต่างๆ ทั้งสารหรือพลังงานลงสู่สิ่งแวดล้อมในทะเลทั้งที่จงใจและไม่จงใจ เกิดเป็นมลพิษทางทะเล

มลพิษทางทะเลหมายถึงการที่มนุษย์นำเอาสารหรือพลังงานลงสู่สิ่งแวดล้อมในทะเลไม่ว่าจะเป็นในทางตรงหรือทางอ้อม เมื่อการกระทำนั้นก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งมีชีวิตหรือเป็นอันตรายต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์ ขัดขวางการทำกิจกรรมในทะเล เช่น การประมง การเดินเรือ หรือการทำให้คุณภาพสิ่งแวดล้อมในทะเลเสื่อมลง (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต, 2543) ก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งมีชีวิตในทะเลและส่งผลกระทบต่อมาจนถึงมนุษย์ในที่สุด สาเหตุหนึ่งของการเกิดมลพิษทางทะเลที่ส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศและสิ่งแวดล้อมทางทะเล คือ มลพิษจากน้ำมัน (oil pollution)

น้ำมันดิบหรือปิโตรเลียมเป็นส่วนผสมของสารประกอบทางเคมีหลายชนิดซึ่งส่วนใหญ่เป็นพวกไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) (สมถวิล จริตควร, 2540) อาจเรียกได้อีกอย่างว่าปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (petroleum hydrocarbon) น้ำมันดิบหรือปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงตามธรรมชาติต่อเนื่องนานับหลายร้อยล้านปีของสารอินทรีย์ที่สะสมอยู่ในชั้นของดินตะกอนใต้พื้นดิน ใต้ทะเล และมหาสมุทร (อรวรรณ วัฒน, 2542) สามารถนำน้ำมันดิบมาทำการกลั่นเป็นน้ำมันเชื้อเพลิง เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น วัตถุดิบการทำพลาสติก โยสังเคราะห์ ยาง ปูน และผลิตภัณฑ์อื่นๆ เป็นต้น (สมถวิล จริตควร, 2540) สิ่งเหล่านี้ทำให้เกิดประโยชน์อย่างมาก แต่จากการเผาผลาญน้ำมันเชื้อเพลิงเพื่อให้ได้พลังงานนั้นยังมีสิ่งอื่นเกิดขึ้นด้วย เช่น ความร้อน ก๊าซ สารชนิดต่างๆ ที่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมสุขภาพของมนุษย์เอง เนื่องจากปริมาณการสะสมของสิ่งเหล่านี้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วไม่สามารถถูกขจัดออกไปได้หรือสามารถขจัดออกไปได้ช้าทำให้เสียสมดุลธรรมชาติ (ปัญจพล ชินาคม, 2543) ทำให้ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนถูกจัดว่าเป็นสารมลพิษ สารปิโตรเลียมส่วนใหญ่สามารถถูกย่อย

สลายได้ด้วยกระบวนการทางชีววิทยาแต่เป็นไปในอัตราที่ช้ามาก ก่อให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตต่างๆ ที่อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ และแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมอื่นๆ โดยกระแสลม กระแสน้ำ การชะล้างจากดินสู่แหล่งน้ำ มหาสมุทร รวมถึงน้ำใต้ดิน

ประเทศไทยเป็นประเทศที่กำลังพัฒนา การปรับปรุงระบบเศรษฐกิจของประเทศในการพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมจึงเป็นไปอย่างรวดเร็ว ทำให้มีการใช้น้ำมันเป็นแหล่งเชื้อเพลิง โดยมีอัตราการใช้ที่เพิ่มสูงมากขึ้นอย่างรวดเร็ว และในปี พ.ศ.2531 พบว่ามีการใช้น้ำมันเป็นแหล่งพลังงานมากถึงร้อยละ 60 ของพลังงานทั้งหมด (จรรยา บุญยุบล และคณะ, 2529 อ้าง โดย เกศินี สรรวานิช, 2534) ทำให้เกิดปัญหาสำคัญประการหนึ่งคือ ปัญหาการปนเปื้อนของน้ำมันในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในแหล่งน้ำต่างๆ การที่ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเกิดการแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมนั้น เป็นการก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ เป็นอย่างมาก ซึ่งในปัจจุบันมนุษย์ได้มีกิจกรรมทางน้ำมากขึ้น โดยมีการนำเครื่องจักรต่างๆ เข้ามาอำนวยความสะดวกเครื่องจักรที่มนุษย์นำมาใช้นั้นมีหลายชนิดและมีจำนวนมากที่ใช้น้ำมันเป็นแหล่งกำเนิดพลังงาน เป็นผลให้มีการรั่วไหลของน้ำมันออกสู่สิ่งแวดล้อมในปริมาณมหาศาลทั้งจากความตั้งใจและไม่ตั้งใจของผู้ประกอบกิจกรรม อีกทั้งยังมีสาเหตุของการแพร่กระจายของน้ำมันปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำอีกมากมายจากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น การทิ้งน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำโดยตรง หรือมีน้ำมันปนเปื้อนในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ รวมทั้งน้ำทิ้งจากบ้านเรือนชุมชน ทั้งหมดนี้ ก่อให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนและตกค้างของคราบน้ำมันในสิ่งแวดล้อม ส่งผลเสียต่อระบบนิเวศมากมาย (เกศินี สรรวานิช, 2534)

ตามปกติแล้วปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจะถูกนำออกจากสิ่งแวดล้อมเองตามธรรมชาติ ด้วยกระบวนการต่างๆ เช่น ในทางกายภาพจะเกิดการย่อยสลายอย่างช้าๆ ส่วนวิธีการย่อยสลายทางชีวภาพตามธรรมชาตินั้นเกิดจากสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่เรียกว่า “จุลินทรีย์” วิธีเหล่านี้ทำให้ปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติลดลงได้บางส่วน แต่เป็นไปอย่างเชื่องช้าทำให้เสียสมดุลของธรรมชาติ (ปัญญาพล ชีโนดม, 2543) แต่วิธีทางชีวภาพวิธีหนึ่งที่สามารถช่วยให้อัตราการย่อยสลายมีค่าเพิ่มมากขึ้น ได้นั้นคือการเติมจุลินทรีย์ชนิดที่มีคุณสมบัติเหมาะสมเข้าไปในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ พร้อมทั้งปรับสภาพของสิ่งแวดล้อมให้เหมาะสมกับการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ เรียกกระบวนการนี้ว่า “การบำบัดด้วยวิธีการทางชีวภาพ (bioremediation)” (Atlas, 1995 ; Kordar et al., 1997 อ้าง โดย ปัญญาพล ชีโนดม, 2543) วิธีนี้ทำให้สิ่งแวดล้อมกลับคืนสู่สภาวะเดิมได้เร็วกว่าการปรับตัวตามธรรมชาติอย่างเดียว นอกจากนี้ยังมีข้อดีอีกคือไม่ทำให้มีความเป็นพิษสูงขึ้นและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม (Kordar et al., 1997 อ้าง โดย ปัญญาพล ชีโนดม, 2543)

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ประกอบด้วยเซลล์เดียว (unicellular) หรือหลายเซลล์ (multicellular) แต่ทั้งเซลล์เหล่านั้นต่างก็เป็นเซลล์ชนิดเดียวกันและมีรูปร่างเหมือนกัน ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพื่อทำหน้าที่เฉพาะเหมือนในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง จุลินทรีย์มีขนาดเล็กมากไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูงส่องดูจึงจะมองเห็น มีรูปร่างหลายแบบ การสืบพันธุ์มีทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ สามารถพบได้ทั่วไปทั้งในน้ำ ดิน และอากาศ มีทั้งชนิดที่ให้ประโยชน์และชนิดที่ให้โทษ (ควงพร คันธโชติ, 2545) จุลินทรีย์มีอยู่ในธรรมชาติจำนวนมากและมีหลายสายพันธุ์ด้วยกัน ซึ่งในแต่ละสายพันธุ์ก็มีคุณสมบัติเฉพาะต่างๆ แตกต่างกันไปด้วย บางชนิดบางสายพันธุ์มีความสามารถในการอาศัยอยู่ในที่ๆ มีการปนเปื้อนของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน โดยบางชนิดมีคุณสมบัติในการย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเหล่านั้นได้ ด้วยเหตุนี้หากมนุษย์สามารถนำคุณสมบัติการย่อยสลายคราบน้ำมันของจุลินทรีย์ต่างๆ เหล่านั้นมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างเป็นระบบได้จะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการช่วยลดหรือแก้ไขปัญหาคราบน้ำมันที่ตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมต่างๆ อีกทั้งยังอาจนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ในด้านการบำบัดของเสียซึ่งจำเป็นต้องปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม เป็นการช่วยลดมลพิษในสิ่งแวดล้อมให้น้อยลงได้

การศึกษาค้นคว้าวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจากสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ เพื่อเป็นพื้นฐานในการนำไปพัฒนาหรือประยุกต์ใช้สำหรับลดปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเป็นวิธีการทางชีวภาพตามธรรมชาติและไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมต่อไป

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

คัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้จากแหล่งปนเปื้อนสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในธรรมชาติ และศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อที่คัดแยก

### สมมติฐานของการวิจัย

ในบริเวณที่มีการรั่วไหลและตกค้างของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนย่อมมีจุลินทรีย์บางชนิดอาศัยอยู่ได้ โดยจะมีจุลินทรีย์บางชนิดเป็นชนิดเด่นที่มีความสามารถในการย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้อย่างมีประสิทธิภาพเจริญอยู่ด้วย

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนอย่างมีประสิทธิภาพได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาใช้ในการย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนซึ่งอาจส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติ โดยไม่เกิดผลกระทบต่อระบบนิเวศหรือสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติต่อไป

## ขอบเขตของการศึกษา

1. เก็บตัวอย่างจากบริเวณที่คาดว่าจะพบเชื้อที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน
2. การเพิ่มความทนทาน (tolerant) นำตัวอย่างที่เก็บมาจากบริเวณที่คาดว่าปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนปนเปื้อนอยู่มาทำการเพิ่มความทนทานต่อปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนให้กับเชื้อจุลินทรีย์
3. การเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ (enrichment) นำตัวอย่างที่ได้มาทำการเพิ่มจำนวนในอาหารเหลวในห้องปฏิบัติการ
4. แยกเชื้อจุลินทรีย์ออกจากตัวอย่างให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ (pure cultures)
5. บันทึกภาพลักษณะโคโลนีของเชื้อที่สามารถคัดแยกได้ด้วยกล้องถ่ายภาพ
6. ย้อมสีแกรมและสังเกตลักษณะเซลล์ของเชื้อแต่ละชนิดที่สามารถคัดแยกได้
7. วัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อบริสุทธิ์ที่สามารถคัดแยกได้โดยใช้เทคนิค viable plate count

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 1. มลพิษ

ความหมายของมลพิษตามพจนานุกรม หมายถึง สิ่งไม่บริสุทธิ์ซึ่งเป็นอันตรายร้ายแรงต่อร่างกาย (มล = ความมัวหมองไม่บริสุทธิ์, พิษ = สิ่งร้ายแรงเป็นอันตรายต่อร่างกาย) (สมบัติ จำปาเงิน และคณะ, 2537) มีผู้ให้คำจำกัดความมลพิษของน้ำไว้หลายท่าน เช่น ในปี ค.ศ.1952 Coulson และ Forbes นักวิทยาศาสตร์ชาวอเมริกันได้ให้ความหมายไว้ว่า “มลพิษของน้ำคือ น้ำที่มีสภาพผิดไปจากธรรมชาติโดยมีการเติมบางสิ่งบางอย่างลงไป ทำให้สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่บริเวณนั้น ไม่สามารถรับน้ำตามธรรมชาติที่ควรได้รับ” และในปี ค.ศ.1957 Gorlinski ได้แยกความหมายของคำว่าเปรอะเปื้อน (contamination) ออกจากมลพิษ (pollution) โดยกล่าวว่า “การเปรอะเปื้อนควรใช้กับน้ำเสียที่เป็นภัยด้านสาธารณสุข ส่วนมลพิษควรใช้กับน้ำเสียที่ไม่เป็นภัยทางสาธารณสุข แต่เป็นภัยต่อการใช้ประโยชน์ทางน้ำอื่นๆ เช่น การประมง การเกษตร และการอุตสาหกรรม” ต่อมา นักวิทยาศาสตร์ส่วนมากที่ศึกษาในแขนงของปัญหามลพิษทางน้ำ ได้มีความเห็นร่วมกันว่า “มลพิษของน้ำคือการที่น้ำซึ่งอยู่ในสภาพที่คนใช้ได้ สัตว์น้ำอาศัยอยู่ได้ตลอดวงจรชีวิต มีสภาพที่เลวลงเนื่องจากมีสิ่งแปลกปลอมถูกเติมลงไป (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต, 2543) ปัจจุบันสังคมมีการตื่นตัวและตระหนักถึงปัญหาเหล่านี้ว่า ได้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและการดำรงชีวิตของมนุษย์ทั้งในทางตรงและทางอ้อม

#### 2. แหล่งกำเนิดมลพิษจากน้ำมัน

ปัญหาสำคัญประการหนึ่งในเรื่องมลพิษของน้ำคือ มลพิษจากน้ำมัน น้ำมันเป็นสิ่งที่มนุษย์ค้นพบและนำมาพัฒนาเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานอีกแหล่งหนึ่ง การพัฒนาอย่างรวดเร็วของประเทศทำให้เกิดความต้องการในการใช้พลังงานเพิ่มมากขึ้น เป็นผลให้มีแนวโน้มการใช้พลังงานเพิ่มขึ้นอย่างมาก (ปัญจพล ชิโนคม, 2543) โดยเฉพาะในช่วงของแผนพัฒนาระยะที่ 3 และ 4 เป็นต้นมา ปริมาณการใช้น้ำมันเป็นแหล่งพลังงานมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุกปี จากการสำรวจปริมาณการใช้น้ำมันในประเทศในปี 2531 โดยสำนักงานพลังงานแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี และพลังงาน พบว่าเพิ่มขึ้นจากปี 2530 ในอัตราที่สูงถึงร้อยละ 14.4 คือปริมาณการใช้เพิ่มจาก 245,930 บาร์เรลต่อวันในปี 2530 เป็น 281,322 บาร์เรลต่อวันในปี 2531 ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าบทบาทของการใช้น้ำมันเป็นแหล่งพลังงานคิดเป็นร้อยละ 60 ของแหล่งพลังงานทั้งหมด (จรวาย บุญยกุล

และคณะ, 2529 อ้างโดย เกศินี สรรวานิช, 2534) นอกจากจะใช้เป็นแหล่งพลังงานแล้ว น้ำมันดิบ หรือที่เรียกว่าปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนนั้นยังสามารถนำมาผ่านกระบวนการแปรรูปให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อีกมากมาย เช่นวัตถุดิบในการผลิตพลาสติก โยสังเคราะห์ ยาง ปุ๋ย เป็นต้น (สมถวิล จริตควาร, 2540)

การผลิตปิโตรเลียมมีกระจายอยู่ทั่วไปในอ่าวไทย (ภาพที่ 1 และ 2) ซึ่งกิจกรรมนี้อาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งการระบายของเสียลงสู่ทะเล ได้แก่ น้ำจากกระบวนการผลิต (produced water) (ตารางที่ 1) กากของเสีย (solid waste) และของเสียที่อยู่ในรูปก๊าซ (gaseous waste) ซึ่งของเสียที่เกิดขึ้นจะมี โปรท สารหนู ไฮโดรคาร์บอน ไฮโดรเจนซัลไฟด์ และสารประกอบเกลือในน้ำจากขบวนการผลิตปนเปื้อน จากการศึกษาพบว่าจะมีการระบายน้ำทิ้งประมาณ 90,000 ลูกบาศก์เมตรต่อวันลงสู่ทะเล อีกทั้งแท่นขุดเจาะบางแห่งจะปล่อยสารปรอทออกมาด้วยน้ำทิ้งประมาณ 270 – 550 กรัมปรอทต่อวันอีกด้วย (ส่วนแหล่งน้ำทะเล สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ, 2546)



ภาพ 1-1



ภาพ 1-2



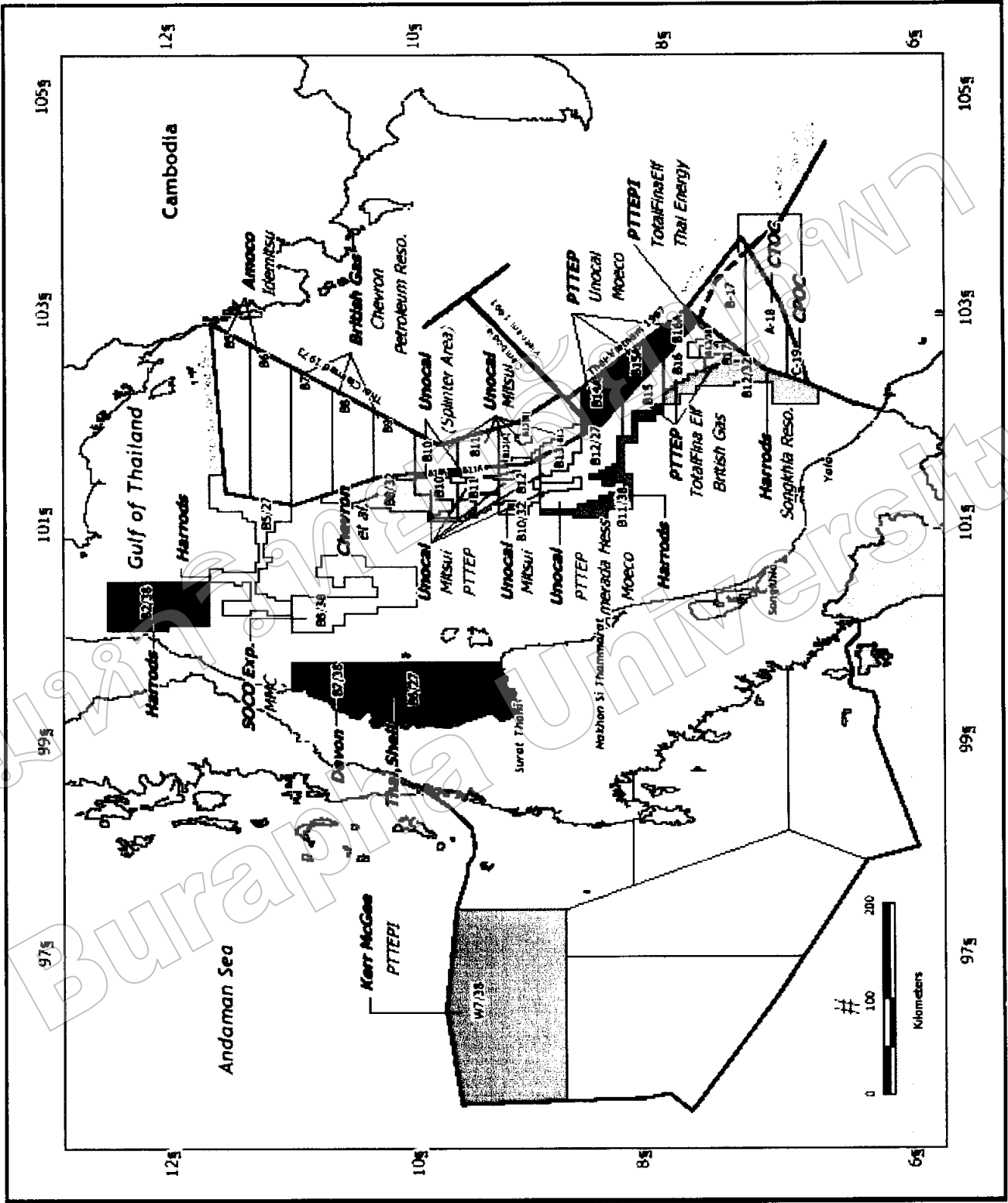
ภาพ 1-3

ภาพที่ 1 แท่นขุดเจาะน้ำมันกลางทะเล

ที่มา : ภาพ 1-1, 1-2 : [http://www.iscomcomposite.bizhosting.com/DOPT\\_A1.html](http://www.iscomcomposite.bizhosting.com/DOPT_A1.html)

ภาพ 1-3 : <http://www.dansk-teknologi.dk/proj1253.html>





ภาพที่ 2 พื้นที่สัมปทานปิโตรเลียมในอ่าวไทย ที่มา : กรมทรัพยากรธรณี (2544)

ตารางที่ 1 ปริมาณน้ำจากกระบวนการผลิตปิโตรเลียมปี 2543 (หน่วย บาร์เรลต่อวัน)

แท่น	ปริมาณน้ำ (Produced Water)
เอราวัณ	17,881*
บรรพต	311
จักรวาล	2,910
สตูลใต้	2,648
สตูล	11,254
ตราด	2,204
ปลาแดง	3,394
ปลาทอง	3,810
กะพง	1,930
สุราษฎร์	3
ปลาหมึก	19
พูนาน	12,588
จักรวาล	1,864
โกมินทร์	2,089
ไพลิน	4,259
บงกช	13,865*
ทานตะวัน	5,650
เบญจมาศ	1,409
<b>รวม</b>	<b>56,342</b>

\* แท่นผลิตที่มีการอัดน้ำจากกระบวนการผลิตกลับลงหลุม (Reinjection)

ที่มา : กรมทรัพยากรธรณี (2544)



ภาพที่ 3 ดัชนีความอ่อนไหวของทรัพยากรชายฝั่งต่อมลพิษจากน้ำมันบริเวณอ่าวศรีราชา

ที่มา : ส่วนแหล่งน้ำทะเล กรมควบคุมมลพิษ (2545)

การขนส่งน้ำมันส่วนใหญ่จะถูกขนส่งทางน้ำโดยเรือบรรทุกน้ำมันขนาดใหญ่ (ภาพที่ 4) จากประเทศที่เป็นเจ้าของบ่อน้ำมันไปสู่ประเทศที่นำเข้าน้ำมัน ราคาน้ำมันซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเป็นเครื่องชี้ให้เห็นว่าในทุกประเทศมีความต้องการน้ำมันเพิ่มสูงขึ้นดังแสดงในตารางที่ 2 ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณน้ำมันที่ต้องทำการขนส่งเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย ผลกระทบของน้ำมันต่อสิ่งแวดล้อมส่วนใหญ่มักเกิดขึ้นจากการขนส่งน้ำมันทางน้ำ โดยเฉพาะในบริเวณอ่าวไทยตอนบนได้มีอุบัติเหตุเรือน้ำมันชนกันหลายครั้ง (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต, 2543)

ตารางที่ 2 การขนส่งน้ำมันทางน้ำ

ปี พ.ศ.	น้ำมันดิบ (ล้านตัน)	น้ำมันสำเร็จรูป (ล้านตัน)	รวม
2497	150	100	250
2503	300	150	450
2508	570	180	750
2513	1000	230	1230
2517	1400	270	1670

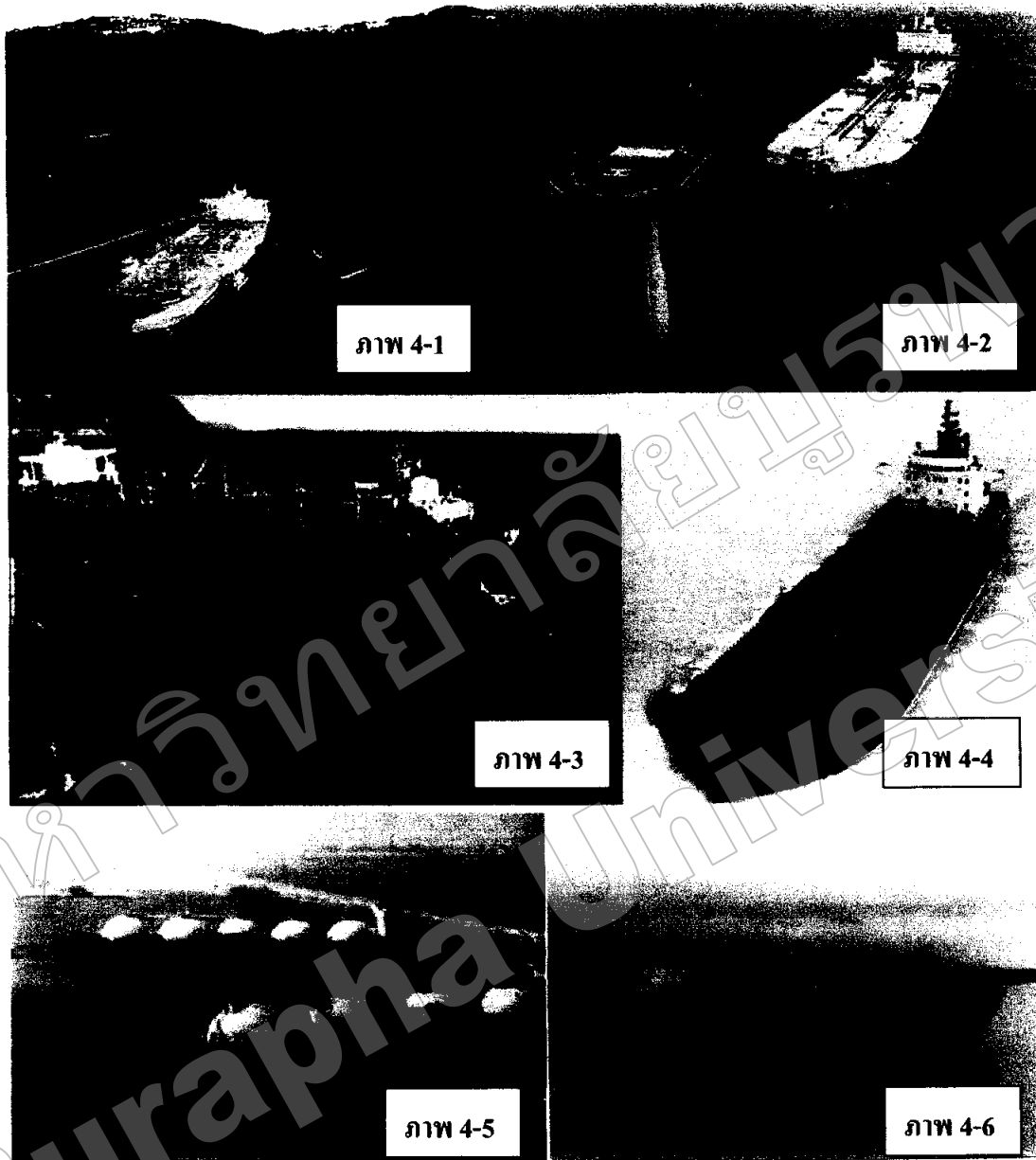
ที่มา : ส่วนแหล่งน้ำทะเล กรมควบคุมมลพิษ (2545)

อุบัติเหตุน้ำมันรั่วไหลเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพสิ่งแวดล้อม โดยในรอบ 10 ปีที่ผ่านมา มีอุบัติเหตุ น้ำมันรั่วไหลในทะเลถึง 40 ครั้ง โดยเป็นการรั่วไหลครั้งใหญ่ๆ 4 ครั้ง ส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากการลอบทิ้งน้ำมันจากเรือ และจากการรั่วไหลในขณะที่ทำการขนถ่ายน้ำมัน อีกทั้งยังมีสาเหตุมาจากรือชนกันและอัปปางลง (ภาพที่ 5) ทำให้มีน้ำมันรั่วไหลและมีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำในบริเวณนั้น ส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำ การทำการประมง การเลี้ยงปลาในกระชัง และทำให้ทัศนียภาพไม่น่ามอง (ส่วนแหล่งน้ำทะเล สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ, 2546)

ตารางที่ 3 สถิติการเกิดน้ำมันรั่วไหล ตั้งแต่ปี 2516 จนถึงปี 2545

ปี	จำนวนครั้งที่เกิดเหตุการณ์
2516 – 2530	11
2530 – 2540	33
2541	5
2542	19
2543	10
2544	8
2545	2

ที่มา : ส่วนแหล่งน้ำทะเล กรมควบคุมมลพิษ (2545)



ภาพที่ 4 เรือบรรทุกน้ำมันขนาดใหญ่

ที่มา :

ภาพ 4-1 : [http://earthhopenetwork.net/oil\\_spill\\_exxon\\_valdez.jpg](http://earthhopenetwork.net/oil_spill_exxon_valdez.jpg)

ภาพ 4-2 : [http://www.uyseg.org/industryanimated/photoindex/oil\\_tanker.htm](http://www.uyseg.org/industryanimated/photoindex/oil_tanker.htm)

ภาพ 4-3 : <http://encyclopedia.laborlawtalk.com/wiki/images/2/2b/ExxonValdez.jpeg>

ภาพ 4-4 : [http://www.kokonet.sc/info/scypride/media/scypride\\_intro.jpg](http://www.kokonet.sc/info/scypride/media/scypride_intro.jpg)

ภาพ 4-5 : <http://www.dailystar.com.lb/article.asp>

ภาพ 4-6 : <http://www.boatnerd.com/news/newpictures03b/doan-transport-app.-sun-oil.jpg>



ภาพที่ 5 อุบัติเหตุน้ำมันรั่วไหลจากเรือบรรทุกน้ำมันขนาดใหญ่

ที่มา :

ภาพ 5-1 : <http://www.epscodxb.com/webjpg02/oilspill.jpg>

ภาพ 5-2 : [http://home.pacbell.net/tocho9/oilspill\\_split\\_side.jpg](http://home.pacbell.net/tocho9/oilspill_split_side.jpg)

ภาพ 5-3 : <http://www.commondreams.org/headlines01/images/1107-01.jpg>

ภาพ 5-4 : <http://ens-newswire.com/ens/pics16/oilspill.jpg>



ภาพที่ 6 เรือ Eastern Fortitude ที่เกิดอุบัติเหตุเมื่อวันที่ 15 มกราคม 2545

ที่มา : ส่วนแหล่งน้ำทะเล กรมควบคุมมลพิษ (2545)



ภาพที่ 7 เรือ SKY ACE ที่ถูกชนและท่อกักคราบน้ำมันที่ล้อมรอบตัวเรือ

ที่มา : ส่วนแหล่งน้ำทะเล กรมควบคุมมลพิษ (2545)

ตารางที่ 4 สถิติการเกิดน้ำมันรั่วไหลสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ตั้งแต่ปี 2516 ถึง 2546

วัน เดือน ปี	ชนิดน้ำมัน	ปริมาณ	สถานที่เกิดเหตุ	สาเหตุ
10 เม.ย. 2516	ดีเซล, น้ำมันเตา	14,000	ปากแม่น้ำเจ้าพระยา	เรือบรรทุกน้ำมัน “วิสาหกิจ”
	เจพี 4	บาร์เรล		ชนกับเรือสินค้า “คาสุก้า”
-- 2516	เจพี 4	ไม่ทราบ	ศรีราชา	เพลิงไหม้เรือบรรทุกน้ำมัน “จิตตะกอง”
29 พ.ค. 2520	ไม่ทราบ	300 ตัน	ปากแม่น้ำเจ้าพระยา	เรือบรรทุกน้ำมัน “วชิร” ชนเรือสินค้า
16 เม.ย. 2521	ไม่ทราบ	ไม่ทราบ	ปากแม่น้ำเจ้าพระยา	เรือ “เคลต้าซิกม่า” เกยตื้น
-- 2522	น้ำมันเตา	300 ตัน	เกาะสีชัง	เพลิงไหม้เรือ “ซันฟลาวเวอร์”
13 พ.ย. 2528	น้ำมันเตา	ไม่ทราบ	แม่น้ำเจ้าพระยาบริเวณคลังสรรพาวุธทหารเรือบางนา	ไม่ทราบ
7 ก.พ. 2529	น้ำมันดิบ	ไม่ทราบ	ชายหาดแหลมฉบัง	ไม่ทราบ
6 มี.ค. 2529	น้ำมันเตา	ไม่ทราบ	แม่น้ำเจ้าพระยาบริเวณช่องนนทรี	ไม่ทราบ
20 ก.ย. 2529	น้ำมันเตา	ไม่ทราบ	ชายหาดพิทยา	ไม่ทราบ
22 ก.ย. 2530	น้ำมันเตา	1,000 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณท่าเรือ ปตท.บางจาก	ท่อส่งน้ำมันรั่ว
25 ธ.ค. 2530	น้ำมันเตา	ไม่ทราบ	ปากแม่น้ำเจ้าพระยา	ไม่ทราบ
8 ก.ค. 2531	น้ำมันเตา	10 ตัน	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณพระประแดง	เรือบรรทุกสารเคมี สินค้า “Shintaku” ชนกับเรือสินค้า “Huan-Jiang”
29 ม.ค. 2533	น้ำมันเตา	ไม่ทราบ	ปากแม่น้ำเจ้าพระยา	เรือสินค้า “Ever Breeze” ชนกับเรือสินค้า “Pegasus Progress”
6 มี.ค. 2533	น้ำมันดีเซล	7,000 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณท่าเรือ บ.เอส ไซ้ช่องนนทรี	น้ำมันล้นถังขณะสูบถ่ายลงเรือ “โซคอนันต์ชุมพร”



## ตารางที่ 4 (ต่อ)

วัน เดือน ปี	ชนิดน้ำมัน	ปริมาณ	สถานที่เกิดเหตุ	สาเหตุ
31 ก.ค. 2534	น้ำมันจากห้อง เรือ	ไม่ทราบ	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณ ท่าเรือหมายเลข 14 (บางนา)	เรือ "Viger Victory" สูบ น้ำมันห้องเรือทิ้ง
4 ส.ค. 2534	น้ำมันเตา	ไม่ทราบ	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณ ท่าเรือ บ.บางจากปิโตรเลียม แม่น้ำเจ้าพระยา	น้ำมันล้นถังขณะสูบล้างลง เรือ "ณัฐนาวิ"
14 ม.ค. 2535	น้ำมันเชื้อเพลิง สารเคมี VCM	1,000 ลิตร	บริเวณท่อน ไฟที่ 25-27	เรือนวคูณ 4 เกยร่องน้ำ
20 มี.ค. 2535	น้ำมัน BASE OIL	ไม่ทราบ	ท่าเทียบเรือ 24A ช่องนนทรี	ท่อขนถ่ายชำรุด
9 เม.ย. 2535	น้ำมันเตา	ไม่ทราบ	แม่น้ำเจ้าพระยาตั้งแต่สะพาน กรุงเทพฯ 2 ถึงถนนตก	ไม่ทราบ
25 เม.ย. 2535	น้ำมันเตา	10,000 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยาบริเวณปาก คลองศักดิ์หลวง	เรือ "ณัฐพรนาวิ 8" จม
19 ก.ค. 2535	น้ำมันจากห้อง เรือ	4 ตัน	อู่เรือวังเจ้า	โปิ๊ะบรรทุกน้ำมันของอู่เกิด การเอียง ทำให้น้ำมันไหล ออกจากโปิ๊ะ
3 ก.พ. 2536	น้ำมันเครื่อง และน้ำมันห้อง เรือ	ไม่ทราบ	ช่องสะพานสารถึงสะพาน พุทธ	ลักลอบปล่อยทิ้งจากเรือ
12 ก.พ. 2536	น้ำมันเตา	200 ลิตร	หน้าท่าของ บ.เชลล์ ช่อง นนทรี	เรือรับน้ำมันเตาโคลงขณะ สูบน้ำมันเตา
4 มี.ค. 2536	น้ำมันเตา	-	หน้าท่าของธนาคารกรุงไทย	ไม่ทราบ
31 ส.ค. 2536	น้ำมันเตา	200-300 ลิตร	หน้าท่า 27A องค์การ คลังสินค้า	น้ำมันล้นถังขณะขนถ่ายจาก เรือรัฐพรนาวิ 6 ลงเรือ ได้หวันชื่อ WIN SHUEN SHING
13 ต.ค. 2536	น้ำมันเครื่อง	ไม่ทราบ	หน้าสถานีตำรวจนครบาล บางคอแหลม	การลักลอบทิ้ง

## ตารางที่ 4 (ต่อ)

วัน เดือน ปี	ชนิดน้ำมัน	ปริมาณ	สถานที่เกิดเหตุ	สาเหตุ
13 พ.ย. 2536	น้ำมันเตา	600 ลิตร	ปากคลองลัดหลวง อ.พระประแดง จ.สมุทรปราการ	วาล์วโซ็คของหม้อต้ม ใช้น้ำ หลุดทำให้น้ำมันเตาที่ใช้เป็นเชื้อเพลิงรั่วไหลผ่านท่อน้ำทิ้ง ลงสู่คลอง (จากกิจกรรมฟอกผ้ายีนส์ของบริษัทพระประแดงการฟอกจำกัด) ลักลอบปล่อยทิ้งจากเรือ
8 ธ.ค. 2536	น้ำมันจากห้องเรือ	ไม่ทราบ	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณท่าเรือหมายเลข 40	การลักลอบทิ้งน้ำมันจากห้องเรือ
26 ก.พ. 2536	น้ำมันจากห้องเรือ	ไม่ทราบ	บริเวณหาดราไวย์ เกาะโฮลน จ.ภูเก็ต	การลักลอบทิ้งน้ำมันจากห้องเรือ
6 มี.ค. 2537	น้ำมันดีเซล	4 แส่นลิตร	เกาะสีชัง จ.ชลบุรี	เรือบรรทุกน้ำมันวิสาหกิจ 5 ถูกเรือบรรทุกสินค้าของ ปานามาชน
24 มี.ค. 2537	น้ำมันเตาโซล่า	3,000 ลิตร	เกาะลิเป๊ะ จ.สตูล	เอโรงงานปลาปนเกิดเพลิงไหม้และจมลง
19 เม.ย. 2537	น้ำมันเครื่อง	300 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยา	การลักลอบปล่อยทิ้ง
3 เม.ย. 2538	ไม่ทราบ	ไม่ทราบ	จ.ระยอง	คาดว่าเป็นการลักลอบทิ้ง น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วจากเรือเดินทะเล
12 เม.ย. 2538	น้ำมันเตา	500 ลิตร	แม่น้ำบางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา	เรืออัมภา 2 ไม่ได้ปิดวาล์วในช่องที่ 4 ในการขนถ่ายน้ำมัน ทำให้น้ำมันไหลกลับมาจากเรือและล้นถัง
14 เม.ย. 2538	ไม่ทราบ	ไม่ทราบ	หาดจอมเทียน จ.ชลบุรี	ไม่ทราบ
30 มิ.ย. 2538	น้ำมันโซล่า	400 ลิตร	ลำคลอง ต.บางขันแตก อ.เมือง จ.สมุทรสงคราม	ไม่ทราบ
25 ก.ค. 2538	น้ำมันปาล์ม	200 ลิตร	แหลมพรหมเทพ จ.ภูเก็ต	เรือ SUNHINE 1 สัญชาติ ปานามาจมเพราะคลื่นลมแรง

## ตารางที่ 4 (ต่อ)

วัน เดือน ปี	ชนิดน้ำมัน	ปริมาณ	สถานที่เกิดเหตุ	สาเหตุ
15 ธ.ค. 2538	น้ำมันเตา	300 ลิตร	คลองตาหู จ.ระยอง	เกิดการรั่วไหลระหว่างการล้างถังเก็บน้ำมันของบริษัททุนเท็กซ์ปิโตรเลียม
13 ม.ค. 2539	ก๊อน้ำมัน	-	หาดแสงจันทร์ จ.ระยอง	คาดว่าเกิดจากการทิ้งน้ำมันล้างถังจากท้องเรือ
16 ม.ค. 2539	น้ำมันเตา	-	ปากแม่น้ำเจ้าพระยาทูนที่ 27 จ.สมุทรปราการ	เรื่อนันทภูมิชนกับเรือ Kapitanshvetsov
30 ต.ค. 2539	น้ำมันดิบ	160,000 ลิตร	สถานีส่งน้ำมันดิบบริเวณนอกชายฝั่ง จ.ระยอง	เกิดการรั่วไหลระหว่างการขนถ่ายน้ำมันดิบจากเรือ ONCE สู่อู่สถานีรับน้ำมันดิบของ บ.สตาร์ปิโตรเลียม รีไฟน์นิ่ง จำกัด
19 ธ.ค. 2539	ไม่ทราบ	ไม่ทราบ	ท่าเรือน้ำลึก จ.ภูเก็ต	เรือซีทรานปรินเซสเกิดเพลิงไหม้ และจมลง
4 พ.ค. 2540	น้ำมันเตา	7,000 ลิตร	ใกล้เกาะพีพี จ.กระบี่	เรือคิงส์ครุยเซอร์ชนหินโสโครกฮับปาง
5 พ.ย. 2540	น้ำมันดิบ IRANIAN LIGHT, MASILA	50 บาร์เรล	ใกล้สถานีส่งน้ำมันดิบบริเวณนอกชายฝั่ง จ.ระยอง	ไม่ทราบสาเหตุของการรั่วไหล
8 ม.ค. 2541	ไม่ทราบ	ไม่ทราบ	นอกฝั่งใกล้ท่าเรือ บ.อุตสาหกรรม ปิโตรเคมีกัลไทย จำกัด	ไม่ทราบ
11 ก.ค. 2541	น้ำมันเตา	3,000 ลิตร	คลองบางปลาจ.สมุทรปราการ	ขาวางถังน้ำมันของ บ.ฟิวเจอร์เทค หักทำให้ถังเอียงและน้ำมันรั่วไหลลงสู่คลอง
11 ส.ค. 2541	น้ำมันเตา	100 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณท่าเรือหมายเลข 45 กรุงเทพฯ	ถังลอบปล่อยทิ้งจากเรือ

## ตารางที่ 4 (ต่อ)

วัน เดือน ปี	ชนิดน้ำมัน	ปริมาณ	สถานที่เกิดเหตุ	สาเหตุ
13 ส.ค. 2541	น้ำมันเตา	250 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยาบริเวณปากคลองลัดหลวง จ.สมุทรปราการ	รั่วไหลจากโรงงานประแดงการฟอก
18 ธ.ค. 2541	น้ำมันหล่อลื่น	ไม่ทราบ	อ่าวอุดม อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี	ลักลอบปล่อยทิ้งจากเรือ
13 ก.พ. 2542	ไม่ทราบ	ไม่ทราบ	อ.สัตหีบ จ.ชลบุรี 30 ไมล์ทางใต้ของเกาะจวง	ปล่อยทิ้งจากเรือ
17 มี.ค. 2542	น้ำมันดีเซลหมุนเร็ว	-	บริเวณนอกชายฝั่งระหว่าง อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช และอ.ระโนด จ.สงขลา	เกิดเพลิงไหม้หน้าเครื่อง
23 มี.ค. 2542	น้ำทิ้งปนน้ำมัน	ประมาณ 500 ลิตร	บริเวณท่าเทียบเรือศรีราชาฮาร์เบอร์ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี	ลักลอบปล่อยทิ้งจากเรือ
26 มี.ค. 2542	น้ำมันดีเซล	2,000 ลิตร	ท่าเรืออ่าวฉลอง อ.เมือง จ.ภูเก็ต ห่างจากชายฝั่งประมาณ 1 ไมล์	ลักษณะดีเซลเชื้อ "TAL" เรือยอร์ชแคทาร์รึ้น่าเกิดเพลิงไหม้และจมลง
1 เม.ย. 2542	น้ำมันเตา	ประมาณ 1 ตัน	บริเวณจุดจอดเรือทางตอนเหนือของเกาะสีชัง จ.ชลบุรี	ลักลอบปล่อยทิ้งจากเรือ
21 เม.ย. 2542	น้ำมันเตา	ประมาณ 200 ลิตร	บริเวณจุดจอดเรือใกล้เกาะสีชัง จ.ชลบุรี	ลักษณะดีเซลเชื้อ "SONG THONG" จุฬาศรัณย์ภัค (พบ โดยการบินตรวจการณ์ด้านมลพิษทางน้ำของกรมเจ้าท่า)
27 เม.ย. 2542	น้ำมันดิบ	ประมาณ 2 ตัน	บริเวณท่าเทียบเรือบริษัทอุตสาหกรรมปิโตรเคมีกัลไทยจำกัด จ.ระยอง	เกิดข้อผิดพลาดในการสูบน้ำถ่ายน้ำมันระหว่างเรือ "อรพิน โกรบอล" กับท่าเทียบเรือ
11 พ.ค. 2542	น้ำมันดิบ (มีลักษณะเป็นก้อนน้ำมันดิน)	ไม่ทราบ	บริเวณหาดดวงเดือนและหาดทรายแก้ว	สันนิษฐานว่าเกิดจากการล้างระวางของเรือบรรทุกน้ำมัน

## ตารางที่ 4 (ต่อ)

วัน เดือน ปี	ชนิดน้ำมัน	ปริมาณ	สถานที่เกิดเหตุ	สาเหตุ
2 มิ.ย. 2542	น้ำมันเตา	ประมาณ 200 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณวัดครุ นอก อ.พระประแดง จ. สมุทรปราการ	รั่วไหลจากเรือบรรทุกน้ำมัน ชื่อวิกรม เนื่องจากสภาพเรือ เก่าทำให้น้ำเข้าได้ห้องเรือ และผู้ดูแลเรือสูบน้ำออกไม่ ทัน
6 ก.ค. 2542	ไม่ทราบ	ไม่ทราบ	บริเวณเกาะสีชัง อ.เกาะสีชัง จ.ชลบุรี	พบอยู่ข้างเรือบรรทุกสินค้า สัญชาติอินโดนีเซีย ชื่อ GEMA LESTARI
10 ก.ย. 2542	น้ำมันเตา	ไม่ทราบ	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณ ท่าเรือหมายเลข 4 A ของ บริษัทเซ็นทรัลเคมี จำกัด จ. สมุทรปราการ	คราบน้ำมันบนปูนเปื้อนมาปีบ นึ่งที่บรรทุกมาจากเกาะสีชัง
13 ก.ย. 2542	น้ำมันเบนซิน	ไม่ทราบ	บริเวณเกาะสีชัง อ.เกาะสีชัง จ.ชลบุรี	อุบัติเหตุเพลิงไหม้เรือบรรทุก สินค้าชื่อจัมโบ้
14 ก.ย. 2542	น้ำมันเตา	ไม่ทราบ	บริเวณอ่าวอุดม อ.ศรีราชา จ. ชลบุรี	ลักลอบปล่อยทิ้ง
19 ก.ย. 2542	น้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน	ประมาณ 200 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณแพ ขนานยนต์ อ.พระประแดง จ. สมุทรปราการ	อุบัติเหตุเรือบรรทุกน้ำมัน CP32 ชนกับแพขนานยนต์ ชื่อ นาวาสมุทร
12 ต.ค. 2542	ไม่ทราบ	ไม่ทราบ	แม่น้ำเจ้าพระยาบริเวณหลัก ผูกเรือบางหัวเสือ	ลักลอบปล่อยทิ้ง
25 พ.ย. 2542	น้ำมันเตา	ไม่ทราบ	บริเวณอ่าวอุดม อ.ศรีราชา จ. ชลบุรี	ลักลอบปล่อยทิ้ง
21 ธ.ค. 2542	น้ำมันเตา	ประมาณ 400 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณ ท่าเรือหมายเลข 20 F คลองเตย กรุงเทพฯ	เกิดจากความบกพร่องของ คนประจำเรือและอุปกรณ์ใน ห้องเครื่องจากเรือบรรทุก สินค้าชื่อ UNI-CONCERT สัญชาติไต้หวัน

## ตารางที่ 4 (ต่อ)

วัน เดือน ปี	ชนิดน้ำมัน	ปริมาณ	สถานที่เกิดเหตุ	สาเหตุ
23 ธ.ค. 2542	น้ำมันหล่อลื่น	ประมาณ 400 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณท่าเรือหมายเลข 22 F คลองเตย กรุงเทพฯ	เกิดจากความบกพร่องของ คนประจำเรือจากเรือบรรทุกสินค้าสัญชาติเกาหลีชื่อ "DUCHESS"
26 ธ.ค. 2542	น้ำห้องเรือ	ไม่ทราบ	บริเวณท่าเทียบเรือบริษัท อุตสาหกรรมปิโตรเคมีกัลไทยจำกัด (มหาชน) จ.ระยอง	ปล่อยน้ำทิ้งจากเรือบรรทุกน้ำมันชื่อ "TOPAZ"
18 ม.ค. 2543	น้ำมันดิบ ลักษณะเป็น ก้อนน้ำมัน	2,000 ลิตร	หาดที่อ่าววาย หาดแสงจันทร์ จ.ระยอง	ไม่ทราบ
31 พ.ค. 2543	น้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้ว	200 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยาบริเวณท่าเรือ กรุงเทพฯ	โปิะเหล็กที่ภายในบรรจุ น้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้วชำระ
1 ส.ค. 2543	น้ำมันดิบ ลักษณะเป็น ก้อนน้ำมันดิน	ไม่ทราบ	หาดกะรน หาดป่าตอง หาดไนยาง จ.ภูเก็ต	การลักลอบปล่อยทิ้งจากเรือ
8 ส.ค. 2543	น้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้ว	ไม่ทราบ	แม่น้ำเจ้าพระยาบริเวณบริษัท สมุทรค้าข้าวหน้าท่าหมายเลข 45	ปั๊มบัลลาสต์ในห้องเครื่องเรือบรรทุกสินค้า "แสงไทยวินัส" ชัดข้อง
3 ก.ย. 2543	น้ำมันคอนคอนเสก	300 ลิตร	บริเวณท่าที่ 7 ของการนิคมอุตสาหกรรม จ.ระยอง	อุบัติเหตุ over flow ของเรือ Belgreeting สูบถ่ายน้ำมัน Discharge
14 ก.ย. 2543	น้ำมันดีเซล	200 – 2,000 ตัน	บริเวณนอกฝั่ง จ.ชลบุรี	เรือบรรทุกสินค้าชื่อ "Heron" ชนเรือบรรทุกน้ำมัน "Playboy 3"
- ต.ค. 2543	น้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้ว	200 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยาบริเวณบริษัท ธนบุรีพาณิชย์จำกัด	กิจกรรมจากแผนกซ่อมเครื่องยนต์

## ตารางที่ 4 (ต่อ)

วัน เดือน ปี	ชนิดน้ำมัน	ปริมาณ	สถานที่เกิดเหตุ	สาเหตุ
29 ต.ค. 2543	น้ำมันหล่อลื่น	ไม่ทราบ	บริเวณการทำเรือแห่ง ประเทศไทยถึงท่าเรือ สรรพาวุธ บางนา	ไม่ทราบ
21 พ.ย. 2543	น้ำมันเตา	1,000 ลิตร	บริเวณท่าเรือหมายเลข 13 พระประแดง จ. สมุทรปราการ	เรือบรรทุกน้ำมัน “วิกรม” จม
20 ธ.ค. 2543	น้ำมันดีเซล	ไม่ทราบ	บริเวณหน้าท่าเทียบเรือ บริษัทอุตสาหกรรมปิโตรเคมี กัลป์ ไทยจำกัด (มหาชน) จ. ระยอง	ไม่ทราบ
1 ม.ค. 2544	น้ำมันเตา และ ปุ๋ยแอมโมเนียม ไนเตรท	ไม่ทราบ	ท่าเทียบเรือบริษัท อุตสาหกรรมปิโตรเคมีกัลป์ ไทยจำกัด จ.ระยอง	เรือจม
12 ม.ค. 2544	น้ำมันเตา	800 ลิตร	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณอยู่เรือ กรุงเทพฯ	ไม่ทราบ แต่สันนิษฐานว่าเกิด จากการลัดลอบปล่อย
3 มี.ค. 2544	น้ำมันเตา	500 ลิตร	คลองแสนแสบหลังโรงแรม มารีเอเทรียม กรุงเทพฯ	เกิดจากความบกพร่องของ เจ้าหน้าที่ทำให้น้ำมันเตาล้น ถัง
27 มี.ค. 2544	น้ำมันดิบ	5,000 ลิตร	ท่าเทียบเรือบริษัท อุตสาหกรรมปิโตรเคมีกัลป์ ไทยจำกัด (พบก้อนน้ำมันดิน กระจายอยู่ทั่วไปบริเวณหาด แสงจันทร์, พีเอ็มวาย, แม่ รำพึง จนสุดบ้านก้นอ่าว	รั่วไหลขณะสูบลำน้ำมันดิบ จากเรือบรรทุกน้ำมันสัญชาติ Malts ชื่อ Ninemia เนื่องจาก ข้อบกพร่องของตัวเรือ บริเวณวาล์วลิ้นทะเล
26 เม.ย. 2544	น้ำมันไฮโดรลิก	ไม่พบ	แม่น้ำเจ้าพระยา บริเวณหน้า ท่าหมายเลข 33	ลัดลอบปล่อยทิ้ง

## ตารางที่ 4 (ต่อ)

วัน เดือน ปี	ชนิดน้ำมัน	ปริมาณ	สถานที่เกิดเหตุ	สาเหตุ
17 พ.ค. 2544	น้ำมันที่ผ่านการ ใช้งานแล้ว (น้ำมันเครื่อง)	ไม่ทราบ	ปลายแหลมพันวา จ.ภูเก็ต	ไม่ทราบ
22 พ.ค. 2544	น้ำมันดิบ (Kuwait Crude Oil)	30,000 ลิตร	ทุ่นรับน้ำมันดิบกลางทะเล ของบริษัทอัลลาลายแอนซรี ไฟน์นิ่งจำกัด (ARC)	เครื่องต่อเชื่อมท่อส่งน้ำมัน ซึ่งติดอยู่กับที่ขนาด 16 นิ้ว ขาดขณะเรือบรรทุกน้ำมัน ปานามาชื่อ "Tokachi" ทำ การสูบน้ำมัน
17 ส.ค. 2544	ก๊อน้ำมัน	ไม่ทราบ	บริเวณหาดไม้ขาว จ.ภูเก็ต	ลักลอบปล่อยทิ้ง
15 ม.ค. 2545	น้ำมันเตา	243 ตัน	นอกฝั่ง อ.สตั๊กฮีบ จ.ชลบุรี	เรือ Eastern Fortitude ชนหิน ฉลาม
17 ธ.ค. 2545	น้ำมันที่ใช้การ ในเครื่องจักร	20 ตัน	ใกล้บริเวณทางเข้าท่าเรือ แหลมฉบังด้านใต้เกาะสีชัง จ. ชลบุรี	เรือ Kota wijaya โดนกับเรือ Sky Ace
18 ก.พ. 2546	คราบน้ำมันสีดำ (Tarbal)	1 ตัน	หาดน้ำเมา จ.ชุมพร	คาดว่าเกิดจากการลักลอบ ปล่อยทิ้งน้ำมันจากเรือ
17 พ.ค. 2547	-	-	หาดแม่รำพึง จ.ระยอง	ไม่ทราบสาเหตุ
26 พ.ค. 2547	น้ำมันเตา	567,300 ลิตร	เกาะครก จ.ชลบุรี	เรือ Dragon 1 ชนหินโสโครก

ที่มา : ส่วนแหล่งน้ำทะเล สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ (2545)



นอกจากนี้ น้ำมันที่เหลือจากการใช้งานในกิจกรรมต่างๆ ยังจัดเป็นสิ่งปฏิภูลชนิดหนึ่งที่สามารถนำอันตรายมาสู่มนุษย์และสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำได้ โดยเฉพาะบริเวณที่มีประชากรอาศัยอยู่หนาแน่นและมีโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ มาก ย่อมมีการใช้น้ำมันในการทำกิจกรรมต่างๆ ในปริมาณมาก ผลกระทบของน้ำมันที่เหลือจากการใช้จึงมีมากด้วย กิจกรรมการใช้น้ำมันของมนุษย์สามารถเป็นสาเหตุให้เกิดการรั่วไหลของน้ำมันลงสู่ทะเลได้ในหลายรูปแบบด้วยกันทั้งสาเหตุที่จงใจและไม่จงใจ เช่นการขุดเจาะหาแหล่งน้ำมัน การล้างเรือบรรทุกน้ำมัน การทิ้งน้ำหล่อเย็นที่มีน้ำมันอยู่ การอับปางของเรือน้ำมัน (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวต, 2543) อีกทั้งในภาวะทั่วไปของแหล่งที่ชุมชนเมืองหนาแน่นและมีการคมนาคมคับคั่งยังมีส่วนในการเพิ่มปริมาณการแพร่กระจายของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนลงสู่แหล่งน้ำอีกทางหนึ่งด้วย โดยเกิดจากการเผาไหม้น้ำมันเชื้อเพลิงของเครื่องยนต์ซึ่งปล่อยไฮโดรคาร์บอนออกสู่บรรยากาศแล้วถูกชะล้างโดยฝนหรืออาจตกลงมาเอง (fall out) ลงสู่แหล่งน้ำในที่สุด (เกศินี สรรวานิช, 2534)

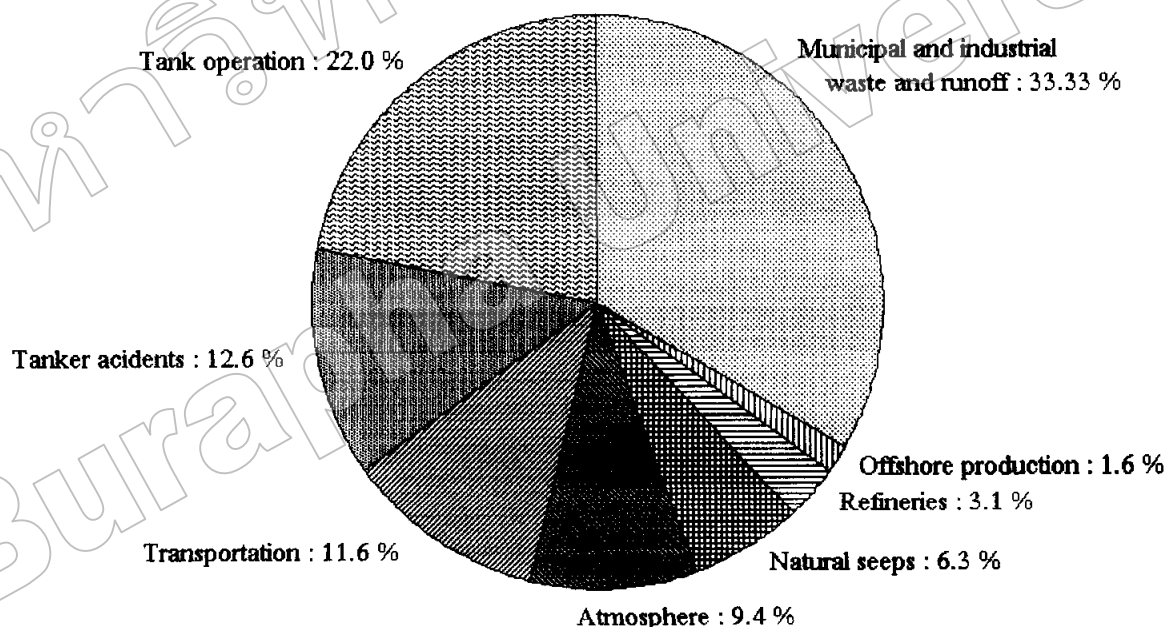
การรั่วไหลของน้ำมันลงสู่แหล่งน้ำด้วยวิธีการต่างๆ น้ำมันบางส่วนจะละลายน้ำและเกิดการสะสมในสิ่งมีชีวิตที่อาศัยในบริเวณที่มีการปนเปื้อนนั่น แต่ส่วนใหญ่จะเกาะติดกับตะกอนแขวนลอยและตกสะสมอยู่ในตะกอนเบื้องล่าง โดยทั่วไปน้ำทะเลชายฝั่งของอ่าวไทยจะมีการปนเปื้อนของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในปริมาณที่สูงกว่าน้ำทะเลด้านชายฝั่งอันดามัน ส่วนการปนเปื้อนของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในน้ำทะเลที่อยู่ไกลฝั่งออกไปพบว่ามีค่าต่ำกว่าน้ำทะเลชายฝั่ง และน้ำทะเลบริเวณปากแม่น้ำจะมีค่าการปนเปื้อนสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าแหล่งที่มาของน้ำมันที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำเหล่านี้จะเป็นน้ำทิ้งจากกิจกรรมบนฝั่ง(ภาพที่ 8) โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากโรงงานอุตสาหกรรม และการใช้เรือสัญจร ไปมาในบริเวณปากแม่น้ำ (มนูดี หังสพฤกษ์, 2546)

สาเหตุที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน ในแหล่งน้ำอันเนื่องมาจากกิจกรรมต่างๆ สามารถสรุปได้ดังนี้ (เกศินี สรรวานิช, 2534)

1. จากการขนส่งโดยเรือบรรทุกน้ำมันซึ่งมีโอกาสสูญเสียน้ำมันในระหว่างขนถ่าย
2. จากอุบัติเหตุเรือบรรทุกน้ำมันชนกัน หรืออับปางลง รวมทั้งการรั่วของถังน้ำมัน
3. การปฏิบัติการนอกชายฝั่ง เช่น การขุดเจาะน้ำมันหรือก๊าซธรรมชาติ การแตกหรือชำรุดของท่อส่งน้ำมันใต้ทะเล
4. จากโรงกลั่นน้ำมัน น้ำทิ้งจากโรงกลั่นน้ำมันซึ่งมีคราบน้ำมันบางส่วนปนอยู่ หรือกรณีถังน้ำมันสำรองบนบกบริเวณชายฝั่งเกิดการชำรุด หรือเกิดอุบัติเหตุทำให้น้ำมันรั่วไหลออกมา
5. จากการล้างทำความสะอาดถังน้ำมัน
6. น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ตั้งอยู่บริเวณนอกชายฝั่ง

7. น้ำที่ขังจากชุมชน รวมทั้งการชะล้างคราบน้ำมันบนถนนหนทางในเขตเมือง
8. จากบรรยากาศ
9. จากกระบวนการซึมผ่านตามธรรมชาติ (seepage)

มีการศึกษาพบว่าไฮโดรคาร์บอนที่ปรากฏในสิ่งแวดล้อมนอกจากจะมีสาเหตุมาจากกิจกรรมของมนุษย์ดังกล่าวแล้ว ยังสามารถเกิดขึ้นได้โดยกระบวนการตามธรรมชาติด้วย เช่น จากการสังเคราะห์ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ อาทิเช่น แบคทีเรียและแพลงก์ตอนพืชบางชนิดสามารถสังเคราะห์อัลเคนที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอนเป็น  $C_{15}$ ,  $C_{17}$ ,  $C_{19}$ ,  $C_{21}$  ได้ หรือการสังเคราะห์อัลเคนในกลุ่ม  $C_{25}$ ,  $C_{27}$ ,  $C_{29}$ ,  $C_{31}$  ของพืชบกจำพวก marsh grasses เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าจุลชีพที่อยู่ใต้ทะเลและพืชบกบางชนิดยังสามารถสังเคราะห์สารพวกอะลิไซคลิกไฮโดรคาร์บอนบางตัวได้อีกด้วย (เกศินี สรรวานิช, 2534)



ภาพที่ 8 สัดส่วนของปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจากแหล่งต่างๆที่ลงสู่ทะเล  
ที่มา : เกศินี สรรวานิช (2534)

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ลงสู่ทะเลและมหาสมุทร (ล้านเมตริกตันต่อปี)

แหล่งกำเนิด	ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน	ค่าเฉลี่ย
แหล่งกำเนิดจากธรรมชาติ		
- การซึมผ่านตามธรรมชาติ	0.02 - 2.0	0.2
- การพังทลายของชั้นดิน	0.005 - 0.5	0.05
- (ปริมาณรวม)	(0.025 - 2.5)	(0.25)
การปฏิบัติการนอกชายฝั่ง		
การคมนาคมและการขนส่งทางเรือ		
- การขนส่งน้ำมัน	0.4 - 1.5	0.7
- กิจการอยู่เรือ	0.02 - 0.05	0.03
- ท่าเทียบเรือ	0.01 - 0.03	0.02
- น้ำมันจากท้องเรือ	0.2 - 0.6	0.6
- อุบัติเหตุจากเรือบรรทุกน้ำมัน	0.3 - 0.4	0.4
- อุบัติเหตุทางน้ำที่ไม่ใช่เรือบรรทุกน้ำมัน	0.02 - 0.04	0.02
- (ปริมาณรวม)	(0.95 - 2.62)	(1.47)
บรรยากาศ		
น้ำทิ้งจากชุมชนและอุตสาหกรรม		
- น้ำทิ้งจากชุมชน	0.4 - 1.5	0.7
- โรงกลั่นน้ำมัน	0.06 - 0.6	0.1
- โรงงานอุตสาหกรรมที่ไม่ใช่โรงกลั่นน้ำมัน	0.1 - 0.3	0.2
- น้ำทิ้งจากบ้านเรือน	0.01 - 0.2	0.12
- จากแม่น้ำ	0.01 - 0.5	0.04
- จากการทิ้งลงทะเล	0.005 - 0.02	0.02
- (ปริมาณรวม)	(0.585 - 3.12)	(1.18)
ปริมาณรวมทั้งหมด	1.7 - 8.8	3.2

ที่มา : เกษินี สรรวานิช (2534)

### 3. ปิโตรเลียม

ปิโตรเลียม หรือที่รู้จักโดยทั่วไปว่าน้ำมันดิบ (crude oil) นั้น เป็นสารประกอบจำพวกไฮโดรคาร์บอนที่เกิดขึ้นในธรรมชาติจากการทับถมกันของซากอินทรีย์ภายใต้พื้นผิวโลกเป็นเวลานานหลายล้านปีมีธาตุคาร์บอนและไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ (ตารางที่ 7) จากการศึกษาถึงองค์ประกอบของน้ำมันดิบจากแหล่งต่างๆ พบว่าจะมีธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 83.9 – 86.8 % โดยน้ำหนัก และมีไฮโดรเจนอยู่ประมาณ 11.0 – 14.0 % โดยน้ำหนัก นอกจากนี้ยังพบกำมะถัน ออกซิเจน และไนโตรเจน รวมทั้งโลหะจำพวกนิกเกิลและวาเนเดียมปนอยู่บ้างในปริมาณเล็กน้อย น้ำมันดิบที่ขุดขึ้นมาจากแหล่งต่างๆ จะมีลักษณะที่แตกต่างกัน บางแหล่งเป็นของเหลวใสสีเหลือง สีเขียวเข้ม บางแห่งอาจเป็นสีดำ และมีกลิ่นกำมะถัน บางแหล่งจะขึ้นเหนียวคล้ายแป้งเปียก การที่น้ำมันในแต่ละแหล่งมีลักษณะที่แตกต่างกันเนื่องมาจากมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน ซึ่งองค์ประกอบของน้ำมันจะไม่คงที่ขึ้นอยู่กับแหล่งของน้ำมัน ทั้งนี้เกิดจากวัตถุดิบที่ถูกทับถมจนเกิดเป็นน้ำมันนั้นมีสัดส่วนที่แตกต่างกันนั่นเอง (เกศินี สรรวานิช, 2534)

#### 3.1 องค์ประกอบทางเคมีของปิโตรเลียม

น้ำมันดิบเป็นสารผสมที่ซับซ้อน ประกอบด้วยสารเคมีจำนวนมากซึ่งส่วนใหญ่รู้จักกันในชื่อ “ไฮโดรคาร์บอน” (อรรรรณ วัฒน, 2542)

ไฮโดรคาร์บอนแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มตามลักษณะ โครงสร้างทางเคมีดังนี้

ก) อะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน (aliphatic hydrocarbons) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่อิมตัว ซึ่งมีโครงสร้างอะตอมของคาร์บอนต่อกันเป็นห่วงโซ่เปิด อาจเป็นแบบโซ่ตรงหรือมีกิ่งก้าน สารกลุ่มนี้ได้แก่ อัลเคน น้ำมันดิบที่มีองค์ประกอบของสารในกลุ่มนี้อยู่มากเรียกว่า parafinbase crude oil

ข) อะลิไซคลิกไฮโดรคาร์บอน (alicyclic hydrocarbons) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิมตัว ซึ่งมีอะตอมของคาร์บอนจับตัวกันเป็นวง มีสูตรทั่วไปคือ  $C_nH_{2n}$  น้ำมันดิบที่มีองค์ประกอบเป็นสารในกลุ่มนี้อยู่มากเรียกว่า naphthenebase crude oil

ค) โอลิฟินิกไฮโดรคาร์บอน (olefinic hydrocarbons) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดไม่อิมตัว ซึ่งมีคาร์บอนอะตอมต่อกันเป็นห่วงโซ่เปิด เป็นพวกที่มีพันธะคู่ (double bond) หรือพันธะสาม (triple bond) อยู่ สารกลุ่มนี้ไม่พบในน้ำมันดิบ แต่พบได้ในผลิตภัณฑ์จากการกลั่นน้ำมัน และเรียกกลุ่มนี้ว่า aliphatic unsaturated hydrocarbons

ง) อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (aromatic hydrocarbons) เป็นสารประกอบพวกไม่อิมตัว และมีวงแหวนเบนซีน (benzene ring) เป็นองค์ประกอบ กลุ่มนี้รวมถึงสารพวกโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (polycyclic aromatic hydrocarbon, PAHs) ด้วย ซึ่งนับว่าเป็นกลุ่มที่มี

อันตรายต่อสิ่งมีชีวิตมากกว่ากลุ่มอื่นๆ เนื่องจากเชื่อว่าเป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogenic hydrocarbon) กลุ่มหนึ่ง บางครั้งเรียกสารกลุ่มนี้ว่า unsaturated cyclic hydrocarbons

ตารางที่ 6 การจำแนกลักษณะพื้นฐานของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

ชนิด	ความอึดตัว	ลักษณะและพันธะ	แหล่งที่พบ
อะลิฟาติก	อึดตัว	โซ่ตรง มีพันธะเดี่ยว	พบในน้ำมันดิบ
ไฮโดรคาร์บอน			
อะลิไซคลิก	อึดตัว	เป็นวง มีพันธะเดี่ยว	พบในน้ำมันดิบ
ไฮโดรคาร์บอน			
โอลิฟินิก	ไม่อึดตัว	โซ่ตรง มีพันธะคู่และพันธะสาม	พบในน้ำมันดิบ แต่พบในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการกลั่นน้ำมัน
ไฮโดรคาร์บอน			
อะโรมาติก	ไม่อึดตัว	เป็นวง มีพันธะคู่และพันธะสาม	พบในน้ำมันดิบ
ไฮโดรคาร์บอน			

ที่มา : อรวรรณ วัฒน (2542)

องค์ประกอบของน้ำมันดิบแบ่งออกเป็นสองประเภทใหญ่ๆ คือ สารประกอบไฮโดรคาร์บอน และสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่ไฮโดรคาร์บอน โดยน้ำมันที่กลั่นแล้วจะมีไฮโดรคาร์บอนเกือบ 100 % (อรวรรณ วัฒน, 2542) สารประกอบไฮโดรคาร์บอน ได้แก่ สารที่ประกอบด้วยธาตุ 2 ชนิด คือ คาร์บอน (C) และ ไฮโดรเจน (H) ซึ่งสามารถเกิดพันธะกับคาร์บอนอะตอมอื่นเกิดเป็นโครงสร้างต่างๆ ได้แก่ อัลเคน หรือพาราฟิน (alkane or parafins), ไซโคลอัลเคน หรือ แนพทีน (cyclo-alkane or naphthene), อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (aromatic hydrocarbon) (กฤติยาพร ทักษะทัต, 2538) ส่วนสารอื่นที่ไม่ใช่ไฮโดรคาร์บอนส่วนใหญ่เป็นสารที่ประกอบด้วยซัลเฟอร์ซึ่งมีอยู่มากกว่า 7% โดยน้ำหนัก และไนโตรเจนมากกว่า 1% โดยน้ำหนัก สารประกอบบางชนิดมีออกซิเจน ซึ่งมักเป็นสารประกอบพวกกรดและฟีนอล ส่วนโลหะพบปริมาณเล็กน้อยซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นนิกเกิลและวานาเดียม (อรวรรณ วัฒน, 2542)

### 3.2 พฤติกรรมและการแพร่กระจายของน้ำมันในแหล่งน้ำ

เมื่อน้ำมันเกิดการรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ จะเกิดกระบวนการต่างๆ ทั้งทางฟิสิกส์ เคมี และชีวภาพต่อน้ำมัน ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะต่างๆ กระบวนการเหล่านี้ประกอบด้วย การระเหย (evaporation), การกระจาย (spreading), การเกิดอิมัลชัน (emulsification), การละลาย (solution), การตกตะกอน (sedimentation), การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (chemical oxidation), การ

ย่อยสลายโดยจุลชีพ (biodegradation), การดูดซับและการสะสมของสิ่งมีชีวิต (uptake and accumulation by organisms) รวมทั้งการสะสมและการกำจัดของเสียจากสิ่งมีชีวิต เป็นต้น อัตราในการเกิดกระบวนการต่างๆ เหล่านี้จะไม่เท่ากันขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ หลายประการ เช่น องค์ประกอบของไฮโดรคาร์บอนในน้ำมัน สภาพอุณหภูมิตามสภาพของแหล่งน้ำ เช่น คลื่น ลม กระแสน้ำ และอุณหภูมิ เป็นต้น แต่โดยทั่วไปกระบวนการทางฟิสิกส์และเคมีจะเกิดขึ้นได้รวดเร็วแทบจะทันทีที่มีการรั่วไหลของน้ำมัน เช่น การแผ่กระจาย การละลาย และการระเหย ส่วนกระบวนการทางชีวภาพมักจะเกิดขึ้นภายหลังจากที่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของน้ำมันแล้ว การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของไฮโดรคาร์บอนในรูปแบบต่างๆ ในสถานะแวดล้อม (เกศินี สรรวานิช, 2534)

ตารางที่ 7 ธาตุที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันดิบ

แร่ธาตุ	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
คาร์บอน	83.0 – 87.0
ไฮโดรคาร์บอน	10.0 – 14.0
ไนโตรเจน	0.1 – 2.0
ออกซิเจน	0.05 – 1.5
ซัลเฟอร์	0.05 – 6.0

ที่มา : Speight (1991)

### 3.2.1 กระบวนการทางฟิสิกส์และเคมี (เกศินี สรรวานิช, 2534)

#### 3.2.1.1 การแผ่กระจายตัวของน้ำมัน

น้ำมันที่ถูกทิ้งลงในแหล่งน้ำจะเกิดเป็นคราบปกคลุมผิวน้ำ เนื่องจากน้ำมันส่วนใหญ่มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ หรือละลายน้ำได้น้อยมาก อิทธิพลจากกระแสน้ำ คลื่น และลม จะเป็นตัวทำให้คราบน้ำมันกระจายตัวออกเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ การกระจายของน้ำมันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ปริมาณน้ำมันที่รั่ว คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมัน ระยะเวลาและสภาพธรรมชาติ ความเร็วลม เป็นต้น ตัวอย่างเช่นน้ำมันที่มีความหนืดสูงจะค่อนข้างหนัก จะแผ่กระจายบนผิวน้ำได้ช้ากว่าน้ำมันที่มีความหนืดต่ำๆ หรือในกรณีที่น้ำมันมีองค์ประกอบของไนโตรเจน กำมะถัน และออกซิเจนอยู่ ทำให้น้ำมันเคลื่อนไปบนผิวน้ำได้ดี เนื่องจากสารประกอบพวกนี้มีแรงดึงดูดสูง

### 3.2.1.2 การระเหย

การระเหยเป็นกระบวนการหนึ่งที่เกิดขึ้นทันทีที่มีการรั่วไหลของน้ำมัน เช่นเดียวกันกับการแผ่กระจายบนผิวน้ำ ไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนอะตอมต่ำกว่า  $C_{15}$  (จุดเดือดต่ำกว่า  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) จะระเหยไปจากผิวน้ำภายในเวลาไม่กี่วัน ส่วนไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอนในช่วง  $C_{15} - C_{25}$  (จุดเดือดระหว่าง  $250 - 400\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) จะระเหยได้เพียงเล็กน้อย และสำหรับไฮโดรคาร์บอนที่มีอะตอมคาร์บอนมากกว่า  $C_{25}$  (จุดเดือดสูงกว่า  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) แทบจะไม่สามารถระเหยได้เลย อัตราการระเหยของน้ำมันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ความเร็วลม ปริมาณแสงแดด ความหนาของชั้นน้ำมัน และองค์ประกอบในน้ำมัน

### 3.2.1.3 การละลาย

ไฮโดรคาร์บอนแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้แตกต่างกัน ซึ่งโดยปกติแล้วกลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จะสามารถละลายน้ำได้ดีกว่ากลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ความสามารถในการละลายน้ำของไฮโดรคาร์บอนยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น จำนวนอะตอมของคาร์บอน โครงสร้างของโมเลกุล ชาติที่เป็นองค์ประกอบ เป็นต้น อีกทั้งนอกจากจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของไฮโดรคาร์บอนแต่ละชนิดแล้ว ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ อีก เช่น อิทธิพลของกระแสลม สภาพของแหล่งน้ำ เป็นต้น นอกจากนี้การย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนทางเคมีและชีวภาพยังเป็นส่วนสำคัญต่อการละลายด้วย กล่าวคือ ในปฏิกิริยาออกซิเดชันจะให้สารที่มีขั้วออกมาซึ่งสารมีขั้วเหล่านี้จะมีความสามารถในการละลายน้ำได้สูงขึ้น เช่น แนพทาลิน เมื่อถูกออกซิไดซ์เป็นแอลฟา-แนพทอล จะมีค่าความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นจาก  $32\text{ ppm}$  เป็น  $740\text{ ppm}$  เป็นต้น

### 3.2.1.4 การเกิดอิมัลชัน

เนื่องจากองค์ประกอบส่วนใหญ่ของน้ำมันเป็นองค์ประกอบที่ไม่ละลายน้ำ การกระจายของน้ำมันจึงเกิดในลักษณะของอิมัลชัน อนุภาคของน้ำมันที่กระจายในน้ำ (oil in water) เกิดจากอิทธิพลของคลื่นและกระแสน้ำ มีการศึกษาพบว่าอนุภาคของน้ำมันมีขนาดตั้งแต่  $5\text{ ไมโครเมตร}$  ไปถึงหลายมิลลิเมตร สามารถกระจายไปได้ไกลเกินกว่า  $200\text{ กิโลเมตร}$  สำหรับอิมัลชันที่อนุภาคของน้ำกระจายอยู่ในชั้นน้ำมัน (water in oil) จะเกิดขึ้นบริเวณที่มีคราบน้ำมันลอยอยู่เป็นชั้นค่อนข้างหนา ซึ่งเป็นน้ำมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลค่อนข้างสูง หรือ residue oil มีลักษณะเป็นกึ่งของเหลวเรียกว่า “chocolate mousse”

### 3.2.1.5 การเกิดน้ำมันดิน (Tar)

น้ำมันดินเป็นไฮโดรคาร์บอนส่วนที่เหลืออยู่หลังจากการเกิดกระบวนการต่างๆ แล้วในช่วงเวลาหนึ่ง น้ำมันบางชนิดจะไม่ปรากฏน้ำมันดินให้เห็น เนื่องจากมีครึ่งชีวิตสั้น น้ำมันดิบ

ที่มีองค์ประกอบของไนโตรเจน กำมะถันและออกซิเจนเพียงเล็กน้อย หรือ ไม่มีเลยจะไม่เกิดน้ำมันดิน อย่างไรก็ตามปริมาณน้ำมันดินที่เกิดขึ้นจะมีประมาณ 30% ของปริมาณน้ำมันทั้งหมดที่รั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ

ในบริเวณที่มีกระแสธารุนแรงจะทำให้น้ำมันดินแตกออกเป็นอนุภาคเล็กๆ และกระจายอยู่ในน้ำที่ระดับความลึกต่างๆ แต่ปริมาณน้ำมันดินส่วนที่กระจายในน้ำมีปริมาณค่อนข้างต่ำกระบวนการที่มีอิทธิพลต่อปริมาณน้ำมันดินคือ การตกตะกอน เนื่องจากองค์ประกอบส่วนใหญ่ของน้ำมันดินเป็นสารพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลค่อนข้างสูง จึงสามารถจมลงสู่ท้องน้ำและทับถมในชั้นดินตะกอน นอกจากนี้ น้ำมันดินส่วนหนึ่งจะถูกกระแสธารและคลื่นลมพัดเข้าสู่ฝั่งทำให้ชายฝั่งสกปรก เป็นการทำลายทัศนียภาพที่สวยงาม

### 3.2.1.6 การตกตะกอน

น้ำมันเกิดการตกตะกอนได้เนื่องจากมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจาก 3 กระบวนการใหญ่ๆ คือ

- ก) การระเหยและการละลายขององค์ประกอบที่เบากว่า
- ข) การรวมตัวกันของอนุภาคที่กระจายอยู่ในน้ำ
- ค) การดูดซับและการดูดซึม (absorption and adsorption) ไฮโดรคาร์บอนของอนุภาคแขวนลอย

ภายหลังจากที่น้ำมันเกิดการระเหย การละลาย และกระบวนการอื่นๆ เช่น ปฏิริยาออกซิเดชันแล้ว สารที่เหลือจากกระบวนการต่างๆ เหล่านี้จะมีลักษณะเป็นสารกึ่งของแข็งหรือน้ำมันดินลอยอยู่บริเวณผิวน้ำ น้ำมันดินนี้จะแตกออกเป็นอนุภาคเล็กๆ และจมลงสู่ท้องน้ำดังกล่าวแล้วข้างต้น ส่วนอนุภาคน้ำมันที่กระจายอยู่ในน้ำจะสามารถรวมตัวหรือเกาะรวมกับสารแขวนลอยได้ กระบวนการนี้จึงมีความสำคัญต่อการลดปริมาณไฮโดรคาร์บอนจากผิวน้ำมาก โดยเฉพาะในบริเวณเอสทูรี เนื่องจากบริเวณนี้มีปริมาณของตะกอนแขวนลอยอยู่มาก

ในกระบวนการดูดซึมนั้น อนุภาคที่มีขนาดเล็กละเอียด (เล็กกว่า 44 ไมโครเมตร) จะสามารถดูดซับหรือดูดซึมไฮโดรคาร์บอนได้ดีที่สุด โดยเฉพาะอนุภาคเคลย์ที่มีสารอินทรีย์เป็นองค์ประกอบ

จากการศึกษาพฤติกรรมของน้ำมันที่สะสมในดินตะกอน พบว่าน้ำมันสามารถซึมผ่านลงไปชั้นดินตะกอนได้ โดยที่ความสามารถในการซึมผ่านดินตะกอนจะขึ้นอยู่กับลักษณะของตะกอน กล่าวคือ ตะกอนที่ประกอบด้วยทรายและกรวดมากจะทำให้การซึมได้ดีกว่าตะกอนที่ประกอบด้วยอนุภาคเล็กๆ ลักษณะของตะกอนที่ซึบน้ำมันไว้ได้มากที่สุดหรือมีการซึมน้อยที่สุดเป็นตะกอนที่มีอนุภาคเล็กละเอียด เนื่องจากมีพื้นที่ผิวในการดูดซับได้มากนั่นเอง ส่วน



ตะกอนที่มีขนาดใหญ่ นอกจากจะชิมได้ดีแล้วยังมีอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพได้สูงอีกด้วย เพราะตะกอนขนาดใหญ่จะมีการไหลเวียนของอาหารและอากาศผ่านได้สะดวก

ปัจจัยสำคัญที่มีต่อการคงสภาพของน้ำมันในชั้นดินตะกอนนั้นคือ อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพ โดยบริเวณผิวของชั้นตะกอนจะเกิดการย่อยสลายของสารไฮโดรคาร์บอนได้เร็วมาก ส่วนชั้นที่ลึกลงไปซึ่งอยู่ในสภาพไร้ออกซิเจนการย่อยสลายจะเกิดขึ้นได้ช้า เนื่องจาก จุลินทรีย์มีกิจกรรมต่ำมาก ทำให้น้ำมันที่อยู่ในชั้นที่ลึกลงไปสามารถคงสภาพอยู่ได้เป็นเวลานานหลายปี

### 3.2.1.7 ปฏิกริยาโฟโตออกซิเดชัน

ปฏิกริยาโฟโตออกซิเดชันเป็นปฏิกริยาเริ่มแรกในกระบวนการย่อยสลายน้ำมัน โดยอัตราการเกิดปฏิกริยานี้จะขึ้นอยู่กับชนิดขององค์ประกอบในน้ำมัน เช่น สารพวกอะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอนจะถูกเปลี่ยนสภาพโดยพลังงานจากแสงอาทิตย์ได้เร็วกว่ากลุ่มของอะลิฟาติก ไฮโดรคาร์บอน และกลุ่มของอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนชนิดที่โมเลกุลมีกิ่งก้านจะถูกย่อยสลายเร็วกว่าชนิดที่เป็นโซ่ตรงเป็นต้น ช่วงความยาวคลื่นแสงที่มีผลต่อการย่อยสลายน้ำมันเป็นคลื่นแสงช่วงอุลตราไวโอเล็ต ส่วนช่วงความยาวคลื่นที่มากกว่า 350 นาโนเมตร จะไม่มีผลต่อการย่อยสลายของน้ำมัน ผลึกภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกริยานี้ ได้แก่ กรดคาร์บอกซิลิก แอลกอฮอล์ ติโตน และฟีนอล ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดีกว่าน้ำมัน

## 3.2.2 กระบวนการทางชีวภาพ (เกคินี สรรวานิช, 2534)

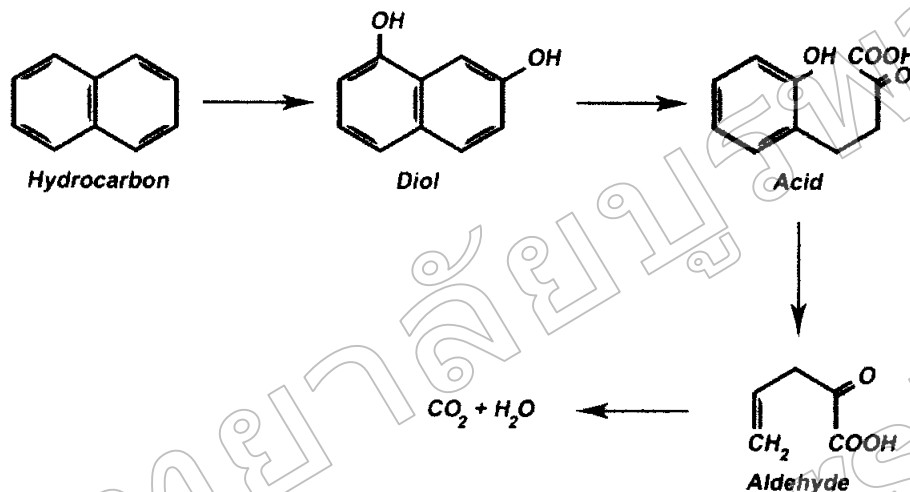
### 3.2.2.1 การย่อยสลายโดยจุลชีพ

ไฮโดรคาร์บอนและอนุพันธ์จะถูกจุลชีพย่อยสลายในอัตราที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของสารไฮโดรคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมัน จำนวนหรือปริมาณจุลชีพ รวมทั้งสภาพแวดล้อมต่างๆ การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ความเค็ม คลื่น และแสงแดด จะส่งผลกระทบต่ออัตราการย่อยสลายของจุลชีพ และยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอีกด้วย

การเพิ่มอุณหภูมิของแหล่งน้ำมีผลทำให้มีอัตราการเจริญของจุลชีพเพิ่มมากขึ้น ซึ่งหมายถึงอัตราการย่อยสลายมีค่าเพิ่มขึ้นด้วยนั่นเอง อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นนั้นทำให้อัตราการระเหยของไฮโดรคาร์บอนสูงขึ้น และยังทำให้ความหนืดของน้ำมันลดลง เป็นผลให้น้ำมันเกิดอิมัลชันได้มากขึ้น

สำหรับกลไกในการย่อยสลายน้ำมันโดยจุลชีพนั้น จะแตกต่างกันไปตามชนิดของไฮโดรคาร์บอน ตัวอย่างเช่น ในการศึกษาถึงแนวทางในการย่อยสลายของสารพวกอะโรมาติกและอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน (ภาพที่ 9) พบว่าในขั้นแรกสารอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไดออล จากนั้นจะมีการแตกของวงแหวนได้เป็นกรดและอัลดีไฮด์ ตามลำดับ ส่วน

สารพวกอัลเคนจะถูกออกซิไดซ์เป็นแอลกอฮอล์ และกรดไขมัน ซึ่งในที่สุดจะถูกจุลชีพใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตและให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์



ภาพที่ 9 กลไกการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนโดยจุลชีพ

ที่มา : ดัดแปลงจาก เกศินี สรรวานิช (2534)

### 3.2.2.2 การดูดซับและสะสมโดยสิ่งมีชีวิต

สารไฮโดรคาร์บอนจากน้ำมันที่สามารถเข้าสู่สิ่งมีชีวิตได้จะอยู่ในลักษณะต่างๆ คือ ในรูปของสารละลาย คราบน้ำมันที่ลอยอยู่ที่ผิวน้ำ ออนุภาคที่กระจายในน้ำและในรูปแบบของตะกอน เป็นต้น โดยมีการถ่ายทอดสู่ห่วงโซ่อาหารจากกระบวนการต่างๆ ดังนี้

- การดูดซับบนอนุภาคต่างๆ ที่ลอยอยู่ในน้ำ
- การดูดซับสารไฮโดรคาร์บอนที่ละลายหรือที่กระจายในน้ำเข้าสู่ร่างกายโดยทางเหงือก
- การกลืนหรือกินน้ำที่มีไฮโดรคาร์บอนปนเปื้อนอยู่เข้าไปโดยตรง

### 3.3 ผลกระทบของน้ำมันต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

การรั่วไหลของน้ำมันดิบสู่สิ่งแวดล้อมทั้งจากเรือ รถบรรทุกน้ำมัน คลังน้ำมัน หรือขั้นตอนการส่งถ่ายลงสู่แหล่งน้ำหรือพื้นดิน ย่อมก่อให้เกิดผลกระทบหรือความเสียหายต่อทรัพยากรสิ่งแวดล้อมด้านต่างๆ ตลอดจนความเสียหายต่อทรัพย์สินของมนุษย์ (ชรัตน์ รุ่งเรืองศิลป์, 2533)

### 3.3.1 ผลกระทบของน้ำมันที่มีต่อสิ่งแวดล้อมทางบก

กรณีการรั่วไหลสู่สภาพแวดล้อมภายนอก โดยเฉพาะเมื่อซึมลงดินผ่านช่องว่างในดินจะทำให้ช่องว่างของดินเต็มไปด้วยน้ำมัน ถ้าเป็นน้ำมันชนิดที่มีความหนืดสูงเมื่อซึมลงดินจะทำให้ดินบริเวณนั้นไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการเพาะปลูกได้ เนื่องจากน้ำมันจะเคลือบที่ผิว (surface area) ของอนุภาคต่างๆ ของดินจนไม่สามารถปลดปล่อยธาตุอาหารให้พืชได้ (Bossert and Compeau, 1995) ส่วนความรุนแรงและระยะเวลาของผลกระทบของน้ำมันขึ้นอยู่กับชนิดของดินที่ถูกปนเปื้อน น้ำมันดิบสามารถเคลื่อนที่ในระบบนิเวศที่มีความชื้นหรือในดินที่มีการระบายน้ำได้ดี ยิ่งไปกว่านั้น ผลกระทบของน้ำมันยังขึ้นอยู่กับคุณสมบัติและปริมาณของน้ำมันอีกด้วย องค์ประกอบของน้ำมันที่มีจุดเดือดต่ำจะเคลื่อนย้ายออกจากระบบนิเวศได้อย่างรวดเร็วเพราะเกิดการระเหยและชะล้าง ดังนั้นผลกระทบของน้ำมันที่ปนเปื้อนส่วนใหญ่เป็นผลมาจากองค์ประกอบที่มีจุดเดือดสูง และยังพบว่าน้ำมันที่ปริมาณสูงจะไปยับยั้งการเจริญและการออกของเมล็ดพืชชนิดต่างๆ ด้วย (Zuofa et al., 1988)

นอกจากนี้ น้ำมันดิบจะไปยับยั้งกระบวนการหายใจของจุลินทรีย์และการใช้ซัพเสตรที่มิใช่ไฮโดรคาร์บอน เช่นการสร้าง ATP (ATP production) กิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase activity) เป็นต้น (Pfaender and Buckley, 1984) อย่างไรก็ตาม พบว่ามีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโตและกิจกรรมต่างๆ โดยกลุ่มจุลินทรีย์สามารถใช้ไฮโดรคาร์บอนจะเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่กลุ่มจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถใช้ไฮโดรคาร์บอนจะลดจำนวนลง (Sexstone and Atlas, 1977; Bossert and Bartha, 1984)

ส่วนผลกระทบของน้ำมันที่มีต่อสัตว์ (ภาพที่ 10) พบว่าสัตว์จะมีความไวต่อพิษมากกว่าพืชเนื่องจากสัตว์มีอัตราการเมตาบอลิซึมสูง โดยน้ำมันที่เคลือบอยู่บนผิวของสัตว์หรือตัวกลางในสิ่งแวดล้อม ทำให้ขัดขวางการเคลื่อนที่ของสัตว์และเป็นสาเหตุให้เกิดการเจ็บป่วย Duffus (1980) รายงานว่า ไฮโดรคาร์บอนที่มีจุดเดือดต่ำจะทำให้สัตว์ขนาดเล็กสลบหรือเกิดอาการมึนงง ส่วนไฮโดรคาร์บอนที่มีจุดเดือดสูงจะทำให้เกิดโรกระบบทางเดินหายใจ ในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังพบว่าองค์ประกอบของน้ำมันที่ไม่ละลายน้ำจะมีพิษโดยเข้าสู่เหงือกหรือผิวหนังผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ไปสะสมอยู่ที่ตับและกระเพาะปัสสาวะ ตัวอย่างเช่น ขนของนกที่ถูกปกคลุมด้วยน้ำมันจะสูญเสียความสามารถในการปกป้อง ในสัตว์ชนิดอื่นอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนจะไปยับยั้งการสร้างเม็ดเลือดในไขกระดูกเป็นเหตุให้ระบบทางเดินหายใจติดขัด รวมทั้งทำให้ระบบประสาทขัดข้องด้วย (Cooney et al., 1976; Bertrand et al., 1993)



ภาพที่ 10 ตัวอย่างสัตว์ที่ได้รับผลกระทบจากน้ำมันที่รั่วไหลสู่แหล่งน้ำที่มา :

ภาพ 10-1 : <http://www.teako170.com/projects3.html>

ภาพ 10-2 : [http://news.bbc.co.uk/olmedia/295000/images/\\_298608\\_exxon3002.jpg](http://news.bbc.co.uk/olmedia/295000/images/_298608_exxon3002.jpg)

ภาพ 10-3 : [http://www.notre-planete.info/actualites/images/presse/IFAW\\_marenoire.jpg](http://www.notre-planete.info/actualites/images/presse/IFAW_marenoire.jpg)

ภาพ 10-4 : <http://www.greenpeace.it/newsdatabase/499.jpg>

### 3.3.2 ผลกระทบของน้ำมันที่รั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ

ผลกระทบที่เกิดขึ้นทางน้ำจะมีความรุนแรงมากกว่าผลกระทบที่มีต่อสิ่งแวดล้อมทางบก เนื่องจากในแหล่งน้ำจะมีทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งมีชีวิตที่เกี่ยวข้องมากมาย ซึ่งผลกระทบที่เกิดขึ้นมีดังนี้

#### 3.3.2.1 ผลกระทบด้านกายภาพ

กรณีที่น้ำมันหกและรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ น้ำมันจะลอยตัวอยู่บนผิวน้ำ เนื่องจากความตึงผิวของน้ำมันต่ำกว่าน้ำ ดังนั้นผลกระทบที่เกิดขึ้นในเบื้องต้นคือผลกระทบทางกายภาพ ได้แก่

1) ขัดขวางการส่องผ่านของแสงที่ลงสู่ท้องน้ำ  
น้ำมันที่รั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำจะบดบังหรือกั้นแสงอาทิตย์ไม่ให้ส่องผ่านลงไปใต้น้ำได้ ทำให้สิ่งมีชีวิตจำพวกผู้ผลิตหรือพืชที่อยู่ใต้น้ำไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้

2) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำลดลง  
เนื่องจากน้ำมันซึ่งแผ่กระจายปกคลุมที่ผิวน้ำจะทำหน้าที่คล้ายเป็นแผ่นฟิล์มหรือกำแพงกั้นระหว่างน้ำกับอากาศ (physical barrier) ทำให้ออกซิเจนจากอากาศไม่สามารถละลายลงสู่แหล่งน้ำได้

3) ความร้อนของน้ำสูงขึ้น  
น้ำมันชนิดที่มีสีทึบ เช่น น้ำมันดิบ น้ำมันเตา เป็นต้น มีคุณสมบัติในการดูดซับความร้อน (heat absorption) จากแสงอาทิตย์ได้ดีกว่าน้ำมันชนิดที่มีสีจางกว่า ส่งผลให้น้ำมีอุณหภูมิสูงขึ้นกว่าปกติ

### 3.3.2.2 ผลกระทบด้านชีวภาพ

น้ำมันทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นน้ำมันดิบ น้ำมันเบนซิน น้ำมันดีเซล น้ำมันเตา หรือชนิดอื่นๆ จะมีสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย (ปราโมทย์ ไชยเวช, 2537) ซึ่งไฮโดรคาร์บอนนี้เมื่อละลายลงสู่แหล่งน้ำย่อมก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตจำพวกพืชและสัตว์น้ำได้เช่นเดียวกัน Thomas et al. (1979) รายงานว่า ไฮโดรคาร์บอนที่ละลายน้ำในปริมาณมากจะทำให้กระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชจำพวกสาหร่ายลดลงประมาณ 50% และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ (cellular membrane) สูญเสียธาตุโพแทสเซียมและแมงกานีส Baker (1990) รายงานว่า อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนเป็นพิษต่อสาหร่าย ตัวอย่างเช่น *Anabaena doliolum* ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากลำดับส่วนอะโรมาติกจะไปมีผลต่อไมโทคอนเดรีย เช่นเดียวกับที่ Samiullah (1989) พบว่าการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายไวต์ต่อน้ำมันมากกว่าการหายใจ โดยทั่วไปสาหร่ายเซลล์เดียวจะตายเมื่อมีความเข้มข้นของสารพิษ  $1 \times 10^{-4}$  มิลลิกรัมต่อลิตรของน้ำ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าที่ความเข้มข้นของน้ำมันดิบต่ำๆ อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae) บางสายพันธุ์จะเพิ่มสูงขึ้น (Singh and Gaur, 1990)

Stanley และคณะ (1979) ทำการศึกษาโดยใช้น้ำมัน cook inlet ทดลองกับสัตว์น้ำประเภทต่างๆ พบว่าถ้าปลาผิวน้ำและกุ้งได้รับสารนี้ในปริมาณระหว่าง 1-3 มก. เกินกว่า 96 ชั่วโมง จะเป็นอันตรายถึงชีวิต ส่วนสัตว์หน้าดิน เช่น ปลาขนาดเล็ก ปู และหอยแครง หากได้รับสารนี้ระหว่าง 3-8 มก. เกินกว่า 96 ชั่วโมง จะเป็นอันตรายถึงชีวิตเช่นกัน นอกจากนี้น้ำมันยังมีผลทำให้คุณภาพน้ำต่ำลงจนไม่เหมาะต่อการอุปโภคบริโภค รวมทั้งยังมีผลต่อแหล่งอาหารและการวางไข่ของสัตว์น้ำด้วย สำหรับพวกแพลงก์ตอน (plankton) ไข่และตัวอ่อนของสัตว์น้ำซึ่งไม่

สามารถเคลื่อนย้ายหนีได้สะดวกเหมือนสัตว์น้ำขนาดใหญ่ก็จะได้รับผลกระทบจากมลพิษของน้ำมันอย่างแน่นอน และขณะเดียวกันก็อาจมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำด้วย (Dennis, 1979)

กรณีที่น้ำมันถูกพัดพาเข้าสู่พื้นที่ป่าชายเลนหรือป่าโกงกางจะเกิดผลกระทบต่อแหล่งเพาะฟักตัวอ่อนในบริเวณดังกล่าวด้วย ในส่วนของป่าชายเลนจะได้รับผลกระทบเช่นเดียวกัน ซึ่งระดับความรุนแรงของผลกระทบจะขึ้นอยู่กับประเภทของน้ำมัน ปริมาณและการตกค้างของน้ำมันในป่าชายเลนว่ามากน้อยเพียงไร โดยน้ำมันจะแทรกซึมเข้าสู่รากของต้นไม้โกงกางและหากน้ำมันตกค้างอยู่ในตะกอนดินในป่าชายเลนจะทำให้เมล็ดของต้นไม้โกงกางที่ตกสู่พื้นไม่สามารถงอกหรือเจริญเติบโตได้

### 3.2.2.3 ผลกระทบด้านเศรษฐกิจและสังคม

ผลกระทบที่ต่อเนื่องมาจากผลกระทบทางด้านกายภาพและชีวภาพ ได้แก่ ผลกระทบต่อแหล่งเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งเป็นผลมาจากมลพิษของน้ำมันทำให้คุณภาพน้ำต่ำลงและผลผลิตที่ได้ลดลง ผลกระทบที่เกี่ยวกับความเดือดร้อนรำคาญจากคราบสกปรกของน้ำมันที่ลอยไปติด สุดท้ายคือผลกระทบด้านสุนทรียภาพและความงามของแหล่งท่องเที่ยวซึ่งถูกคราบน้ำมันรบกวน

#### 4. การวิเคราะห์ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

ไฮโดรคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันมีมากมายหลายชนิด และมีจำนวนอะตอมของคาร์บอนแตกต่างกันไป ตั้งแต่  $C_1$ - $C_{70}$  ทำให้ไฮโดรคาร์บอนแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 8 ดังนั้นเทคนิคในการวิเคราะห์เพียงวิธีใดวิธีหนึ่งจึงไม่สามารถใช้วิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอนได้ทั้งหมด เพราะแต่ละวิธีจะมีลักษณะเฉพาะในด้านหลักการและความสามารถในการวิเคราะห์ ดังนั้นการเลือกวิธีที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการวิเคราะห์ อย่างไรก็ตามสามารถสรุปวิธีการซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ไฮโดรคาร์บอน ได้ดังนี้

เทคนิคการชั่งน้ำหนัก (gravimetric) เป็นการวิเคราะห์เชิงปริมาณในรูปของน้ำมันและกรีซ (grease) โดยการสกัดสารพอกน้ำมันด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ แล้วระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออกจนหมดจึงชั่งน้ำหนักของน้ำมันส่วนที่เหลืออยู่ การวิเคราะห์โดยวิธีชั่งน้ำหนักนี้เหมาะกับตัวอย่างที่มีปริมาณน้ำมันอยู่ในช่วง 5 – 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่น น้ำทิ้งจากชุมชนเมือง และเรือ เป็นต้น

เทคนิคอุตราไวโอเลตแอบซอร์ปชันสเปกโตรเมตรี (UV absorption spectrometry) เป็นเทคนิคที่ใช้หาปริมาณไฮโดรคาร์บอนโดยเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงอุตราไวโอเลต (ที่ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร) ของสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน โดยวิธีการสร้างกราฟมาตรฐาน เทคนิคนี้เหมาะกับตัวอย่างที่มีสารไฮโดรคาร์บอนมากกว่า 10 ไมโครกรัมต่อลิตร

เทคนิคฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรเมตรี (UV-fluorescence spectroscopy, UVF) เทคนิคนี้เป็นการวัดค่าความเข้มฟลูออเรสเซนซ์แทนการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยสารประกอบที่มีโครงสร้างแบบอะโรมาติกเมื่อดูดกลืนคลื่นแสงช่วงอุตราไวโอเลต (310 นาโนเมตร) จะมีการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานภายใน เมื่อกลับลงสู่สภาวะเดิมจะมีการคายคลื่นแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่มีความถี่เฉพาะแตกต่างกันออกมา โดยสารแต่ละชนิดจะมีค่าพลังงานกระตุ้นและคลื่นแสงที่คายออกมาเฉพาะแตกต่างกัน เทคนิคนี้เหมาะสำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณไฮโดรคาร์บอนสูงกว่า 10 ไมโครกรัมต่อลิตรเช่นเดียวกับกับเทคนิคอุตราไวโอเลตแอบซอร์ปชันสเปกโตรเมตรี แต่เทคนิคนี้จะมีควมไวต่อการวิเคราะห์มากกว่า จึงเป็นเทคนิคที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์ปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในน้ำทะเล

เทคนิคอินฟราเรดแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมตรี (IR absorption spectrophotometry) เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงช่วงอินฟราเรดของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ ที่ความยาวคลื่นในช่วงความถี่ของ C-H stretching เทคนิคนี้เหมาะกับตัวอย่างที่มีปริมาณไฮโดรคาร์บอนต่ำๆ และสามารถวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรคาร์บอนที่มีความเข้มข้นประมาณ 1ppb ในตัวอย่างน้ำ 6 ลิตร ได้

เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันมากทั้งในด้านการวิเคราะห์เชิงปริมาณและคุณภาพ การวัดอาศัยเทคนิคในการแยกองค์ประกอบและเปรียบเทียบเวลา และลักษณะพีคในสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน เทคนิคนี้เหมาะกับการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ต้องการทราบถึงรายละเอียดลักษณะ โครมาโทแกรมของสารไฮโดรคาร์บอน

เทคนิคไฮเปอร์ฟอร์แมนซ์ลิกวิดโครมาโทกราฟี (high performance liquid chromatography, HPLC) เป็นเทคนิคหนึ่งของลิกวิดโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ที่ใช้ความดันช่วยทำให้เฟสเคลื่อนที่ไหลได้เร็วขึ้นโดยไม่ทำให้ประสิทธิภาพของคอลัมน์ลดลง การวิเคราะห์ทางคุณภาพและปริมาณสามารถทำได้เช่นเดียวกับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยการเปรียบเทียบค่ารีเทนชันไทม์ (retention time) และการวัดขนาดของพีคของสารตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐาน

เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี เป็นเทคนิคที่สามารถให้รายละเอียดเกี่ยวกับน้ำหนักโมเลกุลและโครงสร้างอย่างกว้างของสารไฮโดรคาร์บอน โดยสารตัวอย่างที่ถูกแยกเป็นองค์ประกอบย่อยจากเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีจะเข้าสู่เครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ที่ละองค์ประกอบ และจะถูกทำให้แตกออกเป็นส่วนย่อยๆ โดยกระแสอิเล็กตรอนพลังงานสูง แมสสเปกตรัมที่ได้จะมีรูปแบบแตกต่างกันในแต่ละสารประกอบ เทคนิคนี้มักวิเคราะห์ควบคู่ไปกับวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีเพื่อเป็นการยืนยันผลการวิเคราะห์ทางคุณภาพ (เกศินี สรรวานิช, 2534)



ตารางที่ 8 วิธีการวิเคราะห์ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในแหล่งน้ำ

วิธีการวิเคราะห์	ชนิดของสารที่วิเคราะห์	ปริมาณของน้ำตัวอย่าง (ลิตร)	ข้อดี	ข้อเสีย
ชั่งน้ำหนัก	สารที่ไม่ระเหยง่ายที่อุณหภูมิห้อง	1 - 4	วิธีวิเคราะห์และเครื่องมือที่ใช้มีความง่ายและสะดวก	ไม่สามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นในช่วง 0.3 – 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
อุตสาหกรรมไฮโดรคาร์บอน ซอพชั่นสเปกโตรเมตรี	คอนจูเกตโพลีอิลคีนอะโรมาติก	1	เหมาะสมกับตัวอย่างที่มีความเข้มข้น > 10 ไมโครกรัมต่อลิตร	- ไม่ให้รายละเอียดของนอร์มัลอัลเคน - ความไวในการวิเคราะห์น้อยกว่าวิธีฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรเมตรี
ฟลูออเรสเซนซ์สเปกโตรเมตรี	สารประกอบไม่อิ่มตัวอะโรมาติก	1	เหมาะสมกับตัวอย่างที่มีความเข้มข้น > 10 ไมโครกรัมต่อลิตร	ไม่ให้ข้อมูลของนอร์มัลอัลเคน
อินฟราเรดสเปกโตรเมตรี	เมทิล, เมไธลีนคาร์บอนิลอะโรมาติก	1 - 4	ให้รายละเอียดเกี่ยวกับฟังก์ชันัลกรุป เช่น ซิลิโคน, พลาสติกไฮเออร์	ไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความเข้มข้น > 3 ไมโครกรัมต่อลิตรได้
แก๊สโครมาโตกราฟี	วิเคราะห์ชนิดของไฮโดรคาร์บอน	1 - 20	การวิเคราะห์รวดเร็วและให้ผลที่น่าเชื่อถือ	ให้รายละเอียดเกี่ยวกับการข่อยน้ำมันน้อย
แก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี	ไฮโดรคาร์บอนแต่ละชนิด	1 - 10	วิเคราะห์สารไฮโดรคาร์บอนแต่ละชนิดได้แน่นอน	เครื่องมือที่ใช้มีความยุ่งยากซับซ้อนและมีราคาแพงมาก
HPLC (high performance liquid chromatography)	ชนิดของไฮโดรคาร์บอน	-	การเตรียมตัวอย่างก่อนฉีดไม่ยุ่งยาก ไม่มีข้อจำกัดว่าต้องเป็นสารที่ระเหยได้	เครื่องมือมีส่วนประกอบที่ซับซ้อนและราคาแพง

ตารางที่ 9 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์หาปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในแหล่งน้ำ

ตัวอย่าง	สถานที่ศึกษา	วิธีวิเคราะห์	ปริมาณไฮโดรคาร์บอน	อ้างอิง
น้ำทะเล	Nova Scotia และ	ฟลูออเรสเซนซ์สเปก		Gordon, et al.
- ผิวน้ำ	Burmuda	โตรสโคปี	20.4	(1974)
- ลึก 1 เมตร			0.8	
- ลึก 5 เมตร			0.4	
น้ำทะเล (1 เมตร)	ทะเลเหนือ	ฟลูออเรสเซนซ์สเปก	1.11 – 7.4	Law (1981)
		โตรสโคปี		
น้ำทะเล	ทะเลอันดามัน	ฟลูออเรสเซนซ์สเปก		Topgi, et al.
- ผิวน้ำ		โตรสโคปี	51.0	(1981)
- ลึก 10 เมตร			55.0	
น้ำทะเล	เปอร์โตริโก	ฟลูออเรสเซนซ์สเปก	0.16 – 4.68	Corredor, et al.
		โตรสโคปี		(1983)
น้ำและอนุภาค	Carteau Bay	ซั่งน้ำหนักและแก๊ส	0.47 (ม.ย.)	Siron, et al.
แขวนลอย		โครมาโทกราฟี	0.42 (ก.ย.)	(1987)
			0.57 (ก.พ.)	
อนุภาคแขวนลอย	อ่าวเม็กซิโก	แก๊สโครมาโทกราฟี		Mecko, et al.
- ระยะจากฝั่ง 10 กม.		เมสสเปกโตรเมตรี	1.91	(1987)
- ระยะจากฝั่ง 20 กม.			1.46	
- ระยะจากฝั่ง 90 กม.			1.02	
น้ำทะเล	ชายฝั่งทะเลเมดิ	ฟลูออเรสเซนซ์สเปก	0.5 – 1.1	Merchand, et al.
	เตอร์เรเนียน	โตรสโคปี		(1988)
ดินตะกอน	White House Cove	แก๊สโครมาโทกราฟี	96	Voudrias and
	Sarah Creek		119	Smith (1986)
	Carter Creek		30	
ดินตะกอน	Coatzacoalcos	แก๊สโครมาโทกราฟี	0.93 – 7.4	Farran, et al.
	River, Mexico	และฟลูออเรสเซนซ์	(นอร์มัลอัลเคนรวม)	(1987)
		สเปกโตรสโคปี	0.22 – 3.2	
			(อะโรมาติกรวม)	

ตารางที่ 9 (ต่อ)

ตัวอย่าง	สถานที่ศึกษา	วิธีวิเคราะห์	ปริมาณไฮโดรคาร์บอน	อ้างอิง
น้ำทะเล (ผิวน้ำ) ดินตะกอน	อ่าวไทย	แก๊สโครมาโทกราฟี	16 – 614 0.4 – 11.7 (นอร์มัลพาราฟิน)	วีรย์ สวัสดิชาติ (2521)
น้ำทะเล (1 เมตร) ดินตะกอน	อ่าวไทย	ฟลูออเรสเซนซ์สเปก โทรสโคปี	0.37 – 1.42 (เทียบกับโครซีน)	มนูวดี หังสพฤกษ์ (2522)
น้ำทะเล (1 เมตร) ดินตะกอน	อ่าวไทย	ฟลูออเรสเซนซ์สเปก โทรสโคปี	0.4 – 0.5 0.00 – 0.03 (เทียบกับโครซีน)	อรศัย อินทร พานิษฐ์ (2522)
น้ำทะเล (1 เมตร) ดินตะกอน	อ่าวไทยตอนบน และชายฝั่งทะเล ตะวันออก	ฟลูออเรสเซนซ์สเปก โทรสโคปี	0.04 – 5.65 (เม.ย. – พ.ค.) 0.06 – 6.10 (ก.ย.) 0.01 – 1.82 (เทียบกับโครซีน)	เพ็ญใจสงพงษ์ชัย กุล และ สุภวัตร แซ่ถิ่ม (2526)
น้ำ (1 เมตร)	แม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ำบางปะกง แม่น้ำท่าจีน	ฟลูออเรสเซนซ์สเปก โทรสโคปี	0.02 – 0.43 (น้ำหลาก) 0.51 – 0.80 (น้ำน้อย) 0.06 – 0.40 (น้ำหลาก) 0.32 – 0.68 (น้ำน้อย) 0.26 – 0.55 (น้ำหลาก) 0.25 – 0.75 (น้ำน้อย) 0.17 – 0.83 (น้ำหลาก)	วัชรวิ ชาตภิตติคุณ วงศ์ (2529)
น้ำทะเล (1 เมตร) ดินตะกอน	อ่าวไทยตอนบน	ฟลูออเรสเซนซ์สเปก โทรสโคปี	0.65 – 8.30 0.70 – 62 (เทียบกับน้ำมันดิบ)	กัลยา วัฒนากร (2529)
น้ำทะเล (1 เมตร)	ชายฝั่งทะเล ตะวันออก (พัทลุง – ตรัง)	ฟลูออเรสเซนซ์สเปก โทรสโคปี	0.02 – 5.29 (ชายฝั่ง) 0.01 – 0.71 (ห่างฝั่ง)	ศรันย์ เพ็ชรพิรุณ (2531)

## ตารางที่ 9 (ต่อ)

ตัวอย่าง	สถานที่ศึกษา	วิธีวิเคราะห์	ปริมาณไฮโดรคาร์บอน	อ้างอิง
ดินตะกอน	ปากแม่น้ำเจ้าพระยา และท่าเรือคลองเตย	แก๊สโครมาโทกราฟี	0.4 – 45.0 (นอร์มัลอัลเคนรวม) 0.6 – 8.7 (อะโรมาติกรวม)	รัญญา วิรุพผล (2533)

หมายเหตุ : สำหรับน้ำตัวอย่างและอนุภาคแขวนลอยมีหน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อลิตร ( $\mu\text{g/L}$ )

: สำหรับตัวอย่างดินตะกอนมีหน่วยเป็น ไมโครกรัมต่อกรัม ( $\mu\text{g/g}$ )

ที่มา : เกศินี สรรวานิช (2534)

## 5. วิธีการกำจัดคราบน้ำมัน

การกำจัดคราบน้ำมันมีหลายวิธีดังนี้

5.1 การเผา (ภาพที่ 11) การใช้วิธีนี้ควรใช้ฟางซัดน้ำมันแล้วนำขึ้นมาเผาในที่ๆ สามารถควบคุมการลุกลามได้

5.2 การใช้วัสดุดูดซับ เช่น ฟาง ขี้เลื่อย สารสังเคราะห์พวก โพลีโพรพิลีน หรือ โพลียูริเทน มีวิธีดังนี้ คือ โยนหรือโปรยวัสดุดูดซับลงไปบนผิวน้ำที่มีคราบน้ำมันลอยอยู่ น้ำมันจะถูกดูดซับเข้าไปไว้ในวัสดุดูดซับ จากนั้นทำการเก็บวัสดุดูดซับน้ำมันนั้นขึ้นมาจากน้ำแล้วนำไปฝังหรือเผาต่อไป

5.3 การตักหรือช้อน เป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อนแต่ต้องใช้แรงงานคนมาก เหมาะสำหรับการกำจัดคราบน้ำมันที่มีปริมาณน้อย (เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต, 2543)

5.4 การนำกลับมาใช้โดยการนำคราบน้ำมันขึ้นมาแล้วนำไปกลั่นใหม่ ทั้งนี้ น้ำมันที่แยกออกมาได้ควรมีคุณภาพดีพอสมควร ไม่หนืดมากจนปั๊มดูดไม่ได้ และไม่มีตะกอนของแข็งเจือปนมากเกินไป

5.5 การฝังในดิน เป็นการนำส่วนของสิ่งที่ปนเปื้อนคราบน้ำมันที่ไม่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์อีกครั้งได้ไปฝังในดิน ทั้งนี้สิ่งที่ฝังต้องมีน้ำมันปนอยู่ไม่เกิน 20% บริเวณที่ฝังควรอยู่ห่างไกลจากแหล่งน้ำธรรมชาติและบ่อน้ำบาดาล

5.6 การทำแลนด์ฟาร์ม เป็นวิธีที่อาศัยขบวนการตามธรรมชาติและวิธีทางชีวภาพช่วยในการย่อยสลายคราบน้ำมัน โดยนำน้ำมันมาฝังใต้พื้นดิน พื้นที่ที่ทำแลนด์ฟาร์มควรเป็นพื้นที่ที่ไม่มีคุณค่ามากนัก อยู่ไกลจากแหล่งน้ำธรรมชาติและมีระดับน้ำใต้ดินอยู่ลึก (วันดี เกษม โกสินทร์, 2537)

5.7 วิธีทางเคมี คือการใช้สารเคมีช่วยกำจัดน้ำมัน แบ่งเป็น 2 ประเภทคือ

5.7.1 การลดความแตกต่างของแรงตึงผิว โดยใช้สารเคมีประเภทดิสเพอร์แซนต์ (dispersant) ทำให้แรงตึงผิวของน้ำมันมีค่าใกล้เคียงกับน้ำทะเล และคราบน้ำมันจะถูกคลื่นตีแตกกระจายเป็นหยดเล็กๆ และแยกออกจากกัน ด้วยเหตุที่น้ำทะเลมีปริมาณมากกว่าน้ำมัน ความเข้มข้นของน้ำมันจึงลดลงอย่างรวดเร็ว และการลดความเข้มข้นของน้ำมันจะทำให้ปฏิกิริยาการย่อยสลายทางธรรมชาติเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วขึ้น เนื่องจากหยดน้ำมันมีขนาดเล็กมีพื้นที่ผิวในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำและแบคทีเรียมากขึ้น (วันดี เกษม โกสินทร์, 2537) ซึ่งสารเคมีที่ใช้เป็นสารเคมีที่มีไฮโดรคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลักดังนั้นก็มีส่วนให้เกิดความเป็นพิษหลงเหลืออยู่ในสิ่งแวดล้อมต่อไปอีก (ซรัตัน รุ่งเรืองศิลป์, 2533) ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวที่ใช้จึงควรเป็นสารพวกที่สามารถย่อยสลายได้เองด้วยกระบวนการทางชีวภาพ และไม่สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีกว่าน้ำมันดิบ รวมทั้งต้องไม่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ด้วย (Mulkins – Phillips and Stewart, 1974 อ้างโดย ปัญจพล ชีโนคม, 2543)

5.7.2 การทำให้จมน้ำ โดยสารเคมีที่ทำให้น้ำมันรวมตัวกันแล้วเกิดการตกตะกอน ซึ่งไม่นิยมใช้เนื่องจากก่อให้เกิดผลกระทบตามมาหลายอย่าง เช่นทำให้การย่อยสลายทางชีวภาพมีประสิทธิภาพลดลง และตะกอนน้ำมันคงตัวอยู่นานขึ้นมีผลต่อสิ่งมีชีวิตอื่นๆ (Dodd, 1974 อ้างโดย ปัญจพล ชีโนคม, 2543)

5.8 วิธีทางชีวภาพ ที่ผ่านมากการกำจัดคราบน้ำมันจะเป็นวิธีทางกายภาพและเคมีเป็นส่วนใหญ่ แต่ปัจจุบันมีผู้สนใจและระมัดระวังเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อมมากขึ้น จึงได้มีการศึกษาการใช้วิธีทางธรรมชาติมากขึ้น มีการนำเอาจุลินทรีย์ตามธรรมชาติมาช่วยในการกำจัดคราบน้ำมันครั้งใหญ่ ตัวอย่างคือ ครั้งที่เรือบรรทุกน้ำมันเอกซอลวัลเดซ (Exxon Valdez) ประสบอุบัติเหตุในบริเวณที่เรียกว่า ปรินซ์วิลเลียมซาวนด์ มลรัฐอลาสกา ประเทศสหรัฐอเมริกา (Braddock et al., 1995 อ้างโดย ปัญจพล ชีโนคม, 2543) ซึ่งการศึกษาในเรื่องนี้เริ่มขึ้นตั้งแต่ปี 1946 โดย Craude E Zobell ได้ศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ในธรรมชาติที่มีความสามารถในการใช้ไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตได้ และความสามารถในการใช้ไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับลักษณะทางเคมีของสารประกอบที่มีอยู่ในน้ำมันดิบ (ปัญจพล ชีโนคม, 2543)



ภาพที่ 11 การกำจัดน้ำมันที่รั่วไหลสู่แหล่งน้ำด้วยวิธีการเผา  
ที่มา :

ภาพ 11-1 : <http://www.flmnh.ufl.edu/fish/southflorida/mangrove/Impacts.html>

ภาพ 11-2 : <http://www.cashassociates.com/images/oilspill-1.JPG>

ภาพ 11-3, 11-4, 11-5 : <http://www.itopf.com/alternat.html>

ภาพ 11-6 : <http://www.disaster-management.net/pic/Oilship.jpg>

## 6. วิธีบำบัดทางชีวภาพ

การบำบัดความเป็นพิษของสารในกลุ่มปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนด้วยวิธีทางชีวภาพเป็นเทคโนโลยีหนึ่งที่น่ามาใช้ในการกำจัดสารปนเปื้อนที่ออกมาสู่สิ่งแวดล้อม และมีจุดประสงค์เพื่อที่จะเพิ่มอัตราการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนด้วยวิธีการย่อยสลายทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนตามธรรมชาติ โดยผลิตภัณฑ์สุดท้ายต้องเป็นสารที่ไม่มีพิษ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ มีการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรีย รา ยีสต์ และสาหร่ายมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ ได้ (อรวรรณวัฒน์, 2542) มีรายงานว่าไฮโดรคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันดิบส่วนใหญ่ ได้แก่ อะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน และอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ เมื่ออยู่ในสภาวะมีออกซิเจนในปริมาณที่เพียงพอ (Atlas, 1991 อ้างโดย ปัญจพล ชีโนดม, 2543)

เสาวนีย์ ธรรมสทธิ (2547) กล่าวว่า จุลินทรีย์สามารถเกิดกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ด้วยวัตถุประสงค์ 2 รูปแบบ คือ

- การย่อยสลายเพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยเซลล์สามารถใช้สารมลพิษเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนได้
- การย่อยสลายแบบการใช้เป็นสารร่วมในปฏิกิริยาการเผาผลาญ (cometabolism) โดยจุลินทรีย์จะใช้สารอาหารปกติทั่วไปเป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญเติบโต และขณะเดียวกันก็ย่อยสลายสารมลพิษได้ด้วยโดยไม่ถูกนำไปใช้ในการเจริญเติบโต

การบำบัดไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนด้วยวิธีการทางชีวภาพสามารถดำเนินการได้หลายวิธีทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ เช่น ความสามารถของเอนไซม์ของประชากรจุลินทรีย์ที่เติมลงไปย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อน การควบคุมปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการย่อยสลาย ปริมาณของออกซิเจนรวมถึงปริมาณของสารอาหารที่มีอยู่ ซึ่งล้วนแต่มีส่วนช่วยเพิ่มอัตราในการย่อยสลายของไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมทั้งสิ้น (Korda et al., 1997 อ้างโดย ปัญจพล ชีโนดม, 2543)

การเติมเชื้อจุลินทรีย์ (seeding) เป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายน้ำมันให้มากขึ้น เป็นการช่วยเร่งกระบวนการที่มีอยู่ในธรรมชาติให้เร็วขึ้นได้อีกวิธีหนึ่ง โดยเชื้อที่เติมควรเป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายองค์ประกอบที่มีอยู่ในน้ำมันได้เกือบทั้งหมด มีลักษณะทางพันธุกรรมคงที่ (genetic stability) เจริญเติบโตได้รวดเร็ว สามารถคงอยู่ได้ในระบบและทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี มีระบบเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพ สามารถที่จะแข่งขันกับจุลินทรีย์ท้องถิ่นได้ดี ไม่เป็นเชื้อก่อโรค (nonpathogenicity) รวมทั้งไม่ผลิตสารที่เป็นพิษอีกด้วย โดยการเติมเชื้อใน



ธรรมชาติส่วนใหญ่แล้วจะใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสม เนื่องจากเชื้อเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมได้อย่างสมบูรณ์ (Leathy and Colwell, 1990 อ้างโดย ปัญจพล ชีโนคม, 2543) การเติมสารอาหาร เช่น การเพิ่มปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสเข้าสู่บริเวณที่มีการปนเปื้อนของน้ำมัน เพื่อกระตุ้นหรือเพิ่มการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติ แต่ในทางปฏิบัติยังต้องคำนึงถึงผลกระทบที่มีต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นด้วย เช่น ความเป็นพิษต่อสัตว์ทะเล เป็นต้น (Atlas, 1991 อ้างโดย ปัญจพล ชีโนคม, 2543)

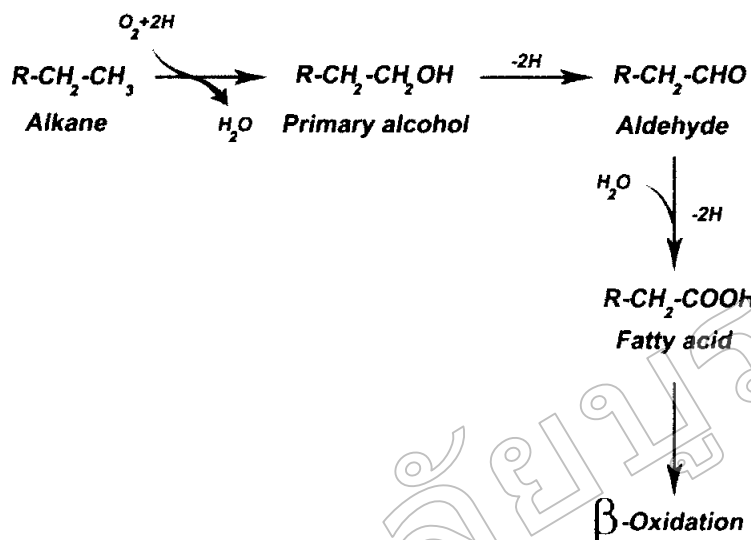
กลไกการย่อยสลายน้ำมันหรือสารประกอบไฮโดรคาร์บอนสามารถออกแบ่งได้เป็น 2 ประเภทตามองค์ประกอบของน้ำมันดิบ คือการย่อยสลายน้ำมันที่มีโครงสร้างเป็นสารประกอบอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน และที่มีโครงสร้างเป็นสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ซึ่งทั้ง 2 ประเภทนี้มีโครงสร้างและกลไกในการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน

#### 6.1 การย่อยสลายสารประกอบอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน

การย่อยสลายอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนโดยจุลินทรีย์นั้น อะลิฟาติกบางชนิดที่ปลายไม่มีหมู่เมทิลเกาะอยู่จะถูกย่อยสลายโดยเกิดปฏิกิริยา oxidation และ dehydrogenation มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นกรดไขมัน ซึ่งจะถูกลดลงโดยกลไกการเกิด  $\beta$  - oxidation ต่อไป (Atlas, 1988 อรวรรณ วัฒนโน, 2542) ในกรณีของการย่อยสลาย cyclohexane เกิดขึ้นโดยปฏิกิริยา hydroxylation โดยมีเอนไซม์ oxidase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา alicyclic alcohol จะเกิดการเปลี่ยนแปลงต่อไปโดยปฏิกิริยา dehydrogenation และ oxidation ได้เป็นสารประกอบ dicarboxylic acid ซึ่งจะเข้าสู่กลไกการเกิด  $\beta$  - oxidation ต่อไป ดังภาพที่ 12 (อรวรรณ วัฒนโน, 2542)

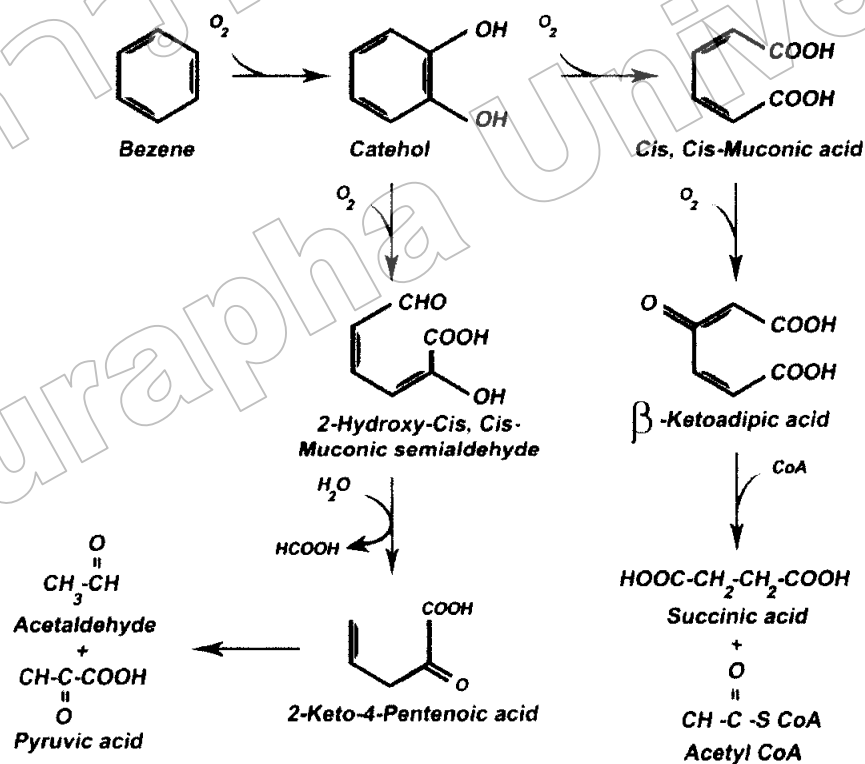
#### 6.2 การย่อยสลายสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

ขั้นตอนของกระบวนการเริ่มด้วยการย่อยสลายส่วนที่เป็น side chain แล้วจึงย่อยส่วนของ วงแหวนเบนซีน (สมศักดิ์ วังโน, 2528 อ้างโดย อรวรรณ วัฒนโน) ขบวนการย่อยดังกล่าวต้องการออกซิเจน ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องในขบวนการคือการเกิด oxidation และ ring cleavage สารเมตาบอไลต์ที่พบเกิดขึ้นในระหว่างที่มีการย่อยสลาย เช่น catechol ถูกเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น acetyl-coA หรือ pyruvic acid ซึ่งจะเข้าสู่ tricarboxylic acid cycle ต่อไป และในที่สุดหากขบวนการย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้ผลผลิตสุดท้ายคือคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ดังภาพที่ 13 (อรวรรณ วัฒนโน, 2542)



ภาพที่ 12 วิธีการย่อยสลายอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน

ที่มา : คัดแปลงมาจาก อรวรรณ วัฒนโน (2542)



ภาพที่ 13 วิธีการย่อยสลายอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

ที่มา : คัดแปลงมาจาก อรวรรณ วัฒนโน (2542)

## 7. เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัญญาพล ชีโนดม (2543) ศึกษาจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบ จากตัวอย่างดินปนเปื้อนน้ำมันและกากตะกอนจากบ่อน้ำบาดน้ำเสีย สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ได้ 3 สายพันธุ์คือ *Bacillus circulans*, *Pseudomonas alkaligenes* และ *Yarrowia* sp. ซึ่งทั้ง 3 ชนิดสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ โดยพบว่าสายพันธุ์ *Pseudomonas* sp. และ *Yarrowia* sp. สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ 80% และ 82% ตามลำดับ และพบอีกว่าในสภาวะเดียวกันเชื้อผสมสามารถย่อยสลายน้ำมันได้ดีกว่าเชื้อเพียงชนิดเดียว นอกจากนี้ยังได้ทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยสลายน้ำมัน พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8.0 อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 250 รอบต่อนาที ซึ่งสามารถทำให้ปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดลดลงได้ประมาณ 90% ภายในเวลา 3 วัน (ปัญญาพล ชีโนดม, 2543)

ศรีประภา ศุภจรัสวงศ์ (2541) ทำการคัดแยกจุลินทรีย์ 2 ชนิดที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันได้ดีจากระบบบำบัดน้ำเสียของโรงกลั่นน้ำมันบางจาก และสามารถจัดจำแนกได้เป็นสายพันธุ์ *Bacillus circulans* และ *Pseudomonas alcaligenes* โดยพบว่า *Pseudomonas alcaligenes* สามารถย่อยน้ำมันได้ดีกว่า *Bacillus circulans* และในระหว่างทำการศึกษา *Bacillus circulans* ได้พบการปนเปื้อนของเชื้อ *Yarrowia lipolytica* ซึ่งพบว่าสามารถย่อยสลายน้ำมันได้เร็วกว่าทั้ง *Bacillus circulans* และ *Pseudomonas alcaligenes* (ศรีประภา ศุภจรัสวงศ์, 2541)

อรวรรณ วัฒน (2541) ทำการคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบและสารประกอบ polycyclic aromatic hydrocarbon จากดินปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอน พบแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ พบว่า 2 สายพันธุ์อยู่ในสกุล *Pseudomonas* และอีก 2 สายพันธุ์อยู่ในสกุล *Acinetobacter* ทั้ง 4 สายพันธุ์ที่พบสามารถเจริญและย่อยสลายน้ำมันดิบได้นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการใช้ pyrene เป็นแหล่งพลังงานได้อีกด้วย (อรวรรณ วัฒน, 2541)

วันดี เกษมโกสินทร์ (2537) ศึกษาแบคทีเรียที่ย่อยสลายน้ำมันดิบที่แยกได้จากน้ำและตะกอนจากแหล่งต่างๆที่มีการปนเปื้อนน้ำมันดิบบริเวณท่าเรือแหลมฉบัง และบริษัทไทยออยล์ จำกัด พบว่าเป็นแบคทีเรียเหล่านี้เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น จัดอยู่ในแกรมลบ รูปท่อน ไม่หมักย่อยน้ำตาลกลูโคส ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Xanthomonas maltophila* และ *Flavobacterium menigosepticum* โดยพบว่า *P. aeruginosa* เป็นชนิดที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีที่สุด ขณะบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 4 วัน แต่ *X. maltophila* และ *F. menigosepticum* จะใช้เวลาในการย่อยนาน 7 วัน ส่วน *P. putida* ไม่สามารถย่อยน้ำมันดิบได้อย่างสมบูรณ์ (วันดี เกษมโกสินทร์, 2537)

Cohen (2002) ได้ทำการคัดแยกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 2 สายพันธุ์จากชายฝั่งแอฟริกาของอ่าวซุเอซ และใน Pristine Solar Lake ของ Sinai คือ *Phormidium* spp. และ *Oscillatoria* spp. ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ในสภาวะที่มีแสง แต่พบว่าไม่สามารถย่อยน้ำมันได้ในชุดการทดลองสายพันธุ์เดี่ยว (Cohen, 2002)

Iyer et al. (2005) ทำการศึกษาเกี่ยวกับการดูดซับโลหะหนักโดยแบคทีเรียในทะเล พบว่า exopolysaccharide ที่ถูกผลิตโดยแบคทีเรียที่อาศัยในทะเลสายพันธุ์ *Enterobacter cloacae* มีคุณสมบัติในการเกาะจับโลหะหนัก คือ แคดเมียม ทองแดง และ โคบอลต์ แต่ไม่สามารถเกาะจับปรอทได้ (Iyer et al., 2005)

Atlas (1995) พบว่าการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนตามธรรมชาติสามารถเกิดขึ้นได้โดยจุลชีพประจำถิ่นที่มีความสามารถนำไฮโดรคาร์บอนมาใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจากประชากรจุลชีพทั้งหมดในระบบนิเวศมีเพียง 1% เท่านั้นที่มีความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน แต่เมื่อมีมลพิษจากน้ำมันเข้าสู่สิ่งแวดล้อมจะทำให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 10% โดยการย่อยสลายโดยจุลชีพตามธรรมชาตินี้จะดำเนินไปอย่างช้าๆ จึงมีการวิจัยพัฒนาเพื่อเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายให้มากขึ้น โดยการเติมจุลชีพชนิดที่สามารถย่อยไฮโดรคาร์บอนอย่างมีประสิทธิภาพลงไปช่วยกระตุ้นให้เกิดการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้เร็วขึ้น แต่กระนั้นยังพบว่าการย่อยสลายยังคงมีอัตราที่ค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจึงมีการใช้ปุ๋ยเติมเข้าไปในสิ่งแวดล้อมนั้น เพื่อเพิ่มธาตุอาหารจำพวก ไนโตรเจน (N) และฟอสฟอรัส (P) เป็นการกระตุ้นให้จุลชีพมีธาตุอาหารเพิ่มขึ้นในการเจริญเติบโตและสามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้อย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Atlas, 1995)

Sardesai and Bhosle (2002) พบว่าแบคทีเรียในกลุ่มที่ทนตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent tolerant bacteria) เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญ เนื่องจากมีความสามารถในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ (bio-catalysis) ในกระบวนการหมักและการบำบัดไฮโดรคาร์บอนในน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมด้วยวิธีทางชีวภาพ จุลชีพหลายชนิดมีความสามารถในการย่อยสลายตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยวิธีทางชีวภาพ แต่มีขีดจำกัดความทนต่ำเพียง 0.3% (v/v) ซึ่งเป็นปัจจัยจำกัดที่สำคัญในการย่อยสลายทางชีวภาพในสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ แบคทีเรียในกลุ่มที่ทนตัวทำละลายอินทรีย์สามารถใช้เอนไซม์ในการลดปริมาณมลสารจำพวกเบนซีนและโทลูอีนลงได้ในความเข้มข้นระดับส่วนในล้านส่วน (part per million : ppm) นอกจากนี้ยังได้ทำการคัดแยกพบแบคทีเรียแกรมบวกสายพันธุ์ *Bacillus* ซึ่งมีความทนทานต่อตัวทำละลายอินทรีย์จำพวก n-butanol จากป่าชายเลน โดยพบว่ามีความสามารถในการย่อยสลายทั้งอะลิฟาติกและอะโรมาติก

ไฮโดรคาร์บอน อีกรังยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายทางชีวภาพ  
ด้วย (Sardesai and Bhosle, 2002)

มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. ตู้บ่มเชื้อ (incubator) รุ่น MIR - 553 ของบริษัท SANYO Electric Biomedical Co., Ltd., Japan
2. ตู้บ่มเชื้อ (incubator) รุ่น MIR - 262 ของบริษัท SANYO Electric Biomedical Co., Ltd., Japan
3. เครื่องเขย่า (shaker) รุ่น C 1 plat form shaker ของบริษัท New Brunswick Scientific Co.Inc., U.S.A.
4. ตู้ปลอดเชื้อแบบ laminar flow ของบริษัท Bosstech Scientific Instrument, Thailand
5. ตู้ปลอดเชื้อ ของบริษัท SANYO Electric Biomedical Co., Ltd., Japan
6. หม้อนึ่งความดัน รุ่น MLS - 3780 ของบริษัท ของบริษัท SANYO Electric Biomedical Co., Ltd., Japan
7. เครื่องซั่ง รุ่น cp3202 s ของบริษัท Satorius, U.S.A.
8. กล้องจุลทรรศน์ รุ่น DME ของบริษัท Leica Microsystems Inc., U.S.A.

## วิธีการศึกษา

### 1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างดินจากบริเวณชายฝั่งที่มีการปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในธรรมชาติ โดยเก็บตัวอย่างที่บริเวณท่าเรืออ่าวคุ้งกระเบนและท่าเรือปากแม่น้ำแฉมหนู อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี โดยสังเกตบริเวณที่มีคราบน้ำมันอยู่ เก็บตัวอย่างมาทำการทดลองทันที (ดัดแปลงจาก อรวรรณ วัฒน, 2542)

### 2. การเพิ่มความทนทาน (Tolerant)

นำตัวอย่างดิน 1 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อและน้ำมันดิบที่ฆ่าเชื้อแล้ว 90 และ 10 มิลลิลิตรตามลำดับ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที นาน 30 วัน (ดัดแปลงจาก Sardesai, 2002)

### 3. การเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ (Enrichment)

นำตัวอย่างใส่ในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเหลว LBMG broth ปริมาตร 90 มิลลิลิตร และน้ำมันดิบที่ฆ่าเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที จนเชื้อเจริญโดยสังเกตจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความขุ่นเพิ่มขึ้น (ดัดแปลงจาก อรวรรณ วัฒน, 2542)

### 4. การแยกเชื้อบริสุทธิ์ (Purified)

นำตัวอย่างมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ ด้วยเทคนิค streak plate ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ LBMG agar ซึ่งเกลี่ยผิวหน้าอาหารด้วยน้ำมันดิบ 0.1 % (v/v) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C จนสังเกตเห็นเชื้อจุลินทรีย์เจริญเป็น โคโลนีบนผิวหน้าอาหาร ได้เชื้อจุลินทรีย์ผสม (mixed cultures) หลังจากนั้นนำมาทำการแยกบริสุทธิ์เป็นเชื้อชนิดเดี่ยวๆ โดยคัดแยกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกันไปเลี้ยงในจานเลี้ยงเชื้อ LBMG agar ใหม่พร้อมทั้งกำหนดรหัสของเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C จนเชื้อเจริญเป็น โคโลนีเดี่ยว (pure cultures) นำส่วนหนึ่งของเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่แยกได้ไปเก็บรักษาไว้เป็นเชื้อสำรอง (stock cultured) (ดัดแปลงจาก อรวรรณ วัฒน, 2542)

### 5. การถ่ายสภาพโคโลนี

นำเชื้อที่ต้องการศึกษามาทำการฟื้นฟูสภาพเชื้อ (refresh) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LBMG broth บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C ทำการแยกเชื้อด้วยเทคนิค streak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ LBMG agar บ่มที่

อุณหภูมิ 30 °C บันทึกภาพโคโลนีของเชื้อแต่ละชนิดด้วยกล้องถ่ายภาพ โดยรองใต้จานเพาะเชื้อ ด้วยกระดาษสีดำ

## 6. การย้อมสีแกรม (Gram's stain)

เลี้ยงเชื้อที่ต้องการศึกษาในจานเพาะเชื้อที่มี LBMG agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C ใช้ลวดเขี่ยเชื้อแต่ละเชื้อที่ต้องการศึกษามาทำการกระจายบนแผ่นสไลด์ที่สะอาดที่มีน้ำกลั่นที่นำเชื้อแล้ว 1 loopful ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง นำไปผ่านเปลวไฟ 2 - 3 ครั้ง ย้อมสีด้วยสารละลายแกรม คริสตัลไวโอเลต (Gram's crystal violet solution) เป็นเวลา 1 นาที เทสีทิ้งแล้วย้อมด้วยสารละลาย แกรมไอโอดีน (Gram's iodine solution) เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นล้างสีส่วนเกินออกด้วย 95% เอทานอล เป็นเวลา 20 วินาที และล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วย้อมด้วยสารละลายแกรมซาฟรานิน โอ (Gram's safranin staining solution) เป็นเวลา 30 วินาที ล้างน้ำแล้วซับให้แห้ง นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์และบันทึกภาพ (ตัดแปลงจาก ปัญญาพล ชีโนดม, 2543)

## 7. การวัดอัตราการเจริญเติบโต

ทำการวัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อที่ต้องการศึกษาด้วยเทคนิค viable plate count โดยนำเชื้อที่ต้องการวัดอัตราการเจริญเติบโตมาทำการ refresh ในหลอดทดลองบรรจุอาหารเหลว LBMG broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงถ่ายเชื้อให้มีปริมาณเริ่มต้นเท่ากับ 5 % (v/v) ลงในอาหารเหลว LBMG broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C นาน 8 ชั่วโมงเพื่อให้อยู่ในช่วง log phase จากนั้นทำการถ่ายเชื้อลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตรที่บรรจุอาหารเหลว LBMG broth ที่มีน้ำมันดิบปริมาณ 10 % (v/v) ผสมอยู่โดยให้มีความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 5 % (v/v) บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C ความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที และทำการเก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมงโดยเริ่มจากชั่วโมงที่ 0 จนครบ 24 ชั่วโมง นำมาทำการวัดอัตราการเจริญเติบโต หลังจากนั้นนำค่าที่ได้มาเขียนกราฟแสดงอัตราการเจริญเติบโต และหาค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) (ตัดแปลงจาก ปัญญาพล ชีโนดม, 2543)



## บทที่ 4

### ผลและการวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 1. การคัดแยกจุลินทรีย์ที่คาดว่าสามารถย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้

จากการเก็บตัวอย่างดินจากบริเวณท่าเรืออ่าวคุ้งกระเบน และท่าเรือปากแม่น้ำแฉมหนู อ.ท่าใหม่ จ.จันทบุรี เมื่อวันที่ 15 ตุลาคม พ.ศ.2548 มาเพื่อทำการตรวจหาจุลินทรีย์ชนิดที่สามารถย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้ โดยเก็บตัวอย่างจากบริเวณที่มีคราบน้ำมันปนเปื้อน ในการคัดแยกเบื้องต้นด้วยวิธีการคัดแยกเชื้อที่สามารถทนทานต่อสิ่งแวดล้อมที่มีไฮโดรคาร์บอนปนเปื้อน ในปริมาณสูงพบว่า มีเชื้อจุลินทรีย์รอดชีวิตทั้งหมด 30 ชนิด โดยสังเกตความแตกต่างจากลักษณะโคโลนีเบื้องต้นของเชื้อ ดังตารางที่ 10 และ 11 สอดคล้องกับการรายงานของ Buckley et al. (1976) อ้างโดย ปัญจพล ชิโนคม (2543) ที่รายงานว่า จุลินทรีย์ที่สามารถคัดแยกได้จากบริเวณที่มีการปนเปื้อนน้ำมันส่วนใหญ่จะมีความสามารถในการเจริญได้ในไฮโดรคาร์บอน ซึ่งคาดว่าเซลล์ของจุลินทรีย์เหล่านี้มีกลไกในการปรับตัวต่อความเป็นพิษของไฮโดรคาร์บอนที่มีปริมาณสูงได้ โดยสันนิษฐานได้ว่าบางชนิดมีเพียงกลไกซึ่งช่วยป้องกันความเป็นพิษจากไฮโดรคาร์บอนได้เท่านั้น ในขณะที่บางชนิดมีกลไกที่สามารถนำไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมมาใช้ประโยชน์ในกิจกรรมของเซลล์เพื่อการเจริญเติบโตได้ ซึ่งข้อสันนิษฐานนี้ตรงกับการรายงานของ Atlas (1981) อ้างโดย ปัญจพล ชิโนคม (2543) ที่รายงานว่า จุลินทรีย์ที่พบในบริเวณที่เคยมีการปนเปื้อนน้ำมัน มักเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันได้

ต่อมาเมื่อทำการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ไว้เป็น stock cultured พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์รอดชีวิตเหลือเพียง 15 ชนิด คือ KB02, KB07, KB08, KB11, KB14, KB17, KN01, KN02, KN03, KN04, KN05, KN06, KN07, KN08 และ KN09 อาจเกิดจากสภาวะที่ใช้ในการเก็บรักษาไม่เหมาะสมหรือเชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถปรับตัวทนต่อสภาวะกดดันที่เปลี่ยนแปลงไปมากได้ เมื่อทำการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ในอุณหภูมิที่ต่ำกว่าสิ่งแวดล้อมปกติอาจทำให้เกิดจันต์จำกัดความทนทานของเชื้อนั้น อีกทั้งที่อุณหภูมิต่ำยังส่งผลให้น้ำมันมีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงไปโดยมีความหนืดเพิ่มมากขึ้น ทำให้ความสามารถในการเกิดอิมัลชันลดลง เป็นสาเหตุให้การย่อยสลายเกิดขึ้นช้าลง (Atlas and Bartha, 1972 อ้างโดย ปัญจพล ชิโนคม, 2543) นอกจากนี้ที่อุณหภูมิต่ำยังทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง เป็นผลให้เกิดการย่อยสลายลดลงตามไปด้วย (Floodgate, 1984 อ้างโดย ปัญจพล ชิโนคม, 2543) และยังสามารถส่งผลให้เซลล์จุลินทรีย์มีกลไกป้องกันความเป็นพิษของไฮโดรคาร์บอนผิดปกติไปหรือไม่สามารถดำเนินกิจกรรมได้ตามปกติ ทำให้ความเป็นพิษของไฮโดรคาร์บอนมีผล

ต่อเซลล์รุนแรงขึ้น โดยอาจไปทำการยับยั้งกระบวนการหายใจของจุลินทรีย์และการใช้ซัพสเตรทที่ไม่ใช่ไฮโดรคาร์บอน เช่น การสร้าง ATP กิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase activity) เป็นต้น (ปัญญาพล ชีโนคม, 2543) รวมทั้งการที่เซลล์อ่อนแอลงเนื่องจากสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนไปและไม่เหมาะสม ทำให้จุลินทรีย์นั้นไม่สามารถมีชีวิตรอดได้

ตารางที่ 10 ลักษณะโคโลนีของเชื้อซึ่งคัดแยกได้จากบริเวณท่าเรืออ่าวคุ้งกระเบนทั้งหมด 21 ชนิด

ชนิดที่	รหัสเชื้อ	ลักษณะโคโลนีเบื้องต้น			
		สี (colour)	รูปร่าง (form)	การยกตัว (elevation)	ขอบ (margin)
1	KB01	เหลืองมันเงา	circular	convex	entire
2	KB02	เหลืองอ่อนมันเงา	circular	convex	entire
3	KB03	เหลืองมันเงา	circular	convex	entire
4	KB04	ขาวมันเงา	circular	convex	entire
5	KB05	เหลืองมันเงา	circular	convex	entire
6	KB06	ขาวมันเงา	circular	convex	entire
7	KB07	ขาวโปร่งแสงมันเงา	circular	convex	entire
8	KB08	ขาวหยาบทึบแสง	circular	umbonate	undulate
9	KB09	เหลืองขาวมันเงา	circular	convex	entire
10	KB10	ขาวโปร่งแสงมันเงา	circular	convex	entire
11	KB11	เหลืองหยาบทึบแสง	circular	umbonate	undulate
12	KB12	เหลืองมันเงา	circular	convex	entire
13	KB13	ขาวโปร่งแสงมันเงา	circular	convex	entire
14	KB14	ขาวมันเงา	circular	convex	entire
15	KB15	เหลืองมันเงา	circular	convex	entire
16	KB16	เหลืองมันเงา	circular	convex	entire
17	KB17	ขาวเหลืองมันเงา	circular	convex	undulate
18	KB18	เหลืองมันเงา	circular	convex	entire
19	KB19	ขาวโปร่งแสงมันเงา	circular	convex	entire
20	KB20	ขาวทึบแสงมันเงา	circular	convex	entire
21	KB21	ขาวโปร่งแสงมันเงา	circular	convex	entire

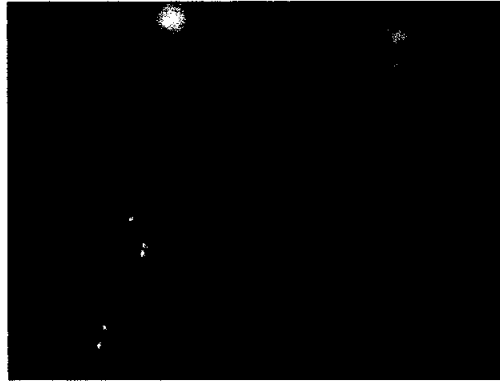
ตารางที่ 11 ลักษณะ โคลนีย์ของเชื้อซึ่งคัดแยกได้จากบริเวณท่าเรือปากแม่น้ำแควหนุมานทั้งหมด 9 ชนิด

ชนิดที่	รหัสเชื้อ	ลักษณะ โคลนีย์เบื้องต้น			
		สี (colour)	รูปร่าง (form)	การยกตัว (elevation)	ขอบ (margin)
1	KN01	ขาวทึบแสงมันเงา	circular	convex	entire
2	KN02	ฝ้าโปร่งแสง	irregular	raised	undulate
3	KN03	ฝ้าโปร่งแสง	irregular	raised	undulate
4	KN04	ฝ้าโปร่งแสง	irregular	raised	undulate
5	KN05	ฝ้าโปร่งแสง	irregular	raised	undulate
6	KN06	ขาวทึบแสงมันเงา	circular	convex	entire
7	KN07	ขาวขุ่นทึบแสงมันเงา	circular	convex	entire
8	KN08	ขาวขุ่นทึบแสงมันเงา	circular	convex	entire
9	KN09	ขาวมันเงา	circular	convex	entire

จากลักษณะ โคลนีย์ที่แตกต่างกันจึงสามารถคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่สนใจมาทำการศึกษา 3 ชนิดคือ รหัส KB08, KB11 และ KN09

## 2. การถ่ายภาพโคลนีย์

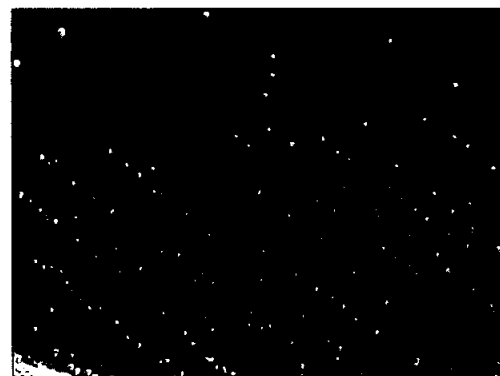
ทำการถ่ายภาพโคลนีย์บนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ LBMG agar โดยใช้เทคนิค streak plate บ่มที่อุณหภูมิ 30 °c จนกระทั่งเชื้อเจริญขึ้นเป็นโคลนีย์เดี่ยว ทำการบันทึกภาพโคลนีย์ของเชื้อแต่ละชนิดด้วยกล้องถ่ายภาพ โดยรองใต้จานเพาะเชื้อด้วยกระดาษสีดำ สามารถถ่ายภาพโคลนีย์ของเชื้อ 3 ชนิดที่ถูกคัดเลือกได้ดังภาพที่ 14, 15 และ 16



ภาพที่ 14 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรหัส KB08 ซึ่งมีสีขาวหยาบทึบแสง รูปร่างเป็นวงกลม (circular) การยกตัวเป็นแบบมีจุดยอด (umbonate) และขอบไม่เรียบ (undulate)



ภาพที่ 15 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรหัส KB11 ซึ่งมีสีเหลืองหยาบทึบแสง รูปร่างเป็นวงกลม (circular) การยกตัวเป็นแบบมีจุดยอด (umbonate) และขอบไม่เรียบ (undulate)



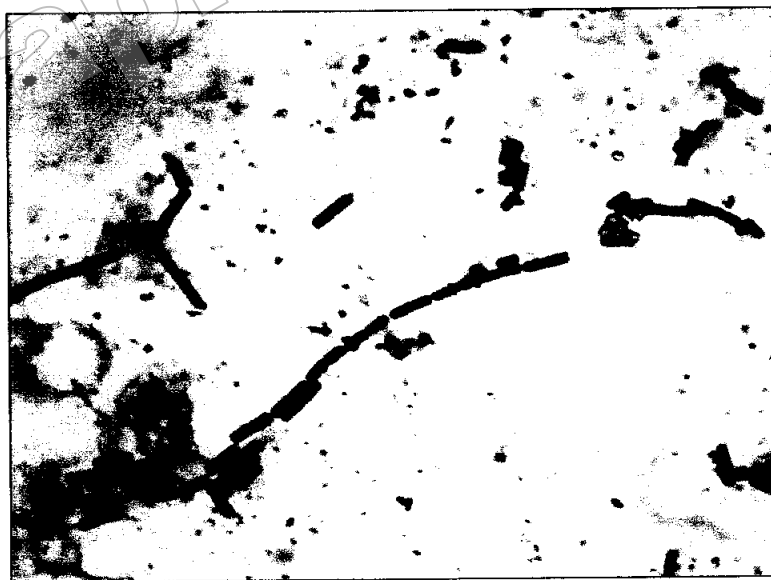
ภาพที่ 16 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรหัส KN09 ซึ่งมีสีขาวมันเงา รูปร่างเป็นวงกลม (circular) การยกตัวเป็นแบบโค้งนูนจากผิวอาหาร (convex) และขอบเรียบ (entire)

### 3. การย้อมสีแกรม (gram's stain)

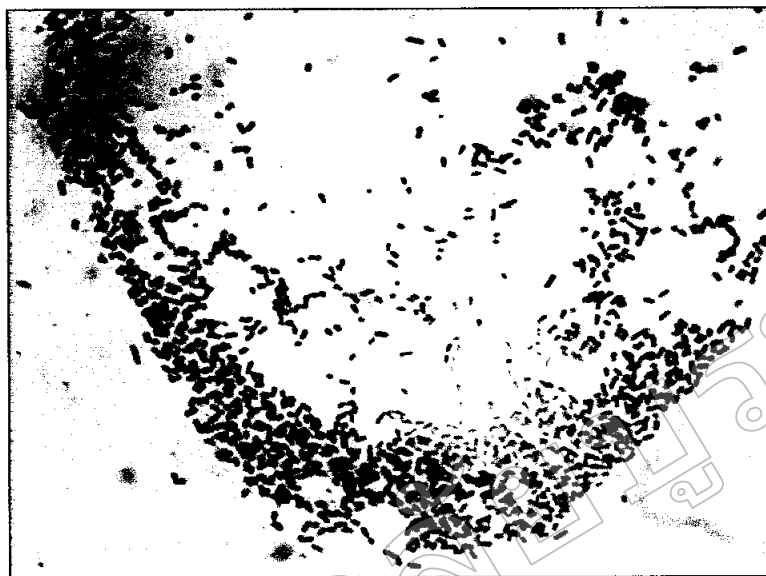
ทำการย้อมสีแกรมเชื้อทั้ง 3 ชนิด นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000x พบว่า เชื้อรหัส KB08 และ KB11 มีลักษณะเป็นเซลล์รูปท่อนยาว (long rod) แกรมบวก ส่วนเชื้อรหัส KN09 มีลักษณะเป็นเซลล์รูปท่อนสั้น (short rod) แกรมลบ ดังแสดงในภาพที่ 17, 18 และ 19



ภาพที่ 17 ลักษณะเซลล์รูปท่อนยาว และติดสีแกรมบวกของเชื้อรหัส KB08 (กำลังขยาย 1000x)



ภาพที่ 18 ลักษณะเซลล์รูปท่อนยาว และติดสีแกรมบวกของเชื้อรหัส KB11 (กำลังขยาย 1000x)



ภาพที่ 19 ลักษณะเซลล์รูปท่อนสั้น และคิลลีแกรมลบของเชื้อรหัสน KN09 (กำลังขยาย 1000x)

จากการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์มาทำการศึกษา 3 ชนิดคือ รหัสน KB08, KB11 และ KN09 พบว่ามีลักษณะเป็นรูปท่อนทั้ง 3 ชนิดซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวันดี เกษมโกสินทร์ (2537) และอรรณณ วัฒน (2542) ซึ่งพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบซึ่งสามารถคัดแยกได้จากแหล่งต่างๆ มีลักษณะรูปร่างเซลล์เป็นแบบท่อนทั้งหมด แต่ขัดแย้งกับการรายงานของสมศักดิ์ วังโน (2528) ที่กล่าวว่าแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ดี คือกลุ่มที่มีรูปร่างทรงกลม นอกจากนี้ผลการศึกษาการย้อมสีแกรมยังสอดคล้องกับการรายงานของสมศักดิ์ วังโน (2528) ซึ่งกล่าวว่าความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบหรือสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ นั้นพบได้ในจุลินทรีย์ทั้งชนิดที่เป็นแกรมบวก และแกรมลบ

#### 4. การวัดอัตราการเจริญเติบโต

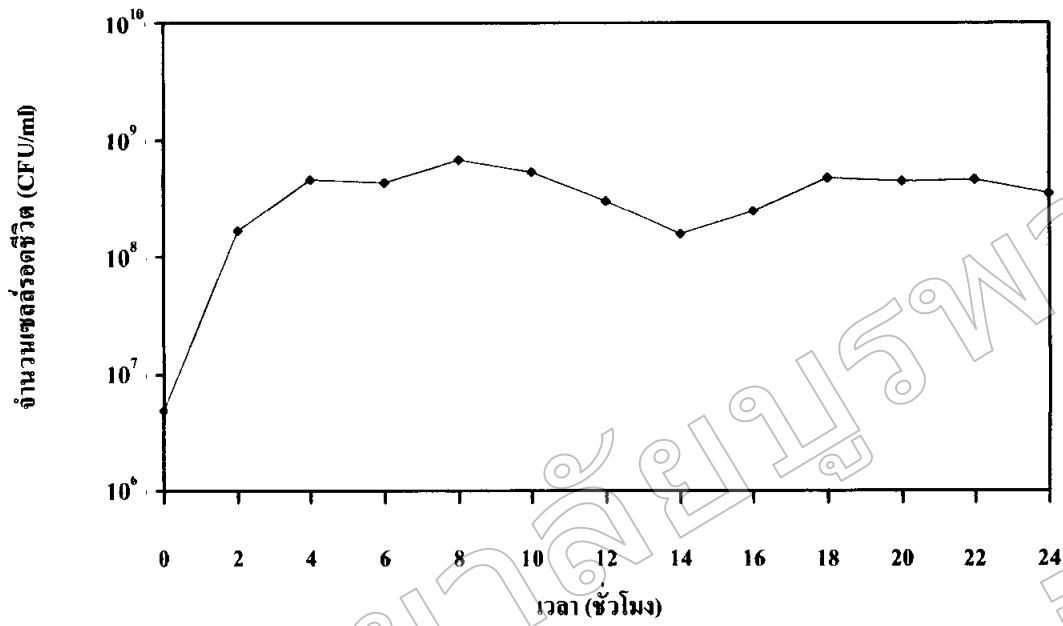
วัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ 3 ชนิด ด้วยเทคนิค viable plate count โดยนำเชื้อที่ต้องการวัดอัตราการเจริญเติบโตมาทำการเจือจาง (dilution) เพื่อลดความเข้มข้นของเชื้อ แล้วเกลี่ยลงในจานเพาะเชื้อให้ทั่วด้วยเทคนิค spread plate จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 30 °c เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนับจำนวนโคโลนี นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟการเจริญเติบโต แสดงในภาพที่ 20, 21 และ 22 จะเห็นว่าเชื้อรหัสน KB08 และ KB11 มีลักษณะเส้นกราฟที่ใกล้เคียงกันเป็นอย่างมากและสิ้นสุดระยะ log phase ที่ประมาณชั่วโมงที่ 4 โดยมีปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ  $4.50 \times 10^8$  CFU/ml และ

5.16 X 10<sup>8</sup> CFU/ml ตามลำดับ ส่วนเชื้อรหัส KN09 มีลักษณะเส้นกราฟที่แตกต่างออกไปโดยสิ้นสุดระยะ log phase ที่ประมาณชั่วโมงที่ 8 และปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ 1.15 X 10<sup>9</sup> CFU/ml

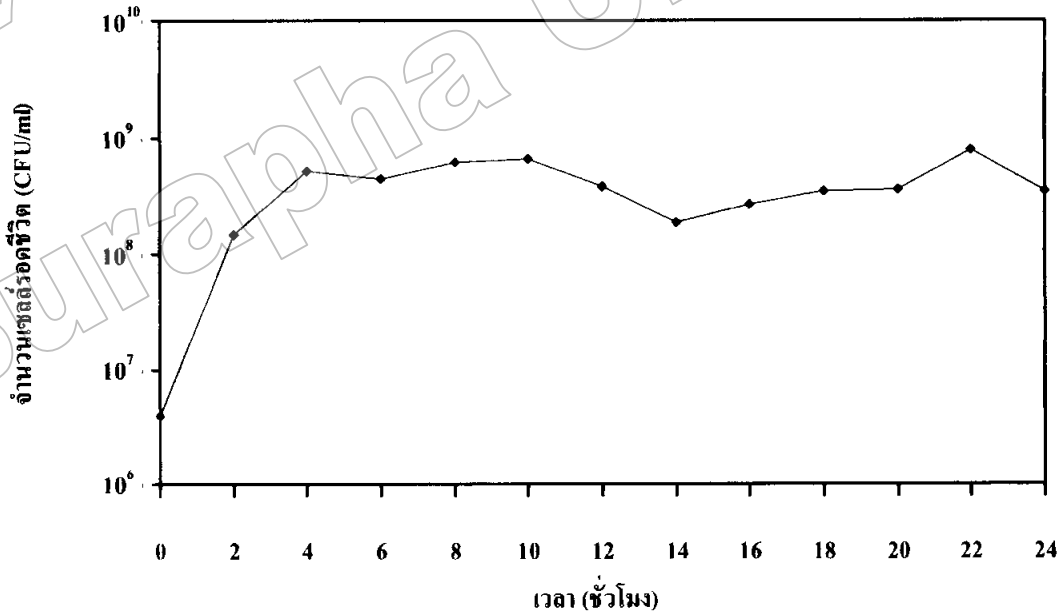
จากการศึกษาลักษณะของกราฟแสดงอัตราการเจริญเติบโตพบว่าเชื้อจุลินทรีย์รหัส KB08 และ KB11 มีลักษณะเส้นกราฟที่ใกล้เคียงกันเป็นอย่างมาก รวมถึงผลจากการศึกษาลักษณะโคโลนีและการย้อมสีแกรมยังพบว่าเชื้อทั้งสองชนิดยังมีโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่คล้ายคลึงกัน โคโลนีของเชื้อรหัส KB11 มีสีเหลืองในขณะที่โคโลนีของเชื้อรหัส KB08 มีสีขาว นอกจากนี้เชื้อทั้งสองยังมีลักษณะคล้ายกับจุลินทรีย์สายพันธุ์ B3-1 ในงานวิจัยของปัญญาพล ชีโนคม (2543) เป็นอย่างมาก โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ B3-1 เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันได้ มีลักษณะโคโลนีเป็นสีครีมนวล ผิวด้าน ไม่มันวาว ขอบหยักเล็กน้อย รูปร่างเซลล์เป็นแบบท่อนเรียงตัวต่อกันเป็นสายและมีลักษณะเป็นแกรมบวก สามารถจัดจำแนกได้เป็นสกุล *Bacillus* sp. เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตแล้ว พบว่ามีความคล้ายคลึงกัน กล่าวคือจุลินทรีย์สายพันธุ์ B3-1 มีระยะ log phase สิ้นสุดที่ประมาณชั่วโมงที่ 6 และที่ชั่วโมงที่ 0 มีปริมาณเซลล์มีชีวิตเริ่มต้นประมาณ 10<sup>6</sup> CFU/ml และเมื่อสิ้นสุดระยะ log phase มีปริมาณเซลล์มีชีวิตประมาณ 10<sup>8</sup> CFU/ml เช่นเดียวกับเชื้อรหัส KB08 และ KB11 ทั้งนี้จำเป็นต้องทำการศึกษาและจัดจำแนกด้วยวิธีทางชีวเคมีอย่างละเอียดจึงทราบผลที่แน่นอน ส่วนเชื้อรหัส KN09 มีลักษณะโคโลนีภายนอก ลักษณะรูปร่างเซลล์ สีแกรม และรูปแบบของกราฟแสดงอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างออกไปอย่างสิ้นเชิง จึงกล่าวได้ว่าเป็นจุลินทรีย์ต่างชนิดกัน

จากข้อมูลการเจริญเติบโตของเชื้อรหัส KB08, KB11 และ KN09 สามารถหาค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ของเชื้อทั้ง 3 ชนิดมีค่าเท่ากับ 0.6306, 0.6716 และ 0.2312 ตามลำดับ และพบว่าระยะ log phase ของเชื้อรหัส KB08 และ KB11 มีระยะเวลาที่สั้นกว่าคือสิ้นสุดระยะ log phase ที่ประมาณชั่วโมงที่ 4 ซึ่งเชื้อรหัส KN09 มีระยะเวลาที่ยาวกว่าคือสิ้นสุดระยะ log phase ที่ประมาณเวลาชั่วโมงที่ 8 จึงสามารถกล่าวได้ว่าเชื้อรหัส KB08, KB11 มีประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตในสิ่งแวดล้อมที่มีไฮโดรคาร์บอนปริมาณสูงได้ดีกว่าเชื้อรหัส

KN09

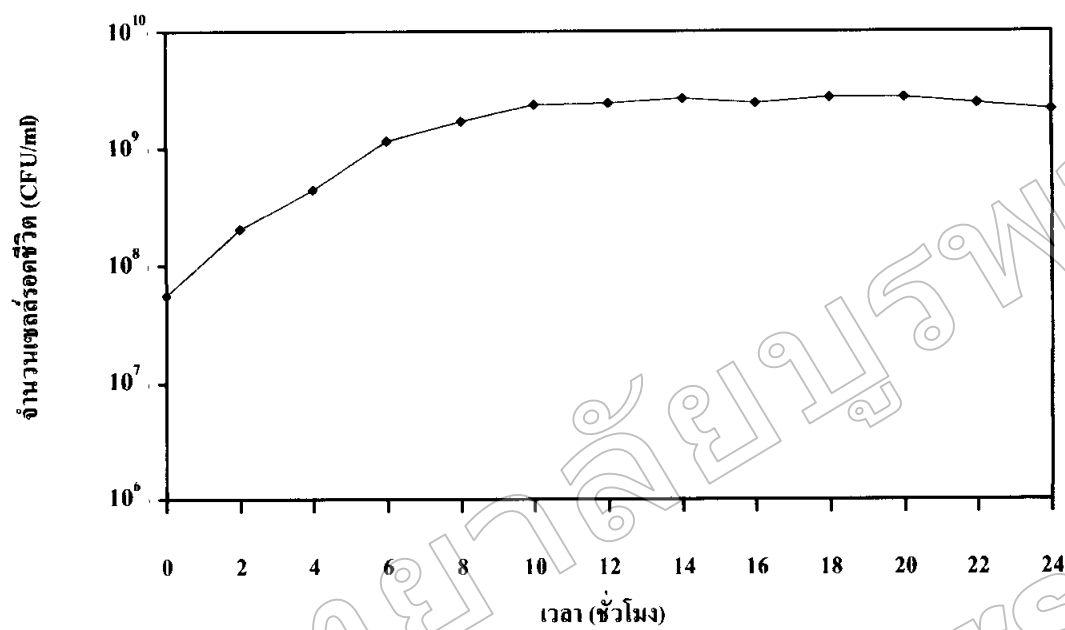


ภาพที่ 20 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของเชิอร์ห์ส KB08



ภาพที่ 21 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของเชิอร์ห์ส KB11





ภาพที่ 22 อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของเชื้อรหัส KN09

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

#### สรุป

จากการศึกษาขั้นต้นพบเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งคาดว่ามีความสามารถย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด 30 ชนิด โดยพบจากบริเวณท่าเรืออ่าวคุ้งกระเบน 21 ชนิด และพบจากบริเวณท่าเรือปากแม่น้ำแฉมหนู 9 ชนิด แต่หลังจากเก็บรักษาเป็น stock cultured ปรากฏว่ามีเชื้อรอดชีวิตเพียง 15 ชนิด ซึ่งสามารถคัดแยกจุลินทรีย์มาทำการศึกษาได้ 3 ชนิด กำหนดรหัสคือ KB08, KB11 และ KN09 มีลักษณะดังนี้

เชื้อรหัส KB08 คัดแยกได้จากบริเวณท่าเรืออ่าวคุ้งกระเบน เป็นจุลินทรีย์แกรมบวก มีรูปร่างเซลล์แบบท่อนยาว โคโลนีมีสีขาวหยาบทึบแสง รูปร่างเป็นวงกลม (circular) การยกตัวเป็นแบบมีจุกยอด (umbonate) และขอบไม่เรียบ (undulate)

เชื้อรหัส KB11 คัดแยกได้จากบริเวณท่าเรืออ่าวคุ้งกระเบน เป็นจุลินทรีย์แกรมบวก มีรูปร่างเซลล์แบบท่อนยาว โคโลนีมีสีเหลืองหยาบทึบแสง รูปร่างเป็นวงกลม (circular) การยกตัวเป็นแบบมีจุกยอด (umbonate) และขอบไม่เรียบ (undulate)

เชื้อรหัส KN09 คัดแยกได้จากบริเวณท่าเรือปากแม่น้ำแฉมหนู เป็นจุลินทรีย์แกรมลบ รูปร่างเซลล์แบบท่อนสั้น โคโลนีมีสีขาวมันเงา รูปร่างเป็นวงกลม (circular) การยกตัวเป็นแบบโค้งนูนจากผิวอาหาร (convex) และขอบเรียบ (entire)

จากการศึกษาลักษณะ โคโลนีเบื้องต้น การย้อมสีแกรมและการศึกษาอัตราการเจริญเติบโต พบว่าเชื้อรหัส KB08 และ KB11 มีความคล้ายคลึงกันเป็นอย่างมากคาดว่าจะป็นชนิดเดียวกัน ทั้งนี้จำเป็นต้องจัดจำแนกด้วยวิธีทางชีวเคมีอีกครั้ง

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) พบว่าเชื้อรหัส KB08, KB11 และ KN09 มีค่าเท่ากับ 0.6306, 0.6716 และ 0.2312 ตามลำดับ โดยเชื้อรหัส KB08 และ KB11 ใช้ระยะเวลาในช่วง log phase สั้นกว่าเชื้อรหัส KN09 คือเชื้อรหัส KB08 และ KB11 สิ้นสุดระยะ log phase ที่ประมาณชั่วโมงที่ 4 มีปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ  $4.50 \times 10^8$  CFU/ml และ  $5.16 \times 10^8$  CFU/ml ตามลำดับ ส่วนเชื้อรหัส KN09 สิ้นสุดระยะ log phase ที่ประมาณชั่วโมงที่ 8 และมีปริมาณเซลล์สูงสุดเท่ากับ  $1.15 \times 10^9$  CFU/ml จึงกล่าวได้ว่ามีประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตในสิ่งแวดล้อมที่มีไฮโดรคาร์บอนปริมาณสูงได้ดีกว่าเชื้อรหัส KN09

### ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาจุลินทรีย์ให้ครบทุกชนิดเพื่อสามารถเปรียบเทียบความสามารถในการเจริญเติบโตในที่มีสารประกอบไฮโดรคาร์บอนปนเปื้อนในปริมาณสูงได้
2. ควรมีการศึกษาสภาวะของสิ่งแวดล้อมที่จุลินทรีย์เหล่านี้อาศัยอยู่ เพื่อสามารถปรับสภาวะของสิ่งแวดล้อม เหมาะสมต่อการดำเนินกิจกรรมของเซลล์ในห้องปฏิบัติการได้
3. ควรทำการศึกษาสภาวะของน้ำมันในที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลาย และผลที่มีต่อน้ำมัน

## บรรณานุกรม

- กฤติยาพร ทัพพะทัต. (2538). ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนน้ำทะเลและตะกอนบริเวณชายฝั่งทะเล  
จังหวัดระยอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เกศินี สรรวานิช. (2534). ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในน้ำ ดินตะกอน และหอยแมลงภู่ (Perna  
viridis) บริเวณแม่น้ำท่าจีนตอนล่าง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต,  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม, บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ชรัตน์ รุ่งเรืองศิลป์. (2533). ผลกระทบของน้ำมันต่อสิ่งแวดลอม. น้ำมัน, 1-8
- เชิด รุ่งอุทัย. (2522). บทบาทของการขนส่งน้ำมันทางน้ำ และผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม. กรมเจ้าท่า  
พิมพ์อัดสำเนา : 17 หน้า
- ดวงพร คันธโชติ. (2537). อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. โอเดียนส โตร์: กรุงเทพฯ
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2547). จุลชีววิทยาทั่วไป (พิมพ์ครั้งที่ 4). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่ง  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- บัญญัติ สุขศรีงาม. (2534). จุลชีววิทยาทั่วไป (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียน  
สโตร์.
- ปัญญาพล ชิโนคม. (2543). การสร้างกลุ่มประชากรจุลินทรีย์เพื่อการย่อยสลายน้ำมันดิบ.  
วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม,  
ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ปราโมทย์ ไชยเวช. (2537). น้ำมันปิโตรเลียมดิบ. ปิโตรเลียมเทคโนโลยี. ภาควิชาเคมีเทคนิค  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เปี่ยมศักดิ์ เมนะเสวด. (2543). แหล่งน้ำกับปัญหามลพิษ (พิมพ์ครั้งที่ 8). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์  
แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มนูวดี หังสพฤกษ์. (2546). สาระวิทยาศาสตร์ทางทะเล. กรุงเทพฯ: สำนักงาน  
คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- มถิวรรณ บุญเสนอ. (2547). พิษวิทยาสิ่งแวดล้อม (Environmental Toxicology) (พิมพ์ครั้งที่ 3).  
นครปฐม: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- ศรีประภา ศุภจรตวงศ์. (2541). Identification จุลินทรีย์หลักที่ย่อยสลายน้ำมันดิบที่แยกมาจาก  
ระบบบำบัดน้ำเสียโรงกลั่นน้ำมันบางจาก. ปริญญาโทวิทยาศาสตรบัณฑิต, ภาควิชา  
จุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมถวิล จริตถาวร. (2540). ชีววิทยาทางทะเล. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

สมบัติ จำปาเงิน. (2537). พจนานุกรมนักเรียน ฉบับสมบูรณ์. กรุงเทพฯ: สุวีริยาสาส์น.

สมบูรณ์ ธนาสุภวัฒน์. (2544). เทคนิคการเก็บรักษาจุลินทรีย์ Preservation Techniques of Microorganisma (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมศักดิ์ วั่งโน. (2528). จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน. กรุงเทพฯ: ไทยวัฒนาพานิชย์.

ส่วนแหล่งน้ำทะเล สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ. (2546). ทะเลไทยวันนี้ (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ

สุพรรณณี ลีโทชวลิต. (2539). การรวบรวมจุลินทรีย์มีชีวิตบริสุทธิ์จากบริเวณชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกเฉียงเหนือและอ่าวไทยตอนบน. รายงานการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2536-2539.

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา.

เสาวนีย์ ธรรมสถิตติ. (2547). แบคทีเรียทางเทคโนโลยีชีวภาพ. นครปฐม: โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาสาธารณสุขุอาเขียน.

วันดี เกษมโกสินทร์. (2537). การย่อยน้ำมันดิบโดยแบคทีเรียจากธรรมชาติ. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

อรรธรรม วัฒน. (2542). การคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดิบและสารประกอบ Polycyclic aromatic hydrocarbons จากดินปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอน. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

Anita, I., Kalpana, M. and Bhavanath, J. (2005). Biosorption of heavy metals by a marine bacterium. Marine Pollution Bulletin 50, 340-343

Bossert, I., and Compeau, G.C. (1995). Cleanup of petroleum hydrocarbon contamination in soil. Microbial Transformation and Degradation of Toxic Organic Chemicals. : 77-125

Gerard, J.T., Berdell, R.F., Christine, L.C. (2004). Microbiology an Introduction (8th ed.).

Pfaender, F.K., and Buckley, N. (1984). Effect of petroleum on microbial communities. In: Atlas, R.M., editor. Petroleum Microbiology. Newyork: Macmillan: 507-536

Ronal M.A. (1995). Bioremediation of petroleum pollutants. International Biodeterioration & Biodegradation Elsevier, 317-327

- Ronal M.A. (1995). Petroleum biodegradation and oil spill bioremediation. Marine Pollution Bulletin 31, 178-182
- Speight, L.G. (1991). The chemistry and technology of petroleum. 2nd ed. New York: Marcel Dekker.
- Timothy R.P., Yoshiaki M. and Carol M.L. (1992). A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. (4 th ed). Great Britain: BPC Wheatons Ltd. Exeter.
- Yehuda Cohen. (2002). Bioremediation of oil by marine microbial mats. Int Microbial (2002). 5: 189-193
- Yogita N. Sardesai and Saroj Bhosle. (2002). Organic solvent-tolerant bacteria in mangrove ecosystem. Current science, Vol. 82, No. 6
- Zuofa, K., Loganathan, P., and Isirmah, N.O. (1988). Effects of crude oil applications to soil on the growth and yield of maize, okaro, and cassava in Nigeria. Oil Chem. Pollut. 4: 249-259

มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารที่ใช้ในการศึกษา



## ภาคผนวก ก

### อาหารเลี้ยงเชื้อและสารที่ใช้ในการศึกษา

#### 1. น้ำมันดิบ

น้ำมันดิบที่ใช้ในการทดลองได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Star Petroleum, Thailand โดยก่อนนำมาใช้ในการทดลองต้องผ่านการกรองฆ่าเชื้อด้วยกระดาษกรอง cellulose nitrate ขนาดรูพรุน 0.25  $\mu\text{m}$

#### 2. อาหารเลี้ยงเชื้อ LBMG agar

tryptone	1	% (w/v)
yeast extract	0.5	% (w/v)
NaCl	1	% (w/v)
MgSO <sub>4</sub>	10	mM
glucose	0.1	% (w/v)
agar powder	1.5	% (w/v)
distilled water	1000	มิลลิลิตร

ก่อนนำมาใช้ต้องผ่านการอบฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 – 20 นาที

#### 3. Peptone water

peptone	0.1	% (w/v)
NaCl	0.85	% (w/v)

Distilled water

ก่อนนำมาใช้ต้องผ่านการอบฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำที่ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 – 20 นาที

#### 4. Gram's stain

##### 3.1 Crystal violet

###### สารละลาย A

Crystal violet (85 % dye)	2.0	กรัม
Ethyl alcohol 95 %	20.0	มิลลิลิตร

ละลายสีในแอลกอฮอล์จนสีละลายหมด

###### สารละลาย B

Ammonium oxalate	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	80	มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย A กับสารละลาย B ถ้ามีตะกอนให้กรองก่อนนำไปใช้ และถ้าสีเข้มเกินไปอาจเจือจางสารละลาย A เป็น 1 : 10 ก่อนผสมกับสารละลาย B

##### 3.2 Safranin O counterstain (stock solution)

Safranin O	2.5	กรัม
Ethyl alcohol 95 %	100.0	มิลลิลิตร

ถ้าจะใช้สีในการย้อมให้เจือจางเป็น 1 : 10 (stock safranin 10 มิลลิลิตร) ถ้ามีตะกอนให้กรองก่อนการใช้ทุกครั้ง

##### 3.3 Gram's iodine solution (mordant)

Iodine (Crystal)	1.0	กรัม
Potassium iodine (KI)	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	300.0	มิลลิลิตร

ละลาย Iodine และ KI ในน้ำปริมาณน้อยๆ ก่อน แล้วจึงเติมน้ำให้ครบ เก็บไว้ในขวด  
สีชา

มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

ภาคผนวก ข

ตารางอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด

## ภาคผนวก ข

## ตารางอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด

ตารางที่ 12 อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด (CFU/ml)

ชั่วโมงที่	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด (CFU/ml)		
	KB08	KB11	KN09
0	$4.80 \times 10^6$	$3.86 \times 10^6$	$5.60 \times 10^7$
2	$1.64 \times 10^8$	$1.46 \times 10^8$	$2.02 \times 10^8$
4	$4.50 \times 10^8$	$5.16 \times 10^8$	$4.43 \times 10^8$
6	$4.33 \times 10^8$	$4.40 \times 10^8$	$1.15 \times 10^9$
8	$6.60 \times 10^8$	$6.06 \times 10^8$	$1.70 \times 10^9$
10	$5.33 \times 10^8$	$6.53 \times 10^8$	$2.31 \times 10^9$
12	$3.00 \times 10^8$	$3.80 \times 10^8$	$2.43 \times 10^9$
14	$1.58 \times 10^8$	$1.85 \times 10^8$	$2.62 \times 10^9$
16	$2.45 \times 10^8$	$2.70 \times 10^8$	$2.38 \times 10^9$
18	$4.63 \times 10^8$	$3.43 \times 10^8$	$2.73 \times 10^9$
20	$4.37 \times 10^8$	$3.60 \times 10^8$	$2.72 \times 10^9$
22	$4.50 \times 10^8$	$7.66 \times 10^8$	$2.42 \times 10^9$
24	$3.47 \times 10^8$	$3.46 \times 10^8$	$2.12 \times 10^9$

ภาคผนวก ค

ภาพลักษณะโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด

## ภาคผนวก ค

## ภาพลักษณะโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด

ภาพที่ 23 โคโลนีเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งคัดแยกได้จากบริเวณท่าเรือคู้งกระเบนทั้งหมด 21 ชนิด



KB01



KB02



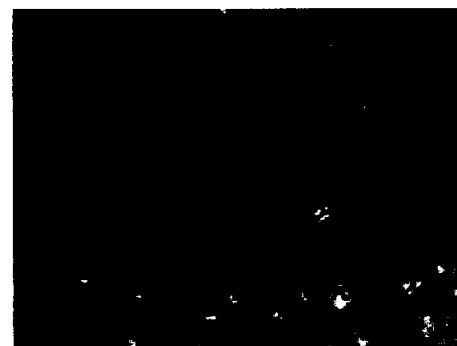
KB03



KB04



KB05



KB06



KB07



KB08



KB09



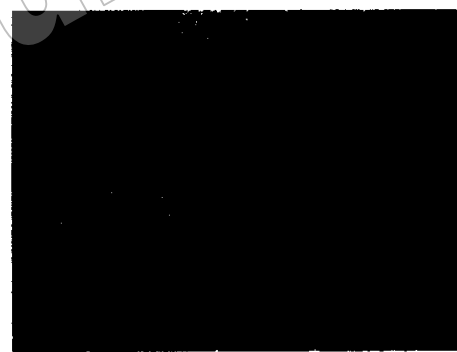
KB10



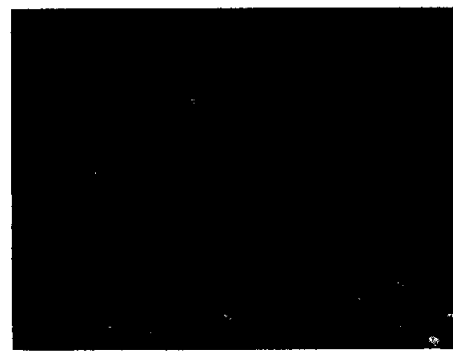
KB11



KB12



KB13



KB14



KB15



KB16



KB17



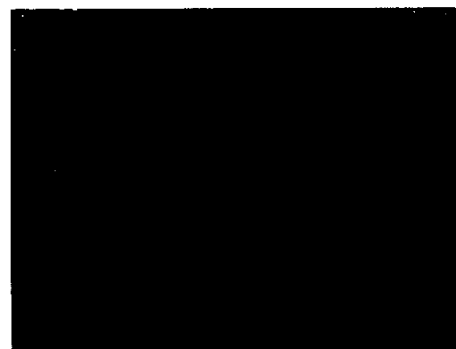
KB18



KB19



KB20



KB21



ภาพที่ 24 โคโลนีเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งคัดแยกได้จากบริเวณท่าเรือปากแม่น้ำแฉะหนุทั้งหมด 9 ชนิด



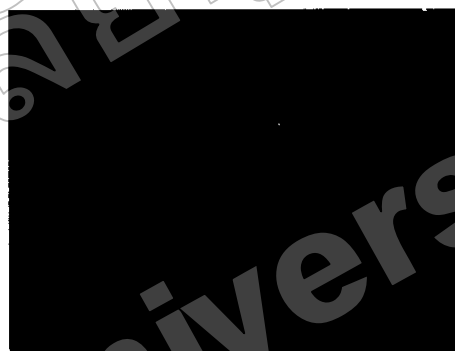
KN01



KN02



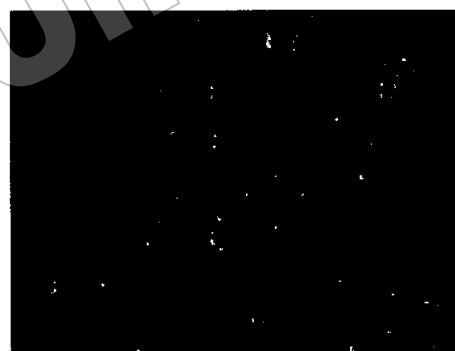
KN03



KN04



KN05



KN06



KN07



KN08



KN09

มหาวิทยาลัยบูรพา  
Burapha University

## ประวัติย่อของผู้วิจัย

ชื่อ - สกุล	นาย ยงยุทธ แก้วบุญกว้าง
วัน เดือน ปี เกิด	22 ธันวาคม พ.ศ. 2527
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลเมืองฉะเชิงเทรา จ.ฉะเชิงเทรา
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	26/5 ถ.ศุภกิจ ต.หน้าเมือง อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา 24000
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2544	จบชั้นมัธยมศึกษาจาก โรงเรียนเบญจมราชรังสฤษฎิ์ฉะเชิงเทรา
พ.ศ. 2538	จบชั้นประถมศึกษาจาก โรงเรียนเซนต์หลุยส์ ฉะเชิงเทรา
ผลงานการร่วมกิจกรรม	
พ.ศ. 2548	ฝึกงานด้านสมุทรศาสตร์สิ่งแวดล้อม ณ ศูนย์วิจัย ทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนกลางและภาค ตะวันออก
พ.ศ. 2547	ฝึกงานด้านวิศวกรรมชายฝั่ง และ โปรแกรมทำนายนกกัดเซาะ ชายฝั่ง ณ กรมอุทกศาสตร์ทหารเรือ
พ.ศ. 2545	ผู้รับผิดชอบโครงการทะเลสัมพันธ์ (คณะเทคโนโลยีทางทะเล พบคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาวาริชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา) นิติตวิทยากร ณ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัย บูรพา จ.ชลบุรี