


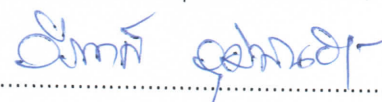
การย่อยสลายน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ
โดยแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

สมฤทัย ลุกจันทร์





วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
สิงหาคม 2561
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา
วิทยานิพนธ์ของ สมฤทัย ลูกจันทร์ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้


คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์


.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุภัณฑิลา นิมรัตน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


.....ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธางกูร)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุภัณฑิลา นิมรัตน์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย)

.....กรรมการ
(ดร.อภิญญา นวคุณ)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์ของมหาวิทยาลัยบูรพา


.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกรัฐ ศรีสุข)
วันที่ 15 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2561

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจากรองศาสตราจารย์ ดร.สุภัณฑิต นิมรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รองศาสตราจารย์ ดร.วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาและตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา รวมถึงรองศาสตราจารย์ ดร.ปรินทร์ ชัยวิสุทธิทางกูร ประธานคณะกรรมการสอบปากเปล่าวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุदारัตน์ สอนจิตร อาจารย์ผู้ดูแลห้องปฏิบัติการทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัยจนลุล่วงได้ด้วยดีตลอดมา จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และพี่สาวของข้าพเจ้าที่คอยให้กำลังใจ และสนับสนุนทุนการศึกษาด้วยดีตลอดมา ตลอดจนพี่ ๆ น้อง ๆ และเพื่อน ๆ ทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือทั้งร่างกายและแรงใจในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณภาควิชาจุลชีววิทยา และฝ่ายบัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ที่ให้ความช่วยเหลือด้านเครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี และสถานที่ในการทดลอง ตลอดจนประสานงานด้านต่าง ๆ ในช่วงระยะเวลาการทำวิทยานิพนธ์นี้

สมฤทัย ลูกจันทร์

56910069: สาขาวิชา: จุลชีววิทยาประยุกต์; วท.ม. (จุลชีววิทยาประยุกต์)

คำสำคัญ: แบคทีเรีย/ น้ำมันดีเซล/ น้ำมันเบนซิน/ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว/ น้ำมันดิบ/ การย่อยสลาย
ทางชีวภาพ

สมฤทัย ลูกจันทร์: การย่อยสลายน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ โดยแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (BIODEGRADATION OF DIESEL, GASOLINE, USED LUBRICATING OIL, AND CRUDE OIL BY BIOSURFACTANT PRODUCING BACTERIA) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สุภัณฑิต นิรมรัตน์, Ph.D., วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, Ph.D. 274 หน้า. ปี พ.ศ. 2561.

ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน โดยใช้แบคทีเรียทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SE1, SD4 และแบคทีเรีย *Bacillus siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 ที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มลิโปเปปไทด์ จากผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถเจริญและย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยเมื่อพิจารณาจากการเจริญลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน ฟิคม์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมัน และปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น บ่งชี้ว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ รองลงมาคือ แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 และ *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ต่อมาทำการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ของ *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน โดยวิธีการวิเคราะห์ GC-MS ผลการศึกษาพบว่า ภายใน 35 วันมีการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน โดยสามารถย่อยสลายทั้งสารตั้งต้นและสารตัวกลางได้ค่อนข้างสมบูรณ์ ส่วนน้ำมันอีก 3 ชนิดพบว่าสามารถย่อยสลายสารตั้งต้น เปลี่ยนเป็นสารตัวกลางเพียงบางส่วน โดยสามารถย่อยสลายได้ตามลำดับ ดังนี้ น้ำมันเบนซินดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันดีเซล น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ ตามลำดับ ดังนั้น *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 น่าจะมีความสามารถในการนำไปประยุกต์ใช้ในการฟื้นฟูสภาพสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนด้วยน้ำมันในอนาคตต่อไป

56910069: MAJOR: APPLIED MICROBIOLOGY; M.Sc. (APPLIED MICROBIOLOGY)

KEYWORDS: BACTERIA/ DIESEL/ GASOLINE/ USED LUBRICATION OIL/ CRUDE OIL/
BIODEGRADATION

SOMRUETAI LOOKCHAN: BIODEGRADATION OF DIESEL, GASOLINE, USED LUBRICATING OIL, AND CRUDE OIL BY BIOSURFACTANT PRODUCING BACTERIA. ADVISORY COMMITTEE: SUBUNTITH NIMRAT, Ph.D., VERAPONG VUTHIPHANDCHAI, Ph.D. 274 P. 2018.

The aim of the study was to study the efficiency for biodegradation of diesel, gasoline, used lubricating oil and crude oil under aerobic and anaerobic conditions by 3 bacterial strains including *Bacillus subtilis* strain SE1, SD4 and *Bacillus siamensis* strain SJ1#1 which were able to produce lipopeptide biosurfactant. The results showed that all 3 strains of bacteria can grow and degrade 4 types of oil under aerobic condition more than anaerobic condition. When considering growth, physical characteristics of oil, spectrogram of degradation oil and total gas production indicated that *B. subtilis* strain SE1 showed the efficiency of diesel, gasoline, used lubricating oil and crude oil degradation under aerobic and anaerobic conditions while *B. subtilis* strain SD4 and *B. siamensis* strain SJ1#1 show less efficiency, respectively. Then the study of 4 types of oil degradation by *B. subtilis* strain SE1 under aerobic condition analysed using GC-MS. The study found that *B. subtilis* strain SE1 demonstrated completely degraded gasoline and its metabolites in 35 days. While the other types of oil can partially degrade as of following order gasoline diesel, used lubricant oil and crude oil, respectively. Therefore *B. subtilis* strain SE1 could be applied for bioremediation of the environment is contaminated with petroleum oil in the future.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อ.....	ข
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฐ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ที่มาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	3
ขอบเขตของการวิจัย.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
ลักษณะ คุณสมบัติ และความเป็นพิษของน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ.....	5
สาเหตุของการปนเปื้อนน้ำมันชนิดต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม.....	7
ปัญหาและผลกระทบจากการปนเปื้อนน้ำมันชนิดต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม.....	8
วิธีการกำจัดและบำบัดสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนน้ำมันชนิดต่าง ๆ.....	9
กลไกการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ ของแบคทีเรีย.....	8
คุณสมบัติ ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และข้อดีของสารลดแรงตึงผิว ชีวภาพในการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ.....	13
วิธีการในการวิเคราะห์ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	14
จุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	16
ผลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ.....	17
ผลของสภาวะการมีและไม่มีออกซิเจนต่อการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ.....	19
งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา.....	20

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3	วิธีการดำเนินการศึกษา..... 24
	สถานที่และระยะเวลาที่ทำการวิจัย..... 24
	ตัวอย่างทดลอง..... 24
	วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี..... 24
	วิธีดำเนินการทดลอง..... 27
	การคัดเลือกและจำแนกชนิดของแบคทีเรียทดสอบ..... 27
	การจำแนกชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์.... 33
	การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในการย่อยสลายน้ำมัน ทั้ง 4 ชนิด..... 34
	การวิเคราะห์ทางสถิติ..... 37
	การวิเคราะห์ชนิดของสารไฮโดรคาร์บอนที่คงเหลือในตัวอย่างจากการย่อยสลายโดย แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด..... 37
4	ผลการศึกษา..... 38
	ชนิด และลักษณะของแบคทีเรีย..... 38
	ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์..... 40
	ความสามารถของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด..... 41
	การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมัน ทั้ง 4 ชนิด..... 41
	การเปรียบเทียบความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมัน ทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน..... 81
	การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในการย่อยสลายน้ำมัน ทั้ง 4 ชนิด..... 98
	การเปรียบเทียบความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในการย่อยสลาย น้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน..... 138
	การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในการย่อยสลาย น้ำมันทั้ง 4 ชนิด..... 155

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
การเปรียบเทียบความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในการย่อยสลาย น้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	195
การเปรียบเทียบการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	212
การศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 โดย วิธีการวิเคราะห์ GC-MS.....	257
5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง.....	262
บรรณานุกรม.....	275
ภาคผนวก.....	288
ภาคผนวก ก	289
ภาคผนวก ข	294
ภาคผนวก ค	297
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	350

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยจุลินทรีย์.....	16
2-2	ตัวอย่างโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยจุลินทรีย์แต่ละชนิด.....	13
2-2	ตัวอย่างโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยจุลินทรีย์แต่ละชนิด.....	13
3-1	ผลการทดสอบศักยภาพของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและการผลิตสารอิมัลซิไฟเออร์.....	28
4-1	ผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์.....	38
4-2	ผลการวิเคราะห์ชนิดของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ 16s rRNA.....	39
4-3	ผลการทดสอบชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์	40
4-4	ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล...	41
4-5	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	43
4-6	ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง...	50
4-7	ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน	51
4-8	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	53
4-9	ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	60
4-10	ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว.....	61
4-11	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	64

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4-12 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง.....	70
4-13 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดิบ.....	71
4-14 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	73
4-15 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	80
4-16 ปริมาณของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด.....	81
4-17 อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด.....	84
4-18 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน.....	85
4-19 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในชุด Active.....	97
4-20 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล...	98
4-21 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	100
4-22 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง.....	107

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4-23 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 (OD ₅₈₀) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน.....	108
4-24 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	110
4-25 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	117
4-26 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 (OD ₅₈₀) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว.....	118
4-27 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	120
4-28 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง.....	127
4-29 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 (OD ₅₈₀) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดิบ.....	128
4-30 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	130
4-31 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	137
4-32 ปริมาณของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 (OD ₅₈₀) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด.....	138
4-33 อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด.....	141

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
4-34	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน.....	142
4-35	ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในชุด Active.....	154
4-36	ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล.....	155
4-37	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	157
4-38	ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง.....	164
4-39	ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน.....	165
4-40	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	167
4-41	ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	174
4-42	ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว.....	175
4-43	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	178

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4-44 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง.....	184
4-45 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดิบ.....	185
4-46 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง.....	187
4-47 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	194
4-48 ปริมาณของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด.....	195
4-49 อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด.....	198
4-50 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน	199
4-51 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในชุด Active.....	211
4-52 ปริมาณของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล.....	214
4-53 อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ใน ชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล.....	215

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4-54	216
ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล จากการย่อยสลายของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน.....	
4-55	224
ปริมาณของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน.....	
4-56	226
อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน.....	
4-57	227
ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน จากการย่อยสลายของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน.....	
4-58	235
ปริมาณของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว.....	
4-59	237
อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว.....	
4-60	238
ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว จากการย่อยสลายของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน.....	
4-61	246
ปริมาณของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดิบ.....	
4-62	248
อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดิบ.....	
4-63	249
ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ จากการย่อยสลายของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน.....	

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
2-1	กลไกการนำสารปิโตรเลียมเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย และการใช้สารตัวกลางในการสังเคราะห์ส่วนต่าง ๆ ของเซลล์ และการเจริญของเซลล์แบคทีเรีย.....	12
2-2	ตัวอย่างโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยจุลินทรีย์แต่ละชนิด.....	17
2-3	กลไกการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการนำน้ำมันเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย.....	19
4-1	แผนภูมิต้นไม้พันธุกรรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์.....	40
4-2	ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล.....	42
4-3	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน.....	44
4-4	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	45
4-5	กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน..	48
4-6	ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน.....	52
4-7	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน.....	54
4-8	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	55
4-9	กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน..	58
4-10	ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว.....	62

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-11 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน.....	63
4-12 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	65
4-13 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	68
4-14 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดิบ.....	72
4-15 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน.....	74
4-16 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	75
4-17 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	78
4-18 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด	83
4-19 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	86
4-20 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง).....	87

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-21 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ชูด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน.....	91
4-22 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ชูด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	94
4-23 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล.....	99
4-24 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน.....	101
4-25 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	102
4-26 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	105
4-27 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน.....	109
4-28 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน.....	111
4-29 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	112
4-30 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	115
4-31 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว.....	119

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-32 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน.....	121
4-33 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	122
4-34 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	125
4-35 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดิบ.....	129
4-36 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน.....	131
4-37 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	132
4-38 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	135
4-39 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด	140
4-40 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	143
4-41 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง).....	144

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-42 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน.....	148
4-43 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	151
4-44 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล.....	156
4-45 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน.....	158
4-46 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	159
4-47 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	162
4-48 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน.....	166
4-49 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน....	168
4-50 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	169
4-51 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	172
4-52 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว.....	176

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-53 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน.....	177
4-54 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง).....	179
4-55 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	182
4-56 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดิบ.....	186
4-57 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน.....	188
4-58 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	189
4-59 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	192
4-60 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด	197
4-61 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	200
4-62 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง).....	201

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-63 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน.....	205
4-64 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	208
4-65 ผลปริมาณแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล.....	213
4-65 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล จากการย่อยสลายทางชีวภาพของ แบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	217
4-67 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล จากการย่อยสลายทางชีวภาพของ แบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	218
4-68 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	221
4-69 ผลปริมาณแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน.....	225
4-70 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	228
4-71 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มี (ขวดตัวอย่าง)	229
4-72 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	232
4-73 ผลปริมาณแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว.....	236

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
4-74	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	239
4-75	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	240
4-76	กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	243
4-77	ผลปริมาณแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดิบ.....	247
4-78	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	250
4-79	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ขวดตัวอย่าง)	251
4-80	กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน.....	254
4-81	ผลการเปรียบเทียบการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ระหว่างวันที่เริ่มต้นการทดลองและวันสุดท้ายของการทดลอง.....	258

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในโลกปัจจุบันมีการใช้ปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์จากปิโตรเลียมอย่างแพร่หลาย ซึ่งมีการใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ มากมาย ได้แก่ การคมนาคมขนส่งทั้งทางบก ทางน้ำ และทางอากาศ และใช้เป็นเชื้อเพลิงในกระบวนการผลิต และหล่อลื่นเครื่องจักรเครื่องยนต์ต่าง ๆ อีกด้วย (Energy Information Administration, 2015; Maletic, Dalmacija, & Roncevic, 2013) โดยที่สารปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์จากปิโตรเลียม เป็นสารที่ประกอบด้วยสารไฮโดรคาร์บอนชนิดต่าง ๆ ที่มีโครงสร้างซับซ้อนรวมตัวกัน มีทั้งสถานะที่เป็นของแข็ง ของเหลว และก๊าซ ยกตัวอย่างเช่น ยางมะตอย น้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ น้ำมันดิบ และก๊าซธรรมชาติ เป็นต้น (Energy Information Administration, 2015; Neff, 1988; Petroleum.co.uk, 2015; Solano-Serena, Marchal, Lebeault, & Vandecasteele, 2000) โดยผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมที่มีการใช้งานอย่างแพร่หลาย ได้แก่ น้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ และน้ำมันดิบ และเนื่องจากจากการใช้น้ำมันเหล่านี้อย่างแพร่หลาย จึงส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในวงกว้าง ซึ่งมีสาเหตุมาจากการกระทำของมนุษย์ ทั้งที่แบบตั้งใจ และอุบัติเหตุ โดยการรั่วไหลสามารถเกิดขึ้นได้ในทุกขั้นตอน ทั้งระหว่างการขุดเจาะ การผลิต การขนส่ง การเก็บรักษา และรวมถึงการใช้งานด้วย โดยในปี ค.ศ. 2009 มีรายงานว่าพบการรั่วไหลของน้ำมันดิบเฉลี่ย 600,000 ตันต่อปี (Kvenvolden & Cooper, 2003; Auffre, Labbe, Thouand, Charles, & Fayolle-Guichard, 2009; Doerffer, 1992)

นอกจากนี้การจับเก็บ และกำจัดน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ และน้ำมันดิบที่ผิดวิธี โดยการทิ้งลงส่งท่อน้ำสาธารณะ หรือแหล่งน้ำจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในแหล่งน้ำ ลดการผ่านของออกซิเจน และแสงแดดลงสู่แหล่งน้ำ ทำให้สิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำตาย รวมถึงยังเป็นการทำลายแหล่งอาหาร และแหล่งวางไข่ของสัตว์น้ำ หากมีการทิ้งลงบนพื้นดินหรือฝังกลบลงในดิน จะส่งทำให้ดินบริเวณนั้นเสียคุณค่าทางเกษตรกรรม และเป็นมลพิษต่อแหล่งน้ำใต้ดินอีกด้วย (Farhadian, Vachelard, Duchez, & Larroche, 2008; Janbandhu, & Fulekar, 2011; กรมควบคุมมลพิษ, 2552) เมื่อสัตว์ และมนุษย์มีการสัมผัสสัมผัสสารพิษที่อยู่ในส่วนประกอบของน้ำมันชนิดต่าง ๆ จะเกิดความเป็นพิษต่อระบบต่าง ๆ ของสัตว์และมนุษย์ ทั้งระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ ตับ ไต และระบบประสาท อาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ โรคมะเร็ง

และสารพิษเหล่านี้จะเข้าสู่ห่วงโซ่อาหาร ถ่ายทอด และมีการสะสมของสารพิษเพิ่มสูงขึ้นในสิ่งมีชีวิตที่เป็นผู้ล่า สุดท้ายสารพิษทั้งหมดในห่วงโซ่อาหารจะถูกส่งต่อไปยังมนุษย์ ก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมาในมนุษย์ (Carpenter et al., 1976; Souza, Vessoni-Penna, & Oliveira, 2014; The international tanker owners pollution federation limited, 2013; Fellenberg, 1980; มุลนิธิสืบนาคะเสถียร, 2010)

และโดยปกติแล้ววิธีการกำจัด และฟื้นฟูสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนน้ำมันมีด้วยกันหลากหลายวิธี ได้แก่ การใช้เครื่องจักร (Mechanical) การเผาทำลาย (Combustion) การฝังกลบ (Burying) การระเหย (Evaporation) การแบ่งส่วน (Dispersion) การล้าง (Washing) การใช้สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) และการใช้สารเพิ่มการกระจาย (Oil dispersion) เป็นต้น แต่เนื่องจากวิธีการเหล่านี้มีต้นทุนสูง เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและต้องมีการบำบัดหลังจากนั้นต่ออีกด้วย จึงทำให้มีการให้ความสนใจในการใช้วิธีการบำบัดและฟื้นฟูทางชีวภาพ โดยใช้จุลินทรีย์เพื่อกำจัดความเป็นพิษและย่อยสลายน้ำมันที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม (Medina-Bellver et al., 2005) นอกจากนี้การบำบัด และการฟื้นฟูทางชีวภาพยังเป็นวิธีที่ไม่มีความรุนแรง ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม มีค่าใช้จ่ายในการดำเนินการที่ค่อนข้างถูก และส่วนใหญ่เป็นการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ ไม่จำเป็นต้องมีการบำบัดต่อจากวิธีนี้อีก (April, Foght, & Currah, 2000; Sivapathasekaran et al., 2010; Kiran, Babarathnam, & Selvin, 2010; Satpute, Bhawsar, Dhakephalkar, & Chopade, 2008) จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันมักเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ โดยที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะทำหน้าที่ลดแรงตึงระหว่างผิวของน้ำและน้ำมัน และช่วยในการกระจายตัวของน้ำมันเป็นโมเลกุลเล็ก ๆ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีสำหรับกระบวนการย่อยสลายน้ำมัน และฟื้นฟูสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนน้ำมันด้วย (Banat 1995a; Banat, Makkar, & Cameotra, 2000; Kumar, Leon, Materano, & Ilzins, 2007)

ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด เพื่อใช้สำหรับการฟื้นฟูสภาพทางชีวภาพของสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนน้ำมันต่อไป

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาถึงชนิดของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ทั้ง 3 สายพันธุ์
2. เพื่อศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์
3. เพื่อศึกษาถึงแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สมมติฐานของการวิจัย

แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ได้ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน และแบคทีเรียเหล่านี้ไม่มีเป็นแบคทีเรียก่อโรคต่อมนุษย์ สัตว์และพืชด้วย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทำให้ทราบถึงชนิดและลักษณะของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ
2. ทำให้ทราบถึงชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ผลิตได้
3. ทำให้ทราบถึงแบคทีเรียชนิดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด ในการย่อยสลายน้ำมัน ทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน ซึ่งน่าจะสามารถนำแบคทีเรียชนิดนี้ ไปศึกษาต่อและประยุกต์ใช้ในการฟื้นฟูสภาพสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนน้ำมันชนิดต่าง ๆ ต่อไป

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยประกอบด้วย 4 การทดลอง ได้แก่ การทดลองที่ 1 ทำการคัดเลือกและศึกษาชนิดของแบคทีเรียที่มีความสามารถมากที่สุด ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยใช้วิธีการทดลองทางชีวเคมี การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16s rRNA และการวิเคราะห์ลำดับความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธาน สำหรับการทดลองที่ 2 ทำการจำแนกชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยใช้วิธี Blue agar plate และวิธี Ninhydrin test ส่วนการทดลองที่ 3 นั้นทำการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและน้ำมันดิบ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารที่มีแหล่งของคาร์บอนและพลังงานเป็นน้ำมันแต่ละชนิด ใน

ระบบปิดและเป็นที่มีด เป็นระยะเวลา 35 วัน ในระหว่างการเพาะเลี้ยง ทุก ๆ วันที่ 0, 3, 7, 10, 14, 21, 28, 35 มีการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันชนิดต่าง ๆ และปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น และทำการเก็บตัวอย่างโดยเขย่าขวดตัวอย่างให้ทุกอย่างผสมกัน และดูดตัวอย่างออกมา ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย และวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันแต่ละชนิดของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ และในการทดลองที่ 4 ทำการคัดเลือกแบคทีเรียและสภาวะที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด เพื่อนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ชนิดของสารไฮโดรคาร์บอนที่คงเหลืออยู่ในตัวอย่างหลังจากมีการย่อยสลายแล้ว 35 วัน โดยส่งตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS ที่ศูนย์เครื่องมือและวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต และเปรียบเทียบระหว่างวันแรกและวันสุดท้ายของการทดลอง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ลักษณะ คุณสมบัติ และความเป็นพิษของน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ
 - 1.1 น้ำมันดีเซล
 - 1.2 น้ำมันเบนซิน
 - 1.3 น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว
 - 1.4 น้ำมันดิบ
2. สาเหตุของการปนเปื้อนน้ำมันชนิดต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม
3. ปัญหาและผลกระทบจากการปนเปื้อนน้ำมันชนิดต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม
4. วิธีการกำจัดและบำบัดสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนน้ำมันชนิดต่าง ๆ
5. กลไกการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ ของแบคทีเรีย
6. คุณสมบัติ ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และข้อดีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ
7. วิธีการในการวิเคราะห์ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ
8. แบคทีเรียที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ
9. ผลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ
10. ผลของสภาวะการมีและไม่มีออกซิเจนต่อการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ
11. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

ลักษณะ คุณสมบัติ และความเป็นพิษของน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ

1.1 น้ำมันดีเซล

น้ำมันดีเซล ประกอบด้วยสารไฮโดรคาร์บอนประมาณ 2,000 ถึง 4,000 ชนิด (Olson, Mills, Herbert, & Morris, 1999) โดยโครงสร้างหลัก ๆ 4 ประเภท ได้แก่ แอลเคน, ไอโซแอลเคน, ไฮโคลแอลเคนหรือแนฟทีน และอะโรมาติก และมีอะตอมของคาร์บอนอยู่ระหว่าง 11-25 อะตอม และมีช่วงของอุณหภูมิในการกลั่นอยู่ในช่วง 180-380 องศาเซลเซียส (Durand, 1998; Durand, Béboulène, & Ducrozet, 1995) น้ำมันดีเซลมักนำมาใช้ในเครื่องกำเนิดไฟฟ้า รถโดยสาร รถไฟ

รถแทรกเตอร์ และเรือประมง เป็นต้น โดยเครื่องยนต์เหล่านี้ต้องการการอัดอากาศเพื่อเพิ่มความร้อนในลูกสูบในการจุดระเบิด ซึ่งสามารถจุดระเบิดได้เองโดยไม่ต้องอาศัยหัวเทียนในการจุดระเบิด (สุวัฒน์ หนูศรี, 2009; ศรัณย์ ใจมุง, เศรษฐี เทียนบุญ, และอชิระ ไพบูลย์ภิญญาเลิศ, 2012)

1.2 น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเบนซิน เป็นสารไฮโดรคาร์บอนที่มีอะตอมของคาร์บอนอยู่ระหว่าง 4-10 อะตอม ช่วงของอุณหภูมิที่ใช้การกลั่นอยู่ในช่วง 30-35 และ 180-200 องศาเซลเซียส โดยโครงสร้างหลักของน้ำมันเบนซินประกอบด้วย 4 ประเภท ได้แก่ แอลเคน, ไอโซแอลเคน, ไซโคล-แอลเคนหรือแนฟทีน และอะโรมาติก ซึ่งน้ำมันเบนซินจะมีส่วนประกอบที่เป็นสารไฮโดรคาร์บอนอิสระประมาณ 230 ชนิด แต่ส่วนมากที่พบจะพบในรูปอะโรมาติกมากถึงร้อยละ 50 และไอโซแอลเคนร้อยละ 35 ของสารไฮโดรคาร์บอนที่พบทั้งหมด (Durand 1998; Durand et al., 1995) โดยน้ำมันเบนซินจะใช้กับเครื่องยนต์ที่มีการจุดระเบิดด้วยหัวเทียน ซึ่งคุณภาพของน้ำมันเบนซิน ถูกบ่งบอกด้วยค่าออกเทน หากค่าออกเทนยิ่งสูงแสดงว่าคุณภาพของน้ำมันเบนซินยิ่งดี ดังนั้นน้ำมันเบนซินจึงจำเป็นต้องมีการปรับปรุงคุณภาพด้วยการเติมสารเมทิลเทอร์เชียรีมีวทิลอีเทอร์ (MTBE) เพื่อเพิ่มค่าออกเทนก่อนการนำไปจำหน่ายเสมอ (ศรัณย์ ใจมุง และคณะ, 2012)

1.3 น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

น้ำมันเครื่องเป็นน้ำมันที่ใช้ในการลดความเสียดทานเมื่อผิวของโลหะในเครื่องจักรหรือเครื่องยนต์เคลื่อนที่ ส่วนประกอบสำคัญของน้ำมันหล่อลื่นที่เป็นพื้นฐานมาจากน้ำมันดิบ ซึ่งมีไฮโดรคาร์บอน พาราฟิน เบนซีน และมีโลหะหนัก เช่น แบริยม แคดเมียม โครเมียม ตะกั่ว และสังกะสี นอกจากนี้ยังมีสารเติมแต่งคุณภาพ เช่น สารป้องกันการเกิดสนิม เมื่อมีการใช้งานแล้วจะเกิดปฏิกิริยาทางเคมีทำให้เกิดความเป็นกรด กัดกร่อนเนื้อโลหะ เกิดตะกอนและกลายสภาพเป็นยางเหนียว (สุชาติา ชินะจิตร์, 2549)

น้ำมันเครื่องเป็นน้ำมันที่ใช้ในการหล่อลื่นยานพาหนะ เครื่องจักรในอุตสาหกรรม และกิจกรรมต่าง ๆ มากมาย และจากปริมาณการใช้งานที่สูงก่อให้เกิดน้ำมันเครื่องยวดยนต์ที่ใช้แล้วเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก โดยพบว่ามีปริมาณมากกว่า 230 ล้านลิตรต่อปี (กรมควบคุมมลพิษ, 2552; กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2555)

คุณสมบัติที่เปลี่ยนแปลงไปของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วมีดังนี้

1. ประสิทธิภาพในการหล่อลื่น หรือความหนืด (Viscosity) ลดลง
2. มีสีดำจากเขม่าและการเผาไหม้
3. มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxydation reaction) ของน้ำมันหล่อลื่นพื้นฐาน (Lube base oil) และสารเติมแต่ง (Additives)

4. มีโลหะหนักเจือปน
5. มีความเป็นกรด และมียางเหนียว (Gum) ที่จะกีดก่ร่อนขึ้นงาน
6. มีความชื้น หรือน้ำเจือปน

1.4 น้ำมันดิบ

น้ำมันดิบเป็นของเหลวที่มีโครงสร้างซับซ้อน ประกอบด้วย คาร์บอนประมาณร้อยละ 83-87 ไฮโดรเจนประมาณร้อยละ 10-14 ไนโตรเจนประมาณร้อยละ 0.1-2 ออกซิเจนประมาณร้อยละ 0.05-1.5 ซัลเฟอร์ประมาณร้อยละ 0.05-6 และโลหะอื่นได้แก่ เหล็ก นิกเกิล ทองแดง และวานาเดียมประมาณน้อยกว่าร้อยละ 0.1 โดยโครงสร้างของน้ำมันดิบมีตั้งแต่โครงสร้างง่าย ๆ ที่มีขนาดเล็กที่สุดคือ มีเทน (CH₄) ไปจนถึงที่มีขนาดใหญ่ที่บรรจุคาร์บอนถึง 50 หรือมากกว่านั้น ซึ่งคาร์บอนแต่ละอะตอมจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเดี่ยว พันธะคู่ หรือพันธะสาม ทำให้เกิดความหลากหลายของโครงสร้างของน้ำมันดิบ และเนื่องจากน้ำมันดิบมีองค์ประกอบ 4 ชนิดตามธรรมชาติ ได้แก่ พาราฟิน (แอลเคน) เนปทีน (ไซโคลแอลเคน) อะโรมาติก และแอสฟัลติก จึงทำให้มีกระบวนการแตกตัวที่แตกต่างกัน โดยที่ส่วนใหญ่ของน้ำมันดิบที่ขุดเจาะได้มีการนำไปใช้ในการผลิตเชื้อเพลิง ได้แก่ น้ำมันเบนซิน น้ำมันดีเซล น้ำมันหล่อลื่น น้ำมันเจ็ท เชื้อเพลิงที่ให้ความร้อน และก๊าซปิโตรเลียมเหลว (Jukic, 2013; The international council on clean transportation, 2011)

สาเหตุของการปนเปื้อนน้ำมันชนิดต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม

ในปัจจุบันทั่วโลกมีการผลิตน้ำมันประมาณ 3 ล้านล้านตันต่อปี และน้ำมันจำนวนครึ่งหนึ่งถูกขนส่งผ่านทางทะเล ซึ่งน้ำมันเฉลี่ยประมาณ 2 ล้านตันเกิดการสูญหายไปในแต่ละปี โดยการขนส่งน้ำมันที่ไม่ดีพอ (Readman et al., 1992) และเหตุการณ์ปนเปื้อนน้ำมันดิบและผลิตภัณฑ์จากการกลั่นน้ำมันดิบในดินและแหล่งน้ำมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น โดยในประเทศไทยมีรายงานการรั่วไหลของน้ำมันลงสู่สิ่งแวดล้อมในทุกปี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544-2559 (กรมเจ้าท่า, 2559) โดยสาเหตุของการปนเปื้อนน้ำมันลงสู่สิ่งแวดล้อมมีหลายสาเหตุด้วยกัน ยกตัวอย่างเช่น อุบัติเหตุในการขนส่งเชื้อเพลิงโดยทางเรือและรถบรรทุก การทำความสะอาดยานพาหนะในการขนส่ง การรั่วไหลจากถังเก็บรักษาใต้ดิน ซึ่งอาจเกิดจากการกีดก่ร่อนในสถานีบริการน้ำมัน กระบวนการสกัดและขุดเจาะน้ำมัน การลักลอบปลดปล่อยของเสียที่เป็นน้ำมันจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ใช้ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จากน้ำมันในการผลิตพลาสติก, ตัวทำละลาย, เกสซ์กรรม และเครื่องสำอาง (Environmental Protection Agency of United States, 2008; Lin, Pan, & Cheng, 2010; Marques, Moraes, & Maurat, 2009)

ปัญหาและผลกระทบจากการปนเปื้อนน้ำมันชนิดต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อม

การปนเปื้อนสารไฮโดรคาร์บอนจำพวกน้ำมันในดินและแหล่งน้ำใต้ดินเป็นเรื่องที่มีความให้ความสนใจและตระหนักอย่างมากทั้งในอุตสาหกรรมและประเทศกำลังพัฒนา เนื่องจากเมื่อน้ำมันเหล่านี้ เมื่อมีการแพร่กระจายในวงกว้างจะส่งผลกระทบต่อดิน, น้ำใต้ดิน และอากาศรอบ ๆ บริเวณที่มีการปนเปื้อน โดยเฉพาะน้ำมันเบนซิน และน้ำมันดีเซล ที่มีส่วนประกอบเป็นสารไฮโดรคาร์บอนจำพวก BTEX ที่จะเป็นสิ่งแรกที่แพร่กระจายไปยังแหล่งน้ำใต้ดินได้ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้สูงกว่าสารอื่น ๆ ซึ่งมีความเป็นพิษ และเป็นสาเหตุของการตายได้ (Mariano, Kataoka, Angelis, & Bonotto, 2007; Janbandhu, & Fulekar, 2011; Lebrero, Estrada, Muñoz, & Quijano, 2012)

โดย Fellenberg (1980) ได้รายงานไว้ว่า เมื่อน้ำมันดิบและน้ำมันชนิดอื่น ๆ สัมผัสกับน้ำ จะเกิดการกระจายตัวสร้างเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าของน้ำ ทำให้เกิดการขัดขวางการแลกเปลี่ยนออกซิเจนระหว่างอากาศและน้ำ รวมถึงปิดกั้นแสงที่ใช้ในการสังเคราะห์แสงของแพลงตอนพืชด้วย ทำให้ห่วงโซ่อาหารถูกทำลาย โดยที่น้ำมันปริมาณ 1 ลิตร สามารถกำจัดออกซิเจนได้ 1,000,000 ลิตรในแหล่งน้ำ และเกิดเป็นชั้นฟิล์มบาง ๆ กินพื้นที่ถึง 1,000 ตารางเมตร บนผิวดิน ในระยะเวลาเพียง 2-3 วัน ส่งผลให้สิ่งมีชีวิตที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมบริเวณนั้นขาดออกซิเจนและตาย ยิ่งส่งผลกระทบต่อทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำต่ำลงไปอีกเนื่องจากจุลินทรีย์ใช้ออกซิเจนในการย่อยสลายซากสิ่งมีชีวิตที่ตายเหล่านั้น (Yeung et al., 2011)

นอกจากนี้ในปัจจุบันประเทศไทยมีร้านที่ประกอบกิจการซ่อมรถจักรยานยนต์ และรถยนต์จำนวนมาก ทำให้มีการทิ้งน้ำมันหล่อลื่นที่ผ่านการใช้งานแล้วลงสู่ดิน ซึ่งน้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้วเหล่านี้จะซึมผ่านช่องว่างในดิน หรือแทรกอยู่ระหว่างช่องว่างของดิน ทำให้ดินเสียคุณค่าในการเพาะปลูก อาจซึมลงไปถึงชั้นน้ำใต้ดิน ทำให้เกิดการปนเปื้อนในแหล่งน้ำใต้ดินเกิดกลิ่นและไม่เหมาะต่อการอุปโภคและบริโภคด้วย และเมื่อมีการสัมผัสน้ำมันชนิดต่าง ๆ จะทำให้เกิดการระคายเคืองตามผิวหนัง เป็นผื่นคัน แสบร้อน เกิดแผลและติดเชื้อได้ รวมถึงสารพิษจะซึมเข้าสู่ผิวหนังทำให้เกิดอันตรายอย่างต่อเนื่องในระยะยาว เช่น มะเร็งผิวหนัง เป็นต้น การสูดดมกลิ่นเหม็นของน้ำมันทำให้ปอดได้รับสารพิษ เกิดอาการปอดอักเสบ โรคระบบทางเดินหายใจ การรับสารพิษโดยการดูดซึมทางร่างกายอาจจะทำให้สารพิษไปสะสมในไตจนเกิดภาวะไตเสื่อมและไตวายได้ ความกระทบกระเทือนทางระบบประสาท ปวดศีรษะ วิงเวียน ตาพร่า หัวใจเต้นผิดปกติ และมีเลือดออกจากรอยเยาะต่าง ๆ หากได้รับสัมผัสเป็นระยะเวลานานอาจเกิดอันตรายถึงขั้นระบบ

ประสิทธิภาพการควบคุมการเคลื่อนไหวถูกทำลาย ทำให้ไม่สามารถทรงตัวและไม่สามารถเดินได้เป็นปกติ และอาจรุนแรงถึงขั้นเป็นมะเร็งและตายในที่สุด (สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 16, 2556)

วิธีการกำจัดและบำบัดสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนน้ำมันชนิดต่าง ๆ

ในการกำจัดและบำบัดสิ่งแวดล้อมในสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนสามารถทำได้หลากหลายวิธี (พิสุทธิ เพ็ชรมนกุล และคณะ, 2556; นำชัย ชีววิวัฒน์, 2556)

4.1 วิธีการทางกายภาพ

4.1.1 เป็นวิธีที่ใช้การฉีดล้างร่วมกับการควบคุมและการนำกลับ การฉีดล้างให้น้ำมันรวมกับเฟสน้ำ และควบคุมน้ำมันที่ถูกชะล้างให้อยู่ในพื้นที่จำกัดด้วยท่อนลอยน้ำ ในกรณีที่มีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำ และทำการกำจัด โดยการใช้เครื่องสูบ ดูดซับด้วยวัสดุดูดซับ และนำไปกำจัดต่อไป โดยหากน้ำมันที่มีความหนืดต่ำ สามารถฉีดล้างแบบธรรมดาด้วยแรงงานคนได้ แต่หากเป็นน้ำมันที่มีความหนืดสูงจำเป็นต้องใช้น้ำแรงดันสูง หรือน้ำที่มีอุณหภูมิสูง จึงจะสามารถฉีดล้างได้

4.1.2 การกำจัดด้วยแรงงานคนหรือเครื่องจักร โดยการตัก หรือกวาดชั้นน้ำมัน หรือใช้ตัวดูดซับ เพื่อนำน้ำมันกลับมาใช้ใหม่ และการตัดพืชบริเวณที่ปนเปื้อน ส่วนการกำจัดด้วยเครื่องจักร เป็นวิธีที่ใช้แรงงานคนน้อย กำจัดได้รวดเร็ว แต่สร้างของเสียที่ปนเปื้อนน้ำมันมากกว่า การใช้แรงงานคนถึง 10 เท่า เครื่องจักรที่ใช้ เช่น Scraper, Front-end, และ Backhoes และนำน้ำมันกลับไปใช้ใหม่ หรือนำของเสียที่ปนเปื้อนน้ำมันไปบำบัดต่อไป โดยวิธีนี้เป็นวิธีที่ใช้เวลานาน และทำลายผิวหน้าบริเวณนั้นมาก แต่นิยมใช้เพราะสามารถใช้เวลาที่ไม่ต้องผ่านการฝึกฝนมากนัก

4.1.3 การกวนผสม (Mixing) เป็นวิธีที่สร้างความปั่นป่วนให้กับตะกอนในบริเวณแหล่งกำเนิดสามารถทำได้ทั้งแบบแห้งและแบบเปียก โดยการกวนผสมแบบแห้ง (Dry mixing) เหมาะสำหรับอนุภาคน้ำมันขนาดเล็ก ซึ่งทำเพื่อเพิ่มความเร่งผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการบำบัดโดยธรรมชาติ และทำให้เกิดการย่อยสลายมากขึ้น ส่วนการกวนผสมแบบเปียก (Wet mixing) ใช้เพื่อให้น้ำมันถูกปลดปล่อยจากชั้นตะกอนและสามารถทำให้น้ำมันกลับมาใช้ใหม่หรือการเติมอากาศ (Aeration)

4.1.4 การใช้วัสดุดูดซับน้ำมัน เหมาะสมกับพื้นที่ที่มีน้ำมันรั่วไหลไม่มากนัก หรือใช้ในขั้นตอนสุดท้ายที่เหลือน้ำมันไม่มากแล้ว ซึ่งวัสดุดูดซับมีหลายชนิด ได้แก่

1) สารอินทรีย์ เช่น ฟาง หญ้าแห้ง ขี้เลื่อย ขนนก ดูดซับได้ประมาณ 3-15 เท่าของน้ำหนัก และมักจมตัวลงในแหล่งน้ำ ทำให้เก็บได้ยาก

2) สารอนินทรีย์ เช่น ดินเหนียว หรือเถ้าภูเขาไฟ ดูดซับได้ประมาณ 4-20 เท่าของน้ำหนัก และมักใช้กับน้ำมันที่จมอยู่ใต้น้ำ แต่ทำให้เก็บได้ยาก

3) สารสังเคราะห์ มีคุณสมบัติคล้ายพลาสติก ดูดซับได้ถึง 70 เท่าของน้ำหนัก แต่มีข้อเสียคือ ภายหลังจากดูดซับน้ำมันแล้ว ต้องนำวัสดุเหล่านี้ไปทำลายต่อ

4.1.5 การเผาไหม้ (Burning) เป็นวิธีการที่ควรเลือกใช้การทำการบำบัดด้วยวิธีอื่น ๆ และเหมาะสมสำหรับน้ำมันที่มีความหนาตั้งแต่ 3 มิลลิเมตรขึ้นไป โดยเริ่มจากการจำกัดพื้นที่ของน้ำมันด้วยทุบกักเก็บชนิดพิเศษที่ทนไฟได้ดี เช่น Ceramic type boom และวิธีการเผาทำลายจะทำให้เกิดมลพิษในอากาศในปริมาณมาก

ในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการบำบัดทางกายภาพวิธีใดที่สามารถใช้พลังงานต่ำ รวดเร็ว ทำได้เพียงขั้นตอนเดียว และลดการเกิดของเสียได้ และนอกจากนี้ในกรณีที่มีการแทรกซึมของน้ำมันในดินหรือทรายและทับถมของตะกอน หากใช้วิธีการทางกายภาพจะทำให้เกิดของเสียปริมาณมากหรือใช้แรงงานคนจำนวนมาก วิธีการบำบัดทางกายภาพอาจจะไม่เหมาะสม

4.2 วิธีการทางเคมี

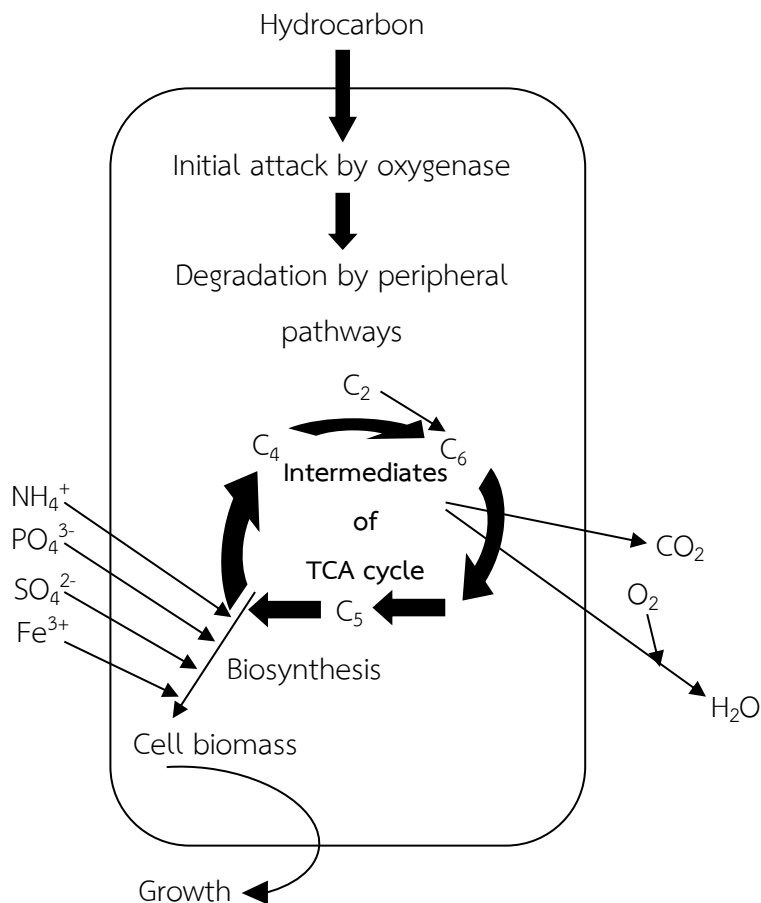
เป็นวิธีที่เป็นวิธีที่ใช้สารเคมี หรือลดแรงตึงผิว เพื่อทำให้น้ำมันกระจายตัวออก ไม่เป็นก้อน ไม่ตกตะกอน และเป็นพิษน้อยลง ใช้เพื่อด่างน้ำมันที่เกาะติดกับดิน หรือชายฝั่ง หรือสิ่งก่อสร้าง โดยสเปรย์สารลดแรงตึงผิวลงบนบริเวณที่ปนเปื้อนน้ำมัน เพื่อชะล้างน้ำมันที่เกาะติดกับสิ่งต่าง ๆ ให้สามารถกำจัดน้ำมันได้ง่ายขึ้น หรือเพิ่มอัตราการย่อยสลายโดยธรรมชาติในบริเวณที่มีการขุดปนเปื้อน สามารถใช้ได้ในพื้นที่กว้าง แต่วิธีการนี้คือ สารจำพวกนี้มีความเป็นพิษด้วย และต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการดำเนินการ หรืออาจต้องมีการควบคุมและตรวจสอบด้วยหน่วยงานภาครัฐด้วย

4.3 วิธีการทางชีวภาพ

เป็นวิธีที่ใช้พืช หรือจุลินทรีย์ โดยมีเห็ด หรือจุลินทรีย์บางชนิดมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันได้ดี โดยวิธีนี้ จะทำการฉีดพ่นจุลินทรีย์ลงในบริเวณที่มีการปนเปื้อนน้ำมัน อาจจะต้องมีตัวช่วยอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่นการเติมสารอาหารให้จุลินทรีย์ ซึ่งวิธีนี้จะส่งผลให้คราบน้ำมันมีขนาดโมเลกุลเล็กลงและไม่เป็นพิษ แต่จะใช้เวลานานในการบำบัดมากกว่าวิธีอื่น ๆ

กลไกการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ ของแบคทีเรีย

กระบวนการย่อยสลายน้ำมันปิโตรเลียมเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและปริมาณของน้ำมันปิโตรเลียมที่พบด้วย และยังมีอีกหลากหลายปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ และหนึ่งปัจจัยที่เป็นข้อจำกัดของกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียก็คือ ความสามารถในการเข้าถึงน้ำมันปิโตรเลียมของแบคทีเรีย เนื่องจากสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจะยึดเกาะกับอนุภาคของดิน หรืออนุภาคต่าง ๆ ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมนั้น ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ยากต่อการกำจัด และเมื่อเรียงลำดับสารไฮโดรคาร์บอนที่แบคทีเรียสามารถเกิดกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่าย ได้ดังนี้ Linear alkanes > branched alkanes > small aromatics cyclic alkanes และสารบางชนิดที่มีมวลโมเลกุลสูง เช่น สารโพลีไซคลิก อะโรมาติก ไฮโดรคาร์บอน (PAH) อาจจะไม่สามารถเกิดกระบวนการย่อยสลายได้ (Das & Chandran, 2011) การย่อยสลายน้ำมันปิโตรเลียมมักเกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน โดยแบคทีเรียจะจับน้ำมันปิโตรเลียม และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) เคทีเวชัน (Activation) และมีการตรึงออกซิเจนมาช่วยกระตุ้นเอนไซม์ออกซีจีเนส และเอนไซม์เพอรอกซิเดส ให้จับกับน้ำมันปิโตรเลียม และทำการย่อยสลายให้กลายเป็นสารตัวกลางในกระบวนการเมทาบอลิซึมภายในเซลล์ของแบคทีเรีย เช่น วัฏจักรของกรดไตรคาร์บอกซิลิก (TCA cycle) เป็นกระบวนการสังเคราะห์ส่วนต่าง ๆ ของเซลล์ และการเจริญเติบโตของเซลล์ (Fritsche & Hofrichter, 2000) (ภาพที่ 2-1)



ภาพที่ 2-1 กลไกการนำสารปิโตรเลียมเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย และการใช้สารตัวกลางในการสังเคราะห์ส่วนต่าง ๆ ของเซลล์ และการเจริญของเซลล์แบคทีเรีย (Fritsche & Hofrichter, 2000)

นอกจากกลไกในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียแล้ว ยังมีอีกหลายกลไกที่เกี่ยวข้องในกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพของน้ำมันปิโตรเลียม ได้แก่ 1) การเกาะติดของเซลล์แบคทีเรียกับน้ำมันปิโตรเลียม 2) การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยทั้ง 2 กลไกจะช่วยในการทำให้น้ำมันแตกตัวเป็นหยด และนำน้ำมันเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย

คุณสมบัติ ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และข้อดีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารอิมัลซิไฟเออร์เป็นสารประเภทแอมฟิพาติก (Amphipathic) คือสารที่มีทั้งส่วนที่ไม่มีขั้วหรือส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) และส่วนที่มีขั้วหรือส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) ช่วยเพิ่มการเจริญของแบคทีเรียบนสารตั้งต้นที่ไม่ละลายน้ำ โดยการเพิ่มการเข้าถึงสารตั้งต้น เพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสของสารตั้งต้น ช่วยในการแพร่กระจายของน้ำเข้าสู่สิ่งอื่นเป็นไปอย่างเสถียร เช่น ทำให้เกิดอิมัลชันระหว่างน้ำกับน้ำมัน และเพิ่มการหลุดจากพื้นผิวที่ยึดเกาะของสารตั้งต้น รวมถึงยังเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของสารตั้งต้นด้วย (Ron & Rosenberg, 2001; Cooper & Zajic, 1980)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถจัดกลุ่มได้หลายแบบ ขึ้นอยู่กับเกณฑ์ที่ใช้ในการจำแนก หากจำแนกตามน้ำหนักโมเลกุล จะสามารถแบ่งได้ดังนี้ กลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย ได้แก่ ไกลโคลิปิด (Glycolipids) และ ลิโปเปปไทด์ (Lipopptides) ซึ่งไกลโคลิปิดสามารถพบได้ในจุลินทรีย์หลากหลายชนิด เช่น *Rhodococcus erythropolis* (Trehalose dimycolates) (Kim et al., 1990) และอีกชนิดหนึ่งที่ดีที่สุดในกลุ่มของไกลโคลิปิดคือ แรมโนลิปิด (Rhamnolipid) ซึ่งผลิตได้จากแบคทีเรีย *Pseudomonads* หลายสปีชีส์ (Hauser & Karnovsky, 1954) ส่วนลิโปเปปไทด์หลายตัวที่มีประสิทธิภาพที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* คือ เซอร์แฟคติน (Surfactin) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ออกฤทธิ์มากที่สุด (Peypoux, Bonmatin, & Wallach, 1999; Cooper, Liss, Longay, & Zajic, 1989) และไกลโคลิปิดยังสามารถผลิตได้จากแบคทีเรียหลากหลายชนิด ได้แก่ *Streptomyces tendae* (Streptofactin), *Bacillus brevis* (Gramicidin), *Bacillus polymyza* (Polymyxins) เป็นต้น และกลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ส่วนใหญ่ที่แบคทีเรียหลากหลายชนิดผลิตได้คือ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ กลุ่มเอ็กโซเซลลูลาร์โพลีเมอร์ (Exocellular polymeric surfactant) โดยกลุ่มนี้ประกอบด้วย โพลีแซ็กคาไรด์ โปรตีน ลิโปโพลีแซ็กคาไรด์ ลิโปโปรตีน หรือเป็นสารผสมของสารโพลีเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มนี้ที่พบมากที่สุด คือ ไบโอบีโอมัลชัน (Bioemulsan) ซึ่งผลิตโดย *Acinetobacter* หลายสปีชีส์ (Rosenberg & Ron, 1998)

นอกจากนี้หากจำแนกโดยอาศัยโครงสร้างทางเคมี (Vijayakumar & Saravanan, 2015; Shah, Nikam, Gaikwad, Sapre, & Kaur, 2016) สามารถจำแนกได้ดังนี้

1) ไกลโคลิปิด (Glycolipids) เป็นกลุ่มของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เป็นที่รู้จักมากที่สุด ซึ่งสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้มีโครงสร้างที่ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรตเชื่อมต่อกับลิปิดด้วย

พันธะอีเทอร์หรือเอสเตอร์ สารลดแรงตึงผิวในกลุ่มนี้ที่พบได้มากที่สุด ได้แก่ แรมโนลิปิด (Rhamnolipids), ตรีฮาโลลิปิด (Trehalolipids) และโซโฟโรลิปิด (Sphorolipids) (Desai & Banat, 1997; Muthusamy, Gopalakrishnan, & Ravi, 2008)

2) ลิโปเปปไทด์ และลิโปโปรตีน (Lipopeptides and Lipoproteins) เป็นกลุ่มของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีโครงสร้างประกอบด้วยไขมันที่เกาะอยู่กับสายโพลีเปปไทด์ ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มนี้ จะมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Antimicrobial) ยกตัวอย่างเช่น สารอิทูริน (Iturin) ที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย และนอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มนี้ยังสามารถลดแรงตึงผิวและแรงตึงระหว่างผิวของน้ำได้ด้วย เช่น สารเซอร์แฟคติน (Surfactin) ที่ผลิตโดย *B. subtilis* (Arima, Kakinuma, & Tamura, 1968)

3) กรดไขมัน และฟอสโฟลิปิด และนิวทรัลลิปิด (Fatty acids, phospholipids & neutral lipids) มีโครงสร้างที่เกิดจากพันธะเอสเทอร์ระหว่างหมู่แอลกอฮอล์ของลิปิดและฟอสเฟต โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มนี้ผลิตโดยแบคทีเรียและยีสต์ผลิตเจริญบนสารตั้งต้นที่เป็นแอลเคน (n-alkane) ยกตัวอย่างเช่น 1-N, phosphatidyl ethanolamine-rich vesicles ที่ผลิตจาก *Acinetobacter* spp. ที่เจริญบน เฮกซะเดคเคนในน้ำ ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มนี้มีประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านเภสัชกรรม (Muthsamy et al., 2008)

4) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดพอลิเมอร์ริค (Polymeric microbial surfactants) เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้น มีโครงสร้างของโปรตีนร่วมกับโพลีแซคาไรด์ที่เป็น Polymeric hetero saccharide และพอลิเมอร์ของกรดไขมันในธรรมชาติ เช่น อิมัลแซน (Emulsan) ลิโปแซน (Liposan) และลิโปแมนแนน (Lipomanan) เป็นต้น โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอางค์ (Chakrabarti, 2012)

วิธีการในการวิเคราะห์ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ในการคัดกรองสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพมีหลากหลายวิธี (Amallesh et al., 2012) ได้แก่

7.1 Hemolytic activity เป็นวิธีที่ทำได้โดยนำแบคทีเรียมาขีดเชืบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Blood agar และนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48-72 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการสังเกตบริเวณ รอบ ๆ โคโลนี โดยหาเกิดโซนใส ไม่มีสีรอบ ๆ โคโลนี เรียกว่า beta hemolysis

แสดงว่าเป็นผลบวก ส่วนถ้าเกิดโซนสีเขียวรอบ ๆ โคโลนี เรียกว่า alpha hemolysis และไม่เกิดโซนรอบ ๆ โคโลนี เรียกว่า Gamma hemolysis ซึ่งทั้ง 2 แบบนี้แสดงว่าเป็นผลลบ

7.2 Drop collapsing test เป็นวิธีที่ทำการคัดกรองสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในเชิงคุณภาพ ทำได้โดยเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว และปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ หลังจากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ตกตะกอนเซลล์แล้วมาทำการฆ่าเชื้อโดยการกรองผ่าน Millipore membrane filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร นำส่วนใสที่ได้หยดลงบนผิวหน้าของสารไฮโดรคาร์บอน หากหยดของสารไฮโดรคาร์บอนยุบตัวลง แสดงว่าเป็นผลบวก หากไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยใช้น้ำกลั่นเป็น Negative control

7.3 Oil spreading test ทำได้โดยนำจานเพาะเชื้อเปล่ามาเติมน้ำลงเป็นไปชั้นแรก และเติมสารไฮโดรคาร์บอนเป็นชั้นที่ 2 แล้วนำส่วนใสที่ปราศจากเชื้อที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หยดลงไปบนผิวหน้าของสารที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ และทำการวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสที่เกิดขึ้น

7.4 Emulsification index test เป็นการทดสอบเชิงปริมาณ โดยใช้หลอดทดลองใส่สารไฮโดรคาร์บอนปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อมาแล้ว 48 ชั่วโมง ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และทำการผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง Vortex เป็นระยะเวลา 2 นาที หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง และทำการวัดความสูงของอิมัลชันที่เกิดขึ้น และคำนวณค่า Emulsification index จากสูตรดังนี้

$$\text{Emulsification index (E24; \%)} = \frac{\text{ความสูงของชั้นอิมัลชัน}}{\text{ความสูงของของเหลวทั้งหมด}} \times 100$$

7.5 Blue agar plate or CTAB agar plate method เป็นวิธีที่ใช้ในการคัดกรองการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มไกลโคลิปิด (Glycolipids) ที่แบคทีเรียผลิตออกนอกเซลล์ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ CTAB agar ที่ประกอบด้วย Methylene blue 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้แบคทีเรียที่มีอายุ 24 ชั่วโมง จุดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CTAB agar และนำไปบ่มเป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง หลังจากนั้นสังเกตการเกิดบริเวณสีน้ำเงินเข้ม รอบ ๆ จุดของโคโลนี แสดงถึงผลบวก

7.6 Ninhydrin test (Zhang et al., 2012) เป็นวิธีที่ใช้ในการคัดกรองการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม ลิโปเปปไทด์ ทำได้โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ และนำส่วนใสมาฆ่าเชื้อด้วยการกรองผ่าน

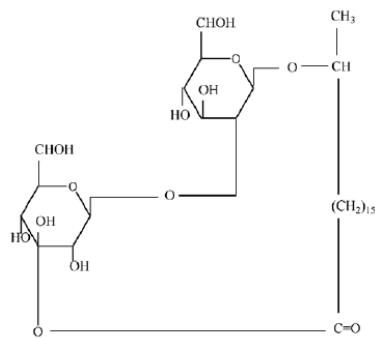
Millipore membrane filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วบีบเปิดส่วนไฮปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมนลงในหลอดทดลอง และหยดสารละลาย Ninhydrin เข้มข้น 0.5% จำนวน 3 หยด และนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 1 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงสี โดยที่ผลบวกสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู ม่วง ถึงน้ำเงิน และผลลบสารละลายจะไม่มี การเปลี่ยนแปลงสี

จุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

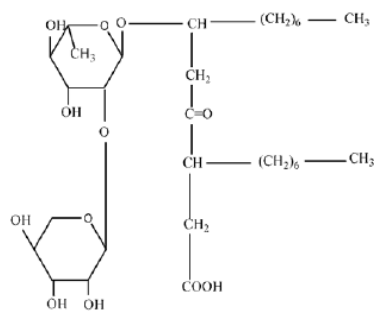
จากงานวิจัยที่ผ่านมา มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารอิมัลซิไฟเออร์ เช่น สารเซอร์เฟกติน (Surfactin) ที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มลิโปเปปไทด์ที่ผลิตโดย *Bacillus siamensis* เป็นต้น (ตารางที่ 2-1) (Das & Chandran, 2011) และจุลินทรีย์ยังสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีโครงสร้างที่หลากหลาย และมีโครงสร้างใหม่ ๆ (ภาพที่ 2-2) นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูกลง และจุลินทรีย์สามารถดัดแปลงพันธุกรรม เพื่อให้มีการผลิตมากขึ้น หรือ ผลิตสารใหม่ ๆ ได้ โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากจุลินทรีย์เป็นสารที่มีความเป็นพิษน้อยกว่า และย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่ายกว่าสารลดแรงตึงผิวที่สังเคราะห์ขึ้น (Cameotra & Makkar, 2010)

ตารางที่ 2-1 ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ (Das & Chandran, 2011)

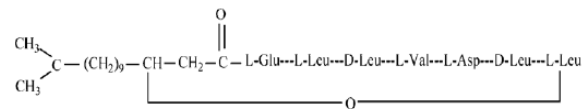
Biosurfactants	Microorganisms
Glycolipid	<i>Aeromonas</i> sp.
	<i>Bacillus</i> sp.
Sophorolipids	<i>Candida bombicola</i>
Rhamnolipids	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Lipopeptide	<i>Bacillus siamensis</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>



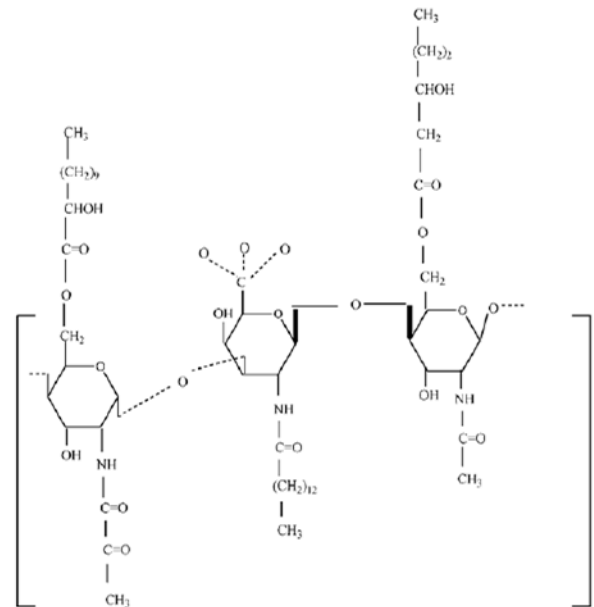
Sophorolipids



Rhamnolipid



Surfactin



Particulate Surfactant

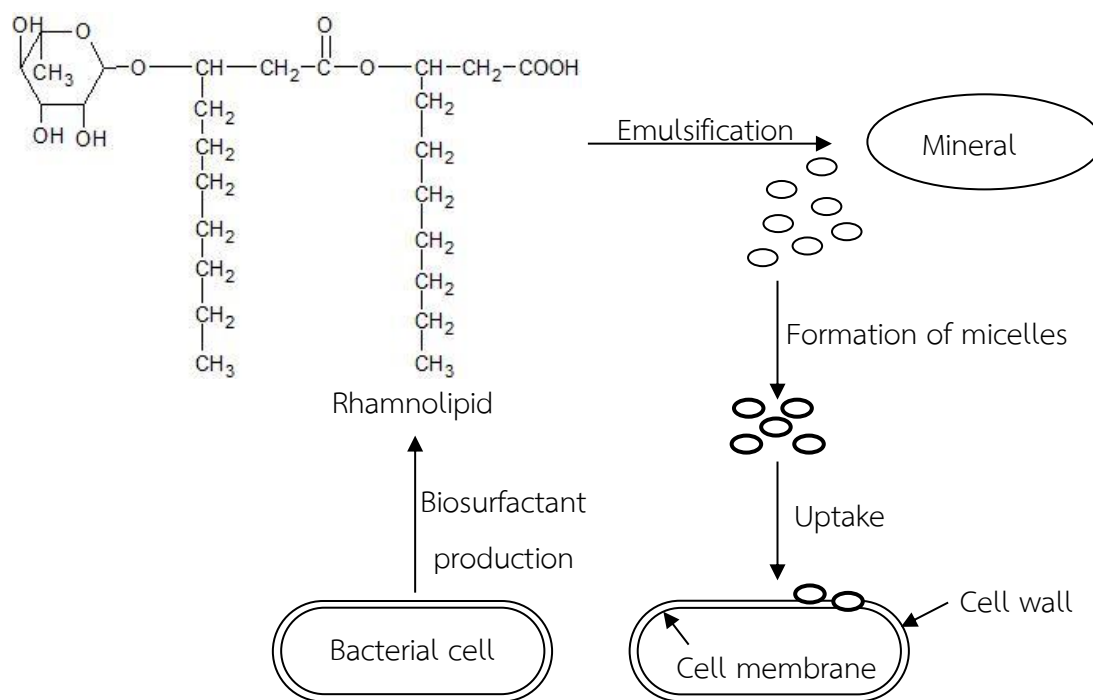
ภาพที่ 2-2 ตัวอย่างโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยจุลินทรีย์แต่ละชนิด (Cameotra & Makkar, 2010)

ผลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารที่มีคุณสมบัติที่ดีมากมาย เมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ เช่น สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้สูง, มีความเป็นพิษต่ำ, สามารถเข้ากับเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตได้ และสามารถย่อยได้ทางชีวภาพ โดยที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นกลุ่มของสารที่มีความหลากหลายของสารประกอบเคมีที่ออกฤทธิ์ที่ผิว ซึ่งผลิตโดยจุลินทรีย์หลายชนิด สารลดแรงตึงผิวสามารถเพิ่มการละลาย และการกำจัดสารปนเปื้อนได้ (Brusseau, Miller, Zhang, Wang, & Bai, 1995; Bai, Brusseau, & Miller, 1997; Pirollo et al., 2008) การย่อยสลายทางชีวภาพที่มีการเพิ่มสารลดแรงตึงผิวจะช่วยเพิ่มการเข้าถึงสารปนเปื้อนโดยจุลินทรีย์ (Barkay Navon-Venezia, Ron, & Rosenberg, 1999) และการฟื้นฟูพื้ฟูภาคตะกอนที่เต็มไปด้วยน้ำมันโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ในขณะที่การเติมสารอาหารผสม และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอน และกลุ่มของจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายส่วนที่เป็นสารไฮโดรคาร์บอนของดินที่มีการปนเปื้อนน้ำมันดิบ 1% (v/v) ได้ถึง 91% ภายในระยะเวลา 5 สัปดาห์ และชุดการทดลองที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถลดปริมาณของสารไฮโดรคาร์บอนได้ถึง 91-95% ภายใน 4 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตามการเติมทั้งกลุ่มของจุลินทรีย์ และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถกำจัดสารไฮโดรคาร์บอนได้มากถึง 98% ดังนั้นผลการทดลองดังกล่าวจึงสามารถยืนยันถึงประสิทธิภาพในการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสำหรับการบำบัดสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนสารไฮโดรคาร์บอน

นอกจากนี้แบคทีเรียกลุ่ม *Pseudomonad* เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการใช้สารไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงาน และผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีที่สุด (Rahman, Rahman, Lakshmanaperumalsamy, Marchant, & Banat, 2003; Cameotra & Singh, 2008; Beal & Betts, 2000; Pornsunthorntawe, Maksung, Huayyai, Rujiravanit, & Chavadej, 2009) และในบรรดาแบคทีเรีย *Pseudomonad* มีการศึกษาพบว่า *Pseudomonas aeruginosa* สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มไกลโคลิปิดได้ แต่อย่างไรก็ตาม สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีรายงานว่าสามารถผลิตได้จากแบคทีเรียหลายสปีชีส์ เช่น *Pseudomonas putida* และ *Pseudomonas chlororaphis* โดยที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถเพิ่มพื้นที่ผิวและการเข้าถึงของแบคทีเรียเพื่อให้แบคทีเรียสามารถใช้น้ำมันได้ (Nikolopoulou & Kalogerakis, 2009) และมีรายงานถึงการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยจุลินทรีย์หลากหลายชนิดด้วย ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถทำหน้าที่เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์เพื่อช่วยลดแรงตึงผิวและช่วยในการสร้างไมเซลล์ได้ โดยหยดเล็ก ๆ ของน้ำมันจะสามารถจับกับส่วนของผิวเซลล์ของจุลินทรีย์ที่เป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ และเกิดการนำเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์และเกิดการย่อยสลายตามมา (ภาพที่ 2-2) แสดงให้เห็นถึงการมีส่วนร่วมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทแรมโนลิปิดที่ผลิตโดย *Pseudomonas* sp. และกลไกการสร้างไมเซลล์เพื่อนำสารไฮโดรคาร์บอนเข้าสู่เซลล์ (Fritsche & Hofrichter, 2000)



ภาพที่ 2-3 กลไกการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการนำน้ำมันเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย (Das & Chandran, 2011)

ผลของสภาวะการมีและไม่มีออกซิเจนต่อการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ

ออกซิเจนถือเป็นปัจจัยที่จำกัดในกระบวนการย่อยสลายน้ำมันปิโตรเลียมชนิดต่าง ๆ โดยเมื่อมีการกระตุ้น (biostimulation) ด้วยการเติมออกซิเจนสามารถทำให้กระตุ้นกิจกรรมของจุลินทรีย์และช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพที่ใช้ออกซิเจนได้ด้วย (Zawierucha & Malina, 2011) จึงทำให้กระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพสามารถเกิดขึ้นในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีกว่า ส่วนในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะเกิดกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพที่ช้ามาก โดยมีตัวรับอิเล็กตรอนได้แก่ ไนเตรต, ซัลเฟต, ไอรอน (3+) แมงกานีส และมีเทน ซึ่งแตกต่างกับในสภาวะที่มีออกซิเจนที่มีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน (Burland & Edwards, 1999; Salminen, Tuomi, Suortti, & Jorgensen, 2004) โดยจากงานวิจัยของ Salminen et al. (2004) พบว่ากลุ่มของแบคทีเรียสามารถเกิดการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจำพวกแอลเคนได้ภายใต้สภาวะที่มีมีเทนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนหลักที่สำคัญ ถึงแม้ว่ากระบวนการย่อยสลายน้ำมันปิโตรเลียมในสภาวะที่มีออกซิเจนจะเกิดได้ดีและเร็วกว่าสภาวะที่มีออกซิเจน แต่ในสิ่งแวดล้อมจริงพบว่ายังมีระบบนิเวศที่ไม่มีออกซิเจนหรือมีปริมาณออกซิเจนต่ำ เช่น ใต้ดินลึก ชั้นหินอุ้มน้ำ

ในแหล่งน้ำจืด และน้ำเค็ม เป็นต้น แบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันปิโตรเลียม ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจึงมีความจำเป็นและมีประโยชน์มาก หากเกิดการปนเปื้อนหรือรั่วไหล ของน้ำมันปิโตรเลียมลงสู่แหล่งธรรมชาติเหล่านี้ (Hassanhahian & Cappello, 2013)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kumar, Leon, Materano, and Ilzins (2007) ได้ทำการศึกษาถึง *Bacillus* sp. สายพันธุ์ DHT ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารกลุ่มไฮโดรคาร์บอน โดย *Bacillus* sp. ชนิดนี้เป็น แบคทีเรียกลุ่มทนเกลือ และทนต่อความร้อนสูง นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการผลิตสาร อิมัลชัน และสายพันธุ์นี้สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบ น้ำมันเชื้อเพลิง สารเอลเคนหลากหลายชนิด และสาร PAHs เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ในช่วงของอุณหภูมิและความเค็มที่กว้าง รวมทั้ง การย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอน และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของแบคทีเรียชนิดดังกล่าว ไม่มีผลจากค่าความเค็มในช่วง 0-10% w/v และอุณหภูมิในช่วง 30-45 องศาเซลเซียส และสารลด แรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรียชนิดนี้สามารถทำให้เกิดอิมัลชันกับสาร hexadecane ดีที่สุด และกับสาร toluene น้อยที่สุด และเมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี 16s rDNA พบว่าสายพันธุ์ DHT เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus licheniformis*

Cybulski, Dziurla, Kaczorek, and Olszanowski (2003) ได้ทำการศึกษาถึงอิทธิพล ของสารอิมัลซิไฟเออร์ต่อการย่อยสลายทางชีวภาพของสารไฮโดรคาร์บอน โดยแบคทีเรียกลุ่ม Pseudomonad (*Pseudomonas aeruginosa* และ *Pseudomonas putida*) และ *Bacillus* (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* และ *Bacillus laterospor*) การศึกษา ครั้งนี้ใช้สารอิมัลซิไฟเออร์ ได้แก่ AT 7, Tween-80 และ Lutensol GD 70 ในสารละลายที่ปลอด เชื้อ และตัวอย่างน้ำจากแม่น้ำ Warta ในประเทศโปแลนด์ ภายใน 7 วันของการย่อยสลายทาง ชีวภาพในทั้ง 2 ตัวอย่าง และผลการศึกษาพบว่า ประสิทธิภาพในการย่อยสลายทางชีวภาพขึ้นกับ ชนิดของสารอิมัลชันที่ใช้ในการย่อยสลาย และผลการทดลองการย่อยสลายทางชีวภาพบ่งบอกถึง บทบาทสำคัญของสารอิมัลซิไฟเออร์ธรรมชาติที่ผลิตโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Pseudomonas putida*

Thavasi, Jayalakshmi, and Banat (2011) ได้ทำการศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิว ชีวภาพ และปุ๋ย ต่อการย่อยสลายของน้ำมันดิบ โดยใช้แบคทีเรียจากทะเล ได้แก่ *Bacillus megaterium*, *Corynebacterium kutscheri* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยทำการทดลอง 5 ชุดการทดลอง ดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 เป็นชุดที่เติมเฉพาะเซลล์แบคทีเรียเท่านั้น ชุดการทดลอง

ที่ 2 เป็นชุดที่เติมเซลล์แบคทีเรียกับปุ๋ย ชุดการทดลองที่ 3 เป็นชุดที่เติมเซลล์แบคทีเรียกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ชุดการทดลองที่ 4 เป็นชุดการทดลองที่เติมเซลล์แบคทีเรีย สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และปุ๋ย และชุดการทดลองที่ 5 เป็นชุดการทดลองที่ไม่เติมเซลล์แบคทีเรียซึ่งเป็นชุดควบคุม และทำการบ่มเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 168 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่า *Pseudomonas aeruginosa* และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยสายพันธุ์นี้ มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันได้ดีที่สุด และชุดการทดลองที่ 4 ซึ่งเป็นชุดการทดลองที่เติมเซลล์แบคทีเรีย สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและปุ๋ย เป็นชุดการทดลองที่พบการย่อยสลายน้ำมันดิบมากที่สุด แต่ชุดการทดลองที่ 3 ที่มีการเติมเซลล์แบคทีเรียและสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้น้อยกว่าชุดการทดลองที่ 4 เพียง 4-5% ของการย่อยสลายเท่านั้น ดังนั้นการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจึงเป็นตัวช่วยที่สำคัญในการสนับสนุนการย่อยสลายน้ำมันดิบทางชีวภาพของแบคทีเรีย โดยไม่ต้องมีการเติมปุ๋ย ซึ่งจะช่วยในการลดค่าใช้จ่ายในการฟื้นฟูสภาพสิ่งแวดล้อมทางชีวภาพได้

Cameotra and Singh (2008) ได้ทำการศึกษาถึงการฟื้นฟูสภาพของกากตะกอนที่มีน้ำมันปนเปื้อนด้วยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสกัดหยาบ โดยทำการตัดแยก *Pseudomonas aeruginosa* และ Rhodococci จากดินที่มีการปนเปื้อนด้วยกากตะกอนที่มีน้ำมัน โดยเชื้อทั้ง 2 ชนิดเมื่อนำมาทำเป็นแบคทีเรียผสม พบว่ามีความสามารถในการย่อยสลาย 90% ของสารไฮโดรคาร์บอนภายในเวลา 6 สัปดาห์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ต่อมาทำการศึกษาถึงการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนในกากตะกอนในการทดลองภาคสนาม รวมทั้งผลของการเติมสารอาหารผสมและสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสกัดหยาบ ในการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนในกากตะกอนในการทดลองภาคสนามเช่นกัน ผลการศึกษาพบว่า แบคทีเรียผสมสามารถย่อยสลายได้ถึง 91% ของ 1% ของสารไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในดิน ภายในเวลา 5 สัปดาห์ ส่วนผลของการเติมสารอาหารผสม หรือสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสกัดหยาบร่วมกับแบคทีเรียผสมจะทำให้เกิดการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนเท่ากับ 91-95% ภายในระยะเวลา 4 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อเติมสารอาหารผสมและสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสกัดหยาบ ทำให้เกิดการย่อยสลายได้มากกว่า 98% ของสารไฮโดรคาร์บอน ดังนั้น ผลการทดลองดังกล่าวจึงสามารถยืนยันถึงประสิทธิภาพในการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารอาหารผสมร่วมกับจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันปิโตรเลียมสำหรับการบำบัดสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม

Marchal, Penet, Solano-Serena, and Vandecasteele (2003) ได้ทำการศึกษาถึงการย่อยสลายของน้ำมันดีเซลและน้ำมันเบนซินด้วยจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อม ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้

คือ จุลินทรีย์กลุ่มที่ใช้ออกซิเจนที่คัดแยกมาจากโรงงานบำบัดน้ำเสีย ผลการศึกษาพบว่าน้ำมันเบนซินสามารถถูกย่อยสลายได้สูงถึง 96% แต่น้ำมันดีเซลถูกย่อยสลายได้ประมาณ 60-73% โดยสารที่ย่อยสลายได้ยากในน้ำมันเชื้อเพลิงได้แก่ กลุ่มไฮโดรคาร์บอนและแอลเคนที่แตกแขนง และในน้ำมันดีเซลพบว่าจะมีอัตราการย่อยสลายทางชีวภาพเกิดขึ้นได้ดีที่สุดเมื่อมีส่วนประกอบที่เป็น แอลเคนสายตรงเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันเชื้อเพลิงของจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่จุลินทรีย์เหล่านั้นอาศัยอยู่ โดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ดินที่มีการปนเปื้อนจะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงกว่าจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินที่ไม่มีการปนเปื้อน และประสิทธิภาพในการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนมีหลายกลไกที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ การมีอยู่ของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถพิเศษในการย่อยสลาย, การเกิดกระบวนการเมตาบอลิซึมร่วม, การมีปฏิสัมพันธ์ในเชิงบวกระหว่างสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ โดยกลไกเหล่านี้จะส่งผลต่อการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนที่ย่อยสลายยากของจุลินทรีย์

Cerqueira et al. (2011) ได้ทำการศึกษาถึงความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันในกากตะกอนของแบคทีเรียผสม ผลการศึกษาพบว่า *Stenotrophomonas acidaminiphila*, *Bacillus megaterium* และ *Bacillus cibi* แยกได้จากกากตะกอนที่ปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม ส่วน *Pseudomonas aeruginosa* และ *Bacillus cereus* คัดแยกได้จากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม ซึ่งเมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดมาผสมกันเป็น แบคทีเรียผสม พบว่าสามารถย่อยสลาย 90.7% ของสารอะโรมาติกและย่อยสลาย 51.8% ของสารอะโรมาติกของน้ำมันในกากตะกอน รวมทั้งพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากกลุ่มแบคทีเรียผสมสามารถลดแรงตึงผิวได้ถึง 39.4% ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว และทำให้เกิดเป็นสารอิมัลชันได้ถึง 55% จากผลการศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ว่า แบคทีเรียผสมมีศักยภาพที่สามารถนำไปใช้ในการฟื้นฟูทางชีวภาพของสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนกากตะกอนน้ำมัน

Souza et al. (2014) ได้ทำการรายงานสรุปถึงการฟื้นฟูทางชีวภาพของสารไฮโดรคาร์บอนโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เนื่องจากพบว่าน้ำและดินที่ปนเปื้อนสารไฮโดรคาร์บอนประเภทอะโรมาติกเพิ่มขึ้นมากกว่าปีที่ผ่าน ๆ มา เพราะมีการใช้สารไฮโดรคาร์บอนในอุตสาหกรรมหลาย ๆ ด้าน โดยสารไฮโดรคาร์บอนเป็นสารที่เป็นมลพิษอย่างมาก มีความเป็นพิษ และก่อให้เกิดมะเร็ง และเป็นสารก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในมนุษย์อีกด้วยนอกจากนี้ยังมีความกังวลใจเพิ่มขึ้นเป็นสาเหตุมาจากความยากลำบากในการกำจัดสารไฮโดรคาร์บอนออกจากสิ่งแวดล้อม โดยที่วิธีการในการฟื้นฟูสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนสารไฮโดรคาร์บอนมีหลากหลายวิธีทั้งวิธีทางเคมี กายภาพ และชีวภาพ แต่ด้วยความก้าวหน้าของเทคโนโลยีที่ยั่งยืน ทำให้มีการค้นหา

วิธีทางธรรมชาติเพื่อการกำจัด หรือย่อยสลายดินหรือน้ำที่ปนเปื้อนเพิ่มมากขึ้น ซึ่งหนึ่งในนั้นคือ การใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ เพื่อช่วยในการทำลายโมเลกุลของสารไฮโดรคาร์บอน โดยการสร้างเป็นไมเซลล์, การเพิ่มการเคลื่อนที่ และการเพิ่มการดูดซึมและการเข้าถึงโดยแบคทีเรีย ดังนั้นจึงนิยมนำมาใช้ในการย่อยสลายทางชีวภาพของสารไฮโดรคาร์บอน

Thenmozhi, Sornalaksmi, Praveenkumar, and Nagasathya (2011) ได้ทำการศึกษา ลักษณะของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรียที่แยกจากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันหล่อลื่น เครื่องยนต์ ในการศึกษาครั้งนี้ทำการแยกแบคทีเรียได้ 3 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* PDKT-2, *Serratia marcescens* PDKT-1 และ *Bacillus licheniformis* PDKT-5 และพบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อ mineral salt medium ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ และต่อมาทำการตกตะกอนสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยอะซิโตน และทำการศึกษาถึงลักษณะของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยการทดสอบทางชีวเคมีและวิธีสเปกโตรสโคป พบว่ามีโครงสร้างเป็นแบบทั้งที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ ต่อมาพบว่าโครงสร้างที่เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มแรมโนลิปิดและไลโปเปปไทด์ตามลำดับ

Singh and Cameotra (2013) ได้ทำการศึกษา ประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไลโปเปปไทด์ในการกำจัดสารไฮโดรคาร์บอนจำพวกปิโตรเลียม และโลหะหนักที่ปนเปื้อนในดิน ผลการศึกษาพบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไลโปเปปไทด์มีความสามารถในการนำไปใช้ในการกำจัดสารไฮโดรคาร์บอนจำพวกปิโตรเลียมและโลหะหนัก โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไลโปเปปไทด์ ประกอบด้วย เซอร์เฟคติน (Surfactin) และเฟนจีซิน (Fengycin) ที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* A21 สามารถทำความสะอาดสารที่ปนเปื้อนกลุ่มสารไฮโดรคาร์บอนด้วยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้สูงถึง 64.5% และทำความสะอาดสารกลุ่มโลหะหนัก ได้แก่ แคดเมียม โคบอลต์ ตะกั่ว นิกเกิล ทองแดงและสังกะสี เท่ากับ 44.2%, 35.4%, 40.3%, 32.2%, 26.2% และ 32.07% ตามลำดับ

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการทดลอง

สถานที่และระยะเวลาที่ทำการวิจัย

สถานที่ทำการทดลองคือ อาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ตัวอย่างทดลอง

แบคทีเรียจากห้องปฏิบัติการของ รองศาสตราจารย์ ดร. สุภัณฑิต นิมรัตน์ ที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกจากดินที่มีการปนเปื้อนน้ำมัน ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ SE1, SD4 และ SJ1#1

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 1.1 Tryptic Soy Broth (TSA; Difco, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 1.2 Plate count agar (TSA; Difco, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 1.3 Blue agar
- 1.4 Mineral salt medium
- 1.5 Simmons citrate agar (ยี่ห้อ Labscan, ประเทศสเปน)
- 1.6 Lysine Indole Motility medium (LIM; Himedia, ประเทศอินเดีย)
- 1.7 Voges-Proskauer broth (VP; Difco, สหรัฐอเมริกา)

2. สารเคมี

- 2.1 Phosphate Buffer Saline solution (PBS)
- 2.2 20% Sodium Carbonate (Na_2CO_3 ; Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย)
- 2.3 Sodium Chloride (NaCl; Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย)
- 2.4 10 % (w/v) Sodium dodecyl sulfate (SDS; Merck, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 2.5 น้ำมันดีเซล (บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน), ประเทศไทย)
- 2.6 น้ำมันเบนซิน (บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน), ประเทศไทย)

2.7 น้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว (บริษัท ปตท. จำกัด (มหาชน), ประเทศไทย *
 ผ่านการใช้งานในเครื่องรถจักรยานยนต์อายุ 10 ปี ขนาด 125 ซีซี เป็นระยะเวลา 3 เดือน)

2.8 น้ำมันดิบ (บริษัท ไทยออยล์ จำกัด (มหาชน), ประเทศไทย)

2.10 Safanin O solution

2.11 Crystal violet solution

2.12 Gram's iodine solution

2.13 Gram's alcohol

2.14 Catalase reagent (H_2O_2 ; ยี่ห้อศิริบัญชา, ประเทศไทย)

2.15 Oxidase reagent (ยี่ห้อ Bactidrop, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.16 Kovac's reagent

2.17 0.3% (w/v) Creatine solution (ยี่ห้อ Himedia, สาธารณรัฐอินเดีย)

2.18 5% (w/v) α -naphthol reagent

2.19 40% (w/v) Potassium hydroxide (ยี่ห้อ Merck, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

2.20 Ninhydrin (ยี่ห้อ Merck, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.21 Cetyltrimethylammonium Bromide (CTAB; Merck, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.22 Peptone (Difco, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

2.23 Beef extract (ยี่ห้อ Himedia, สาธารณรัฐอินเดีย)

3. รีเอเจนต์และสารเคมีสำหรับงานชีวโมเลกุล

3.1 10 mM dNTP mix (ยี่ห้อ Vivantis, ประเทศมาเลเซีย)

3.2 *Taq* DNA Polymerase ประกอบด้วย

3.2.1 10X PCR reaction buffer (ยี่ห้อ Vivantis, ประเทศมาเลเซีย)

3.2.2 50 mM Magnesium Chloride (ยี่ห้อ Vivantis, ประเทศมาเลเซีย)

3.2.3 เอนไซม์ *Taq* DNA Polymerase (ยี่ห้อ Vivantis, ประเทศมาเลเซีย)

3.3 ไพร์เมอร์ (สังเคราะห์จากบริษัท Biodesign, ประเทศไทย มี 2 ชนิดได้แก่

3.3.1 fD1 ลำดับนิวคลีโอไทด์คือ 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'

3.3.2 rP2 ลำดับนิวคลีโอไทด์คือ 5'-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3'

3.4 6X Loading beffer

3.5 8% Polyacrylamide

3.6 50X TAE buffer

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 4.1 ขวดซีรัม
- 4.2 ฝาอะลูมิเนียม
- 4.3 จุกยาง
- 4.4 ขวดรูปชมพู่
- 4.5 กระจกตวง
- 4.6 แท่งแก้วคนสาร
- 4.8 ไมโครปิเปต
- 4.9 สไลด์
- 4.10 ขวดใส่สาร (Duran)
- 4.11 กระจกชั่งยา
- 4.12 เข็มชั่งยา
- 4.13 Millipore membrane filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
- 4.14 คิวเวทชนิดแก้ว
- 4.15 หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง

5. เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- 5.1 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave, ยี่ห้อ Tommy, รุ่น SX-700, ประเทศญี่ปุ่น)
- 5.2 ตู้อบเพาะเชื้อ (Incubator; ยี่ห้อ mrclab, รุ่น DF-150, ประเทศอิสราเอล)
- 5.3 กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า (ยี่ห้อ Olympus, รุ่น CH30, ประเทศญี่ปุ่น)
- 5.4 เครื่องชั่งแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ Mettler Toledo, รุ่น PG802-S, สหพันธ์รัฐสวิส)
- 5.5 เครื่องชั่งแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ Mettler Toledo, รุ่น AT200, สหพันธ์รัฐสวิส)
- 5.6 เครื่อง Microplate reader (ยี่ห้อ BMG Labtech, รุ่น Spectrostar nano, ประเทศเยอรมนี)
- 5.7 เครื่อง Spectrophotometer (ยี่ห้อ Thermo Fisher รุ่น G102 UV-Vis, ประเทศจีน)
- 5.8 เครื่อง pH meter (ยี่ห้อ Metohm, รุ่น 913, สหพันธ์รัฐสวิส)

- 5.9 เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge; ยี่ห้อ Eppendoff, รุ่น Centrifuge 5804R, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
- 5.10 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Microcentrifuge; ยี่ห้อ Sartorius, รุ่น Sigma 1-14, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
- 5.11 เครื่องปั่นผสม (Vortex mixer, รุ่น Vortex-2 Genie, สหรัฐอเมริกา)
- 5.12 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow; Super clean VC150, กรุงเทพมหานคร, ประเทศไทย)
- 5.13 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven; WTB Binder, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
- 5.14 เครื่อง Thermocycler (ยี่ห้อ Biometra, รุ่น T-Gradient, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)
- 5.15 เครื่อง Electrophoresis (ยี่ห้อ Bio-Rad, รุ่น Bio-Rad sub-cell GT)
- 5.16 เครื่อง UV-transilluminator (ยี่ห้อ Spectroline, รุ่น Model TVC-312A, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 5.17 เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การคัดเลือกและจำแนกชนิดของแบคทีเรียทดสอบ

1.1 การคัดเลือกแบคทีเรียทดสอบ

จากแบคทีเรียทั้งหมด 30 สายพันธุ์ จากห้องปฏิบัติการของ รศ.ดร.สุภัณฑิต นิมรัตน์ ซึ่งมีคุณสมบัติในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และสารอิมัลซิไฟเออร์ (ตารางที่ 3-1) โดยมีแบคทีเรียที่มีศักยภาพมากที่สุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และสารอิมัลซิไฟเออร์ ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ SE1, SD4 และ SJ1#1

ตารางที่ 3-1 ผลการทดสอบศักยภาพของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและการผลิตสารอิมัลชันฟายเออร์

สายพันธุ์	การทดสอบการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ										การทดสอบการผลิตสารอิมัลชันฟายเออร์			
	การย่อย สลายเม็ด เลือดแดง	glass slide test	Oil displacement test (มิลลิเมตร)*				Drop collapsing test**				Emulsification capacity (%E ₂₄)***			
			น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องยนต์ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องยนต์ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องยนต์ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
1% SDS	ND	+	51.3 ± 1.5	62.3 ± 0.6	60.3 ± 1.5	58.0 ± 1.0	+	+	+	+	75.7 ± 1.3	76.7 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
น้ำกลั่น	ND	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
อาหาร เลี้ยงเชื้อ	ND	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
1. SA1	-	+	7.0 ± 1.0	9.0 ± 2.0	9.7 ± 1.2	11.3 ± 1.5	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
2. SA2	-	-	0.0 ± 0.0	2.3 ± 0.6	2.3 ± 0.6	3.7 ± 0.6	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
3. SA3	-	-	0.0 ± 0.0	3.3 ± 0.6	4.0 ± 1.0	3.3 ± 0.6	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	10.1 ± 1.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
4. SO1	-	+	6.3 ± 0.6	0.0 ± 0.0	8.3 ± 0.6	11.3 ± 1.5	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	15.6 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
5. SO2	+	+	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
6. SO3	-	-	6.0 ± 1.0	4.0 ± 1.4	5.0 ± 1.0	6.7 ± 1.2	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	36.8 ± 4.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
7. SE1	+	+	27.3 ± 2.5	33.7 ± 4.6	31.0 ± 2.6	14.0 ± 2.6	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	70.2 ± 1.5	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
8. SE2	+	+	9.7 ± 0.6	10.7 ± 0.6	12.3 ± 0.6	27.7 ± 3.1	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	51.2 ± 14.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
9. SE3	-	-	15.0 ± 2.0	23.7 ± 2.1	12.7 ± 1.5	25.0 ± 2.0	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	14.4 ± 4.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
10. SN1	+	+	31.3 ± 2.3	33.7 ± 2.1	41.3 ± 2.5	22.0 ± 1.7	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	13.5 ± 1.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
11. SN2	+	-	0.0 ± 0.0	4.7 ± 0.6	4.7 ± 0.6	3.3 ± 1.5	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

ตารางที่ 3-1 (ต่อ)

สายพันธุ์	การทดสอบการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ										การทดสอบการผลิตสารอิมัลชันซีฟายเออร์			
	การย่อย สลายเม็ด เลือดแดง	glass slide test	Oil displacement test (มิลลิเมตร)*				Drop collapsing test**				Emulsification capacity (%E ₂₄)***			
			น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องยนต์ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องยนต์ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องยนต์ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
12. SJ1#1	+	+	13.3 ± 1.5	13.3 ± 2.1	19.3 ± 0.6	26.0 ± 2.6	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	63.2 ± 6.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
13. SJ1#2	+	+	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.0 ± 0.0	8.3 ± 2.3	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
14. SJ2#1	+	+	9.0 ± 1.7	7.7 ± 1.5	10.7 ± 0.6	14.0 ± 1.7	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	11.7 ± 2.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
15. SJ2#2	+	+	0.0 ± 0.0	5.7 ± 0.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	10.9 ± 4.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
16. SJ2#3	-	-	6.3 ± 0.6	23.7 ± 2.1	8.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
17. SD1	+	+	5.0 ± 2.0	0.0 ± 0.0	2.3 ± 0.6	3.7 ± 1.2	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	63.7 ± 3.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
18. SD2	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
19. SD3	-	+	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
20. SD4	-	-	24.7 ± 1.5	18.7 ± 2.5	28.3 ± 2.5	30.3 ± 0.6	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	73.7 ± 2.4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
21. SD5	-	-	10.3 ± 1.5	18.7 ± 1.2	14.3 ± 1.2	13.0 ± 2.6	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	69.1 ± 2.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
22. SD6	-	-	6.3 ± 1.5	12.5 ± 0.7	10.3 ± 1.2	11.7 ± 0.6	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	38.7 ± 8.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
23. SP1	+	+	0.0 ± 0.0	3.0 ± 1.0	2.4 ± 2.0	4.7 ± 1.5	-	-	-	-	4.9 ± 3.6	73.4 ± 2.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
24. SP2	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	4.3 ± 1.2	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
25. SP3	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.7 ± 0.6	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
26. SP4	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
27. SP5	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	66.2 ± 8.5	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

ตารางที่ 3-1 (ต่อ)

สายพันธุ์	การทดสอบการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ										การทดสอบการผลิตสารอิมัลซิฟายเออร์			
	การย่อย สลายเม็ด เลือดแดง	glass slide test	Oil displacement test (มิลลิเมตร)*				Drop collapsing test**				Emulsification capacity (%E ₂₄)***			
			น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องยนต์ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องยนต์ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องยนต์ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
28. SP6	+	+	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	4.3 ± 0.6	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
29. SP7	-	+	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	3.7 ± 0.6	-	-	-	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
30. SP8	+	+	5.3 ± 0.6	11.7 ± 1.5	11.0 ± 1.0	6.7 ± 1.2	+	+	+	+	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

หมายเหตุ *ระดับที่ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.0 – 10.0 มิลลิเมตร,
 ระดับที่ 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10.1 – 20.0 มิลลิเมตร,
 ระดับที่ 3 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20.1 – 30.0 มิลลิเมตร,
 ระดับที่ 4 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30.1 – 40.0 มิลลิเมตร

** + คือ ให้ผลบวกต่อการทดสอบ, - คือ ให้ผลลบต่อการทดสอบ , ND คือ ไม่ได้ทำการทดสอบ

1.2 การจำแนกชนิดของแบคทีเรียทดสอบ

1.2.1 วิธีการทดสอบทางชีวเคมี

จากแบคทีเรียที่มีศักยภาพมากที่สุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และสารอิมัลซิไฟเออร์ ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ SE1, SD4 และ SJ1#1 จึงทำการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียทดสอบโดยนำแบคทีเรียทดสอบทั้งหมด 3 สายพันธุ์ มาขีดเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar ให้เกิดเป็นโคโลนีเดี่ยว และทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ย้อมแกรมส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า และทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และจำแนกโดยเปรียบเทียบข้อมูลจากหนังสือ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

1.2.2 วิธีการทดสอบด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA

1.2.2.1 การเตรียมตัวอย่างและการสกัดดีเอ็นเอ (Sambook, Fritsch, & Maniatis, 1989)

1) เพาะเลี้ยงแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในอาหาร LB Broth ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14-16 ชั่วโมง

2) นำเซลล์แบคทีเรียจากข้อ 1) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Microcentrifuge และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง

3) เติมน้ำละลาย TE buffer ปริมาตร 467 ไมโครลิตร และใช้ปิเปตแบบอัตโนมัติ (Autopipette) ดูดขึ้นลงเพื่อกระจายเซลล์

4) เติมน้ำละลาย SDS ความเข้มข้น 10% (w/v) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร และเอนไซม์ Proteinase K ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการกลับหลอดขึ้นลง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง

5) เติมน้ำผสม Phenol:Chloroform ในปริมาตรที่เท่ากันกับตัวอย่าง ผสมโดยการกลับหลอดขึ้นลง และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที

6) ดูดของเหลวส่วนบนซึ่งมีดีเอ็นเออยู่ใส่ลงในหลอด Microcentrifuge หลอดใหม่ และเติมน้ำผสม Phenol:Chloroform ในปริมาตรที่เท่ากันกับตัวอย่าง ผสมโดยการกลับหลอดขึ้นลง และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที และเก็บสารละลายดีเอ็นเอส่วนบนใส่หลอดใหม่

7) เติมสารละลายโซเดียมอะซิเตรต ความเข้มข้น 3 โมลาร์ (pH 5.2) และไอโซโพรพานอล ปริมาตรเท่ากับ 0.1 เท่าและ 0.6 เท่าของตัวอย่าง ตามลำดับ ผสมเบา ๆ โดยการกลับหลอดขึ้นลงจนกระทั่งดีเอ็นเอตกตะกอน

8) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้งและเติมเอทานอล ความเข้มข้น 70% (w/v) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพื่อล้างตะกอนดีเอ็นเอ นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบ 14,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 5 นาที เทส่วนของเอทานอลทิ้ง

9) นำหลอดที่มีตะกอนของดีเอ็นเออยู่มาวางคว่ำบนกระดาษทิชชูที่สะอาด ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หรือที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

10) ละลายดีเอ็นเอในสารละลาย TE buffer หรือน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ปริมาตร 15-20 ไมโครลิตร และเก็บหลอดที่มีสารละลายดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.2.2.2 การเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (ตามวิธีของ Weisburg et al., 1991)

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากข้อ 1.2.2.1 มาเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction โดยทำการผสมสารผสมที่ประกอบด้วย 10X PCR reaction buffer ปริมาตร 10 ไมโครลิตร, 10 mM dNTP ปริมาตร 2 ไมโครลิตร, 16S forward primers คือ fD1 ความเข้มข้น 20 mM ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, 16S reverse primers คือ rP2 ความเข้มข้น 20 mM ปริมาตร 1 ไมโครลิตร, primer เติม 0.5 ไมโครลิตรของ Taq DNA Polymerase ก่อนนำไปผสมกับ DNA template โดยทำการผสม DNA templateกับสารผสมที่เตรียมไว้ในอัตราส่วน 1:10 เมื่อผสมเสร็จแล้วให้นำเข้าเครื่อง Thermocycler โดยโปรแกรมที่ใช้มีรายละเอียดดังนี้ ขั้น Initiation denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที และทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอทั้งหมด 40 รอบ โดยใช้ 3 ขั้นตอน ได้แก่ ขั้น Denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 นาที, ขั้น Annealing ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 นาที ขั้น Elongation ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 นาที และสุดท้ายขั้นตอน Final Extention ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที ตรวจสอบ PCR product ที่ได้บนอะกาโรสเจล ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยเทียบกับ 1kb DNA marker (Vivantis®)

1.2.2.3 การทำดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์ (ดัดแปลงจาก Altchul, Gish, Miller, Myers, & Lipman, 1990; Desantis et al., 2006)

โดยใช้ชุดทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์สำเร็จรูป (Promega, France) และส่งวิเคราะห์ลำดับเบส จากนั้นวิเคราะห์ลำดับเบสที่ได้ด้วยโปรแกรม BLAST เพื่อจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย โดยเทียบกับฐานข้อมูล GenBank บน National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) และ EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>)

1.2.2.4 การทำการวิเคราะห์ลำดับความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธาน

โดยทำ Alignment ด้วยโปรแกรม ClustalW และสร้าง Phylogenetic tree โดยวิธี Neighbor-joining และคำนวณระยะห่างความสัมพันธ์ Tamura 3-parameter ด้วยโปรแกรม MEGA7 ทดสอบความเชื่อมั่นด้วยค่า Bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ (Tamura, Dudley, Nei, & Kumar, 2007) สำหรับ Out group ใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ 16s rRNA ของ *Geobacillus thermantarcticus* (FR749959.1)

2. การจำแนกชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์

2.1 การทดสอบชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มไกลโคลิปิดด้วยวิธี Blue agar plate (ดัดแปลงจาก Saravanan & Vijayakumar, 2012)

นำแบคทีเรียที่เชื่อมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy agar และปมที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ให้เกิดเป็นโคโลนีเดี่ยว และนำโคโลนีเดี่ยวมาแขวนลอยในสารละลาย Phosphate Buffer Saline (PBS) แล้วปรับความขุ่นให้เท่ากับสารละลาย McFarland 0.5 เพื่อให้เซลล์แขวนลอยมีปริมาณเท่ากับ 10^8 CFU/ml หลังจากนั้น ทำการปิเปต 3 มิลลิลิตรของเซลล์แขวนลอยที่ผ่านการปรับความขุ่นให้เท่ากับสารละลาย McFarland 0.5 ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย Peptone, Beef extract และ NaCl ปริมาณ 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มในสภาวะเขย่าที่ 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 7,500 รอบต่อนาที นาน 30 นาที เพื่อแยกส่วนใสและส่วนของตะกอนเซลล์ และนำส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงปริมาตร 30 ไมโครลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Blue agar ที่เจาะหลุมด้วย Cork borer ขนาด 0.6 เซนติเมตร แล้วนำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง โดยที่ผลบวก จะเกิดเป็นวงสีน้ำเงินรอบ ๆ หลุม และผลลบ จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นรอบ ๆ หลุม หากให้ผลบวกแสดงว่าเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำพวกไกลโคลิปิด โดยใช้สารลดแรงตึงผิว

Sodium dodecyl sulfate (SDS) 10% (w/v) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้เติมเชื้อเป็นตัวควบคุมเชิงลบ

2.2 การทดสอบชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มลิโปเปปไทด์ด้วยวิธี Ninhydrin test (ดัดแปลงจาก Zhang et al., 2012)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย Glucose 20 กรัม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3 กรัม K_2HPO_4 2 กรัม KH_2PO_4 0.2 กรัม $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 กรัม CaCl_2 0.1 กรัม Tryptone 10 กรัม Yeast extract 5 กรัม และ NaCl 25 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นเติม 2 มิลลิลิตร ของแบคทีเรียทดสอบที่ทำการปรับความขุ่นให้เท่ากับสารละลาย McFarland 0.5 เพื่อให้เซลล์แขวนลอยมีปริมาณเท่ากับ 10^8 CFU/ml แล้วนำไปเลี้ยงในสภาวะเขย่า 160 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน หลังจากนั้น นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อแยกส่วนใสและส่วนของตะกอนเซลล์ หลังจากนั้นนำส่วนใสมาฆ่าเชื้อด้วยการกรองผ่าน Millipore membrane filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วดูดส่วนใสที่ปราศจากเซลล์แล้วมา 1 มิลลิลิตร เติมด้วยสารละลาย Ninhydrin เข้มข้น 0.5% จำนวน 3 หยด และนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 1 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงสี โดยที่ผลบวกสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู ม่วง ถึงน้ำเงิน และผลลบสารละลายจะไม่มี การเปลี่ยนแปลงสีหากให้ผลบวกแสดงว่าเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำพวกลิโปเปปไทด์ และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้เติมเชื้อเป็นตัวควบคุมเชิงลบ

3. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในการย่อยสลายน้ำมัน ทั้ง 4 ชนิด (ดัดแปลงจาก สุภัณฑิต นิมรัตน์, ภาพสุภา ชลครานนท์, ตริรัตน์ สุขสวัสดิ์, ไตรมาส บุญไทย และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2556)

3.1 การเตรียมเชื้อทดสอบ (ดัดแปลงจากสุดสายชล หอมทอง, นเรศ เชื้อสุวรรณ และสุภัณฑิต นิมรัตน์, 2556)

นำแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพูนขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และนำมาเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ของแบคทีเรีย ต่อมานำเซลล์แขวนลอย (Cell suspension) ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมสารละลาย Phosphate Buffer Saline (PBS) ลงในหลอด Centrifuge นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง ทำเช่นนั้นจนครบ 3 ครั้ง เพื่อเป็นการล้างเซลล์ และนำเซลล์ที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร (ใช้

สารละลาย PBS เป็น Blank) ให้ได้ 1.5 A.U. หรือเทียบกับสารละลาย McFarland No.4 เพื่อใช้เป็นเซลล์แขวนลอยที่มีปริมาณเซลล์เท่ากับ 10^{10} CFU/ml

3.2 การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ

3.2.1 การเตรียมอาหารสำหรับการทดสอบการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salt medium ที่ประกอบด้วย Na_2HPO_4 (3.6), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1.0), KH_2PO_4 (1.0), MgSO_4 (1.0), $\text{Fe}(\text{NH}_4)_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$ (0.01) และ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1.0) มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม 10 มิลลิลิตรต่อลิตรของธาตุอาหารรองที่ประกอบด้วย $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (10.0), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (3.0), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1.0), $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2.0), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3.0), H_3BO_3 (30.0) และ $\text{CuSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1.0) มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นอาหารที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ (Khehra, Saini, Sharma, Chadha, & Chimmi, 2005) ใส่ในขวดซีรัมขนาด 180 มิลลิลิตร จำนวนทั้งหมด 16 ขวด โดยแบ่งเป็น 2 สภาวะ ดังนี้

3.2.1.1 การย่อยสลายภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

(1) ชุดการย่อยสลายด้วยแบคทีเรีย (Active) ใช้ขวดซีรัมจำนวน 3 ขวด เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salt medium ปริมาตร 89 มิลลิลิตร เติม Cell suspension ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และเติมน้ำมันลงไป 1 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดด้วยจุกยาง และฟอลอูมิเนียม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 35 วัน ในที่มีด

(2) ชุด Sterile ใช้ขวดซีรัมจำนวน 3 ขวด เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salt medium ปริมาตร 89 มิลลิลิตร และเติม Cell suspension ของแบคทีเรีย ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นปิดฝาขวดด้วยจุกยาง และฟอลอูมิเนียม นำไปนิ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที เป็นเวลา 3 วันติดต่อกัน หลังจากนั้นเติมน้ำมันลงไป 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 35 วันในที่มีด

(3) ชุด Background ใช้ขวดซีรัมจำนวน 2 ขวด เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salt medium ปริมาตร 89 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย Phosphate Buffer Saline 10 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาขวดด้วยจุกยาง และฟอลอูมิเนียมโดยไม่ต้องนำไปนิ่งฆ่าเชื้อ และเติมน้ำมันลงไป 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 35 วัน ในที่มีด และเก็บตัวอย่างโดยการเขย่าขวดให้ผสมกันก่อน แล้วจึงดูดตัวอย่างออกมาปริมาณ 5 มิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ

3.2.1.2 การย่อยสลายภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ทำเช่นเดียวกันกับข้อ (1) และปรับส่วนประกอบของชุดการทดลอง ดังนี้

-อาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salt medium ปริมาตร 160 มิลลิลิตร

- Cell suspension ปริมาตร 18 มิลลิลิตร

-น้ำมัน 1.8 มิลลิลิตร

3.2.2 การสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันด้วยตาเปล่า (ภริยาพร เปรมประเสริฐ และคณะ, 2549)

สังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันชนิดต่าง ๆ ในทุกชุดการทดลอง ดังนี้

5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบางๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบางๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันจางๆ บริเวณขอบขวดซีรัม ลักษณะทั่วแทบไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่น้ำมันมากนัก

0 หมายถึง ไม่พบน้ำมัน

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย (ดัดแปลงจาก Dagorn et al., 2013)

เก็บตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร ของทุกการทดลองที่วันที่ 0, วันที่ 3, วันที่ 7, วันที่ 10, วันที่ 14, วันที่ 21, วันที่ 28 และวันที่ 35 เป็นระยะเวลา 35 วัน ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 580 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer เพื่อตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salt medium เพื่อใช้ในการเซตค่า Zero โดยค่า Zero เป็นค่าของความดูดกลืนแสงเท่ากับ 0

3.2.4 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ (ดัดแปลงจาก Khalid et al., 2011)

เก็บตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร ของทุกการทดลองในวันที่ 0, วันที่ 3, วันที่ 7, วันที่ 10, วันที่ 14, วันที่ 21, วันที่ 28 และวันที่ 35 เป็นระยะเวลา 35 วัน โดยนำตัวอย่างปั่นเหวี่ยง

ที่ความเร็วรอบ 7,500 g เป็นระยะเวลา 4 นาที เก็บส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นในช่วง 220-400 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader เพื่อประเมินประสิทธิภาพของการย่อยสลายน้ำมันดีเซลด้วยแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salt medium เพื่อใช้ในการเซตค่า Zero

3.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณก๊าซทั้งหมด (สุบัตินิต นิมรัตน์, ไตรมาศ บุญไทยและวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2560)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นทุกชุดการทดลองในวันที่ 0, วันที่ 3, วันที่ 7, วันที่ 10, วันที่ 14, วันที่ 21, วันที่ 28 และวันที่ 35 เป็นระยะเวลา 35 วัน ใช้เข็มฉีดยาขนาด 20 มิลลิลิตรเจาะเข้าไปในขวดซีรัมในแนวตั้งฉากกับปากขวด และค่อยๆ ปล่อยนิ้วมืออย่างช้าๆ เพื่อให้ก๊าซที่อยู่ภายในขวดซีรัมดันก้านสูบของเข็มฉีดยาขึ้นมาและอ่านปริมาตรของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น หลังจากนั้นดันก๊าซทั้งหมดกลับลงไปขวด แล้วค่อยๆ ดึงเข็มฉีดยาขึ้นมาในแนวตรง เพื่อป้องกันการรั่วไหลของก๊าซภายในขวดซีรัม

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูล 3 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง โดยนำข้อมูลที่ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย (\bar{X}) \pm ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

5. การวิเคราะห์ชนิดของสารไฮโดรคาร์บอนที่คงเหลือในตัวอย่างจากการย่อยสลายโดยแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง GC-MS (ดัดแปลงจาก Hassanshahian, Zeynalipour, & Musa, 2014; Glover & Bullin, 1989)

คัดเลือกชนิดของแบคทีเรียและสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ผลการศึกษาในข้อที่ 3 และ 4 ทำการทดลองอีกครั้งโดยเลือกใช้ชนิดของแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดและสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยสลายน้ำมันชนิดต่าง ๆ ทำการทดลองทั้งหมด 35 วัน และนำตัวอย่างในวันที่ 0 และ 35 ของการทดลองส่งตรวจวิเคราะห์ชนิดของสารไฮโดรคาร์บอนที่คงเหลือจากการย่อยสลาย โดยใช้เครื่อง GC-MS รุ่น 7890A 5975C MSD Agilent Technologies ใช้คอลัมน์ Mega-MS (30m x 0.25 mm; 0.25 μ m) อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 2 นาที และ 90-300 องศาเซลเซียส โดยเพิ่มอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสต่อนาที และฉีดตัวอย่างที่อุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส มีค่า Split ratio เท่ากับ 1:25 ที่ศูนย์วิจัยและเครื่องมือ มหาวิทยาลัยรังสิต

บทที่ 4

ผลการศึกษา

ชนิด และลักษณะของแบคทีเรีย

จากการศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, SD4 และ SJ1#1 เพื่อฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนด้วยสารปิโตรเลียม โดยในการศึกษาครั้งนี้สารปิโตรเลียมที่ใช้เป็นน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ และใช้ระยะเวลาในการศึกษาทั้งหมด 35 วัน โดยแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ท่อนสั้น สร้างสปอร์ และมีลักษณะโคโลนี และผลการทดสอบทางชีวภาพแตกต่างกัน จากการเปรียบเทียบผลกับ Bergey's manual และการวิเคราะห์โดยใช้ 16sRNA (ตารางที่ 4-1, 4-2 และภาพที่ 4-1) พบว่าจุลินทรีย์ที่ได้จากการคัดกรองให้ผลดังนี้ แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 และสายพันธุ์ SD4 คือ *Bacillus subtilis* และสายพันธุ์ SJ1#1 คือ *Bacillus siamensis* และซึ่งทุกสายพันธุ์ไม่เป็นแบคทีเรียที่ก่อโรคทั้งในมนุษย์ สัตว์ และพืช

ตารางที่ 4-1 ผลการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์

การทดสอบทางชีวเคมี	สายพันธุ์		
	SE1	SD4	SJ1#1
ลักษณะวิทยา	โคโลนีขนาดใหญ่, สีขาว ขุ่น, ผิวหน้าเยิ้ม ขอบเรียบ	โคโลนีขนาดเล็ก, สีขาว ขุ่น, ขอบเรียบ, ผิวมัน	โคโลนีขนาดใหญ่, สีขาว, ขอบหยัก, ผิวด้าน
รูปร่างของเซลล์	ท่อน	ท่อน	ท่อน
แกรม	บวก	บวก	บวก
การสร้างสปอร์	พบ	พบ	พบ
Catalase	+	+	+
Oxidase	-	-	-
Anaerobic growth	-	+	-
Voges-Proskauer	-	-	-
Motility	-	-	-
Citrate	+	-	-
Acid from Arabinose	+	-	-
Acid from Xylose	+	-	-

ตารางที่ 4-1 (ต่อ)

การทดสอบทางชีวเคมี	สายพันธุ์		
	SE1	SD4	SJ1#1
Acid from glucose	+	+	+
Acid from manitol	-	-	-
2% NaCl	-	-	-
5% NaCl	-	-	-
7% NaCl	-	-	-
10% NaCl	-	-	-
Nitrate	+	+	+
Starch hydrolysis	+	-	-
Growth at pH 6.8	+	+	+
growth at 5 °C	+	-	+
growth at 10 °C	+	-	+
growth at 40 °C	-	+	+
growth at 50 °C	-	+	-
growth at 65 °C	-	-	+
ชนิดของแบคทีเรีย	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus siamensis</i>

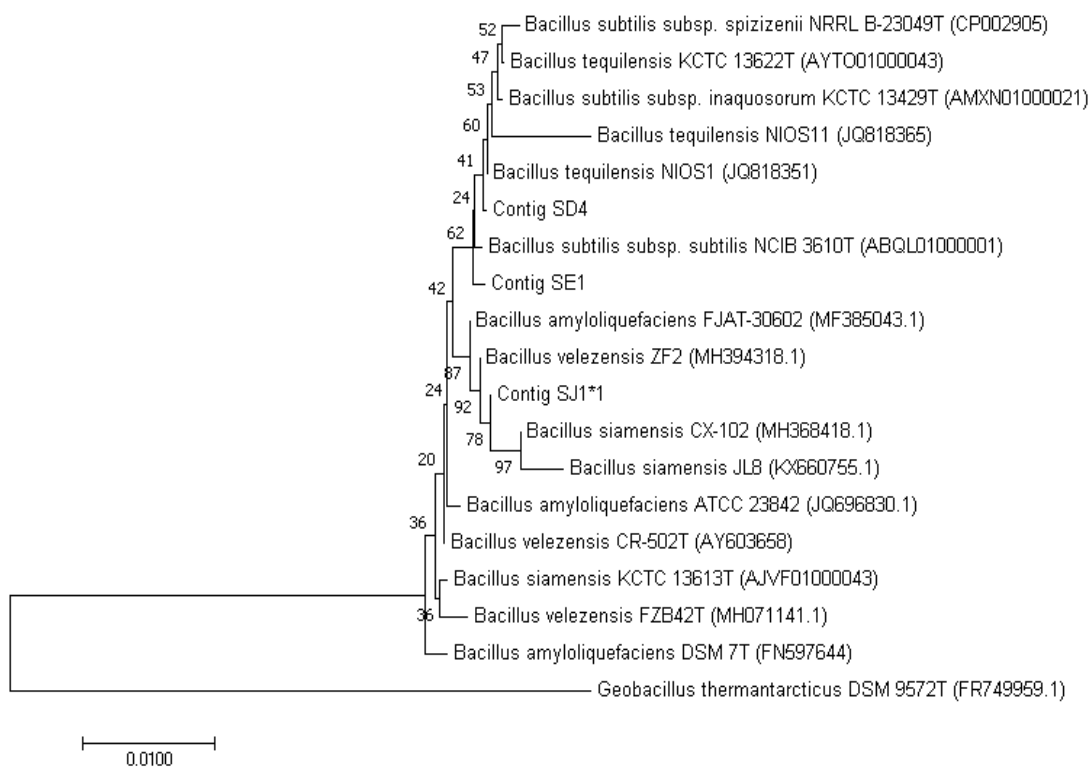
หมายเหตุ เครื่องหมาย + = ให้ผลเป็นบวก, - = ให้ผลเป็นลบ และ ND = ไม่ได้ทำการทดสอบ

ตารางที่ 4-2 ผลการวิเคราะห์ชนิดของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ 16s rRNA

Isolate designation	Sequence alignment		GenBank accession number
	No. of nucleotides ^a	% identity ^b	
SE1	1373	99.93	<i>Bacillus subtilis</i> (MH700588)
SD4	1374	99.93	<i>Bacillus subtilis</i> (MH700589)
SJ1#1	1365	100	<i>Bacillus siamensis</i> (MH700590)

^a The number of 16s rRNA nucleotides used for the alignment.

^b The percentage identity with the 16s rRNA sequence of the nearest phylogenetic neighbor.



ภาพที่ 4-1 แผนภูมิต้นไม้พันธุกรรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ส่วนสเกล 0.01 แทน Evolution distance

ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์

จากการวิเคราะห์ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Blue agar และวิธี Ninhydrin test พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ เป็นชนิดลิโปเปปไทด์ (ตารางที่ 4-3)

ตารางที่ 4-3 ผลการทดสอบชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์

สายพันธุ์	ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	
	ไกลโคลิปิด	ไลโปเปปไทด์
SE1	ไม่พบ	พบ
SJ1#1	ไม่พบ	พบ
SD4	ไม่พบ	พบ

การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในการย่อยสลายน้ำมัน ทั้ง 4 ชนิด

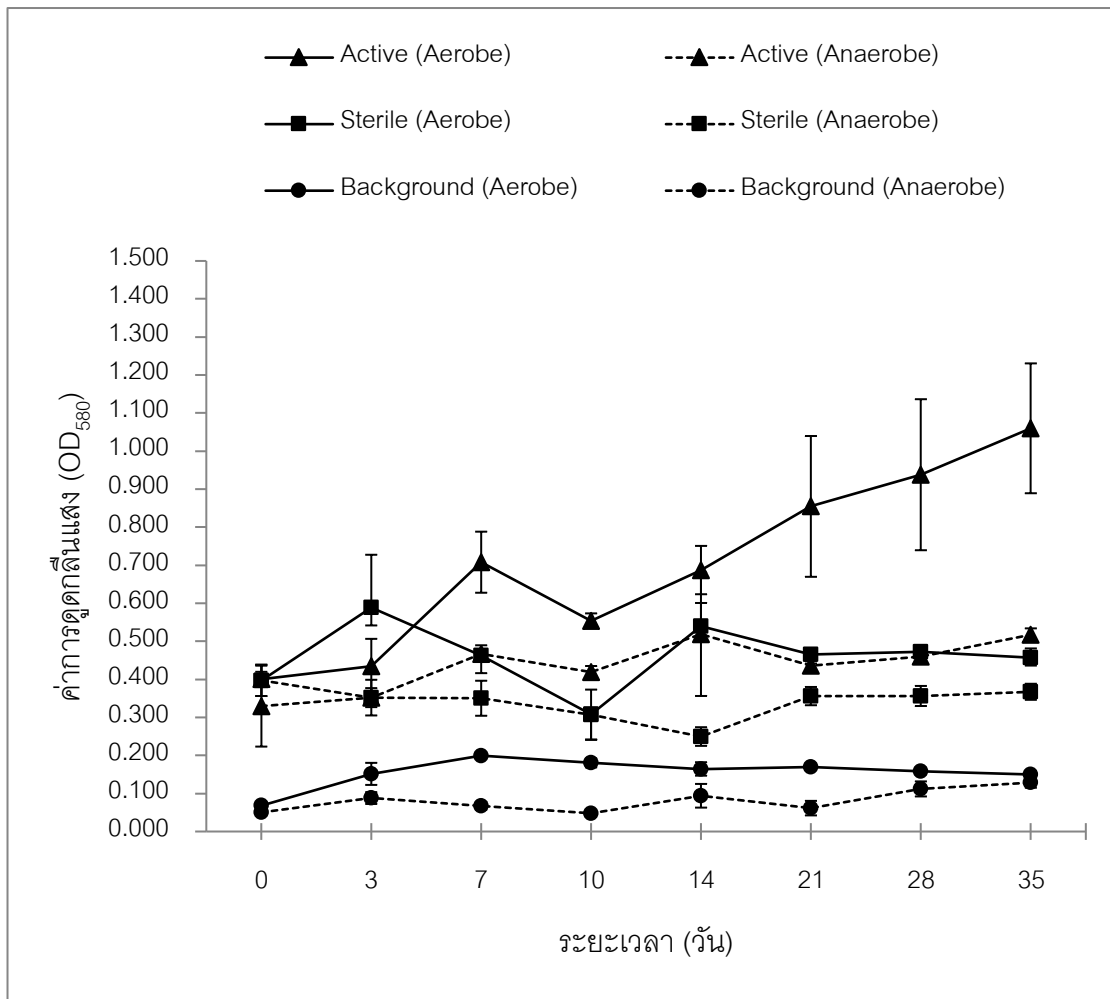
1. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

1.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันดีเซล ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาเมตร พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 มีการเจริญโดยใช้น้ำมันดีเซลเป็นแหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 0-7 ของการทดลอง และลดลงในวันที่ 10 ของการทดลอง หลังจากนั้นมีการเจริญเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 14 ของการทดลองไปจนถึงถึงวันสุดท้ายของการทดลองในทั้ง 2 สภาวะ แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถเจริญได้ดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-4 และภาพที่ 4-2)

ตารางที่ 4-4 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะที่มีออกซิเจน			สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.400±0.020	0.397±0.041	0.062±0.008	0.330±0.106	0.397±0.041	0.051±0.006
3	0.434±0.072	0.589±0.139	0.152±0.029	0.352±0.047	0.352±0.047	0.088±0.016
7	0.708±0.080	0.462±0.027	0.200±0.004	0.466±0.005	0.350±0.046	0.068±0.011
10	0.554±0.019	0.308±0.012	0.181±0.012	0.419±0.016	0.307±0.066	0.048±0.006
14	0.687±0.064	0.540±0.061	0.165±0.018	0.519±0.162	0.250±0.025	0.094±0.031
21	0.855±0.185	0.466±0.014	0.170±0.014	0.435±0.014	0.356±0.024	0.062±0.019
28	0.938±0.199	0.473±0.015	0.159±0.008	0.459±0.014	0.356±0.026	0.112±0.020
35	1.060±0.171	0.457±0.024	0.151±0.002	0.517±0.017	0.367±0.021	0.129±0.013



ภาพที่ 4-2 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล

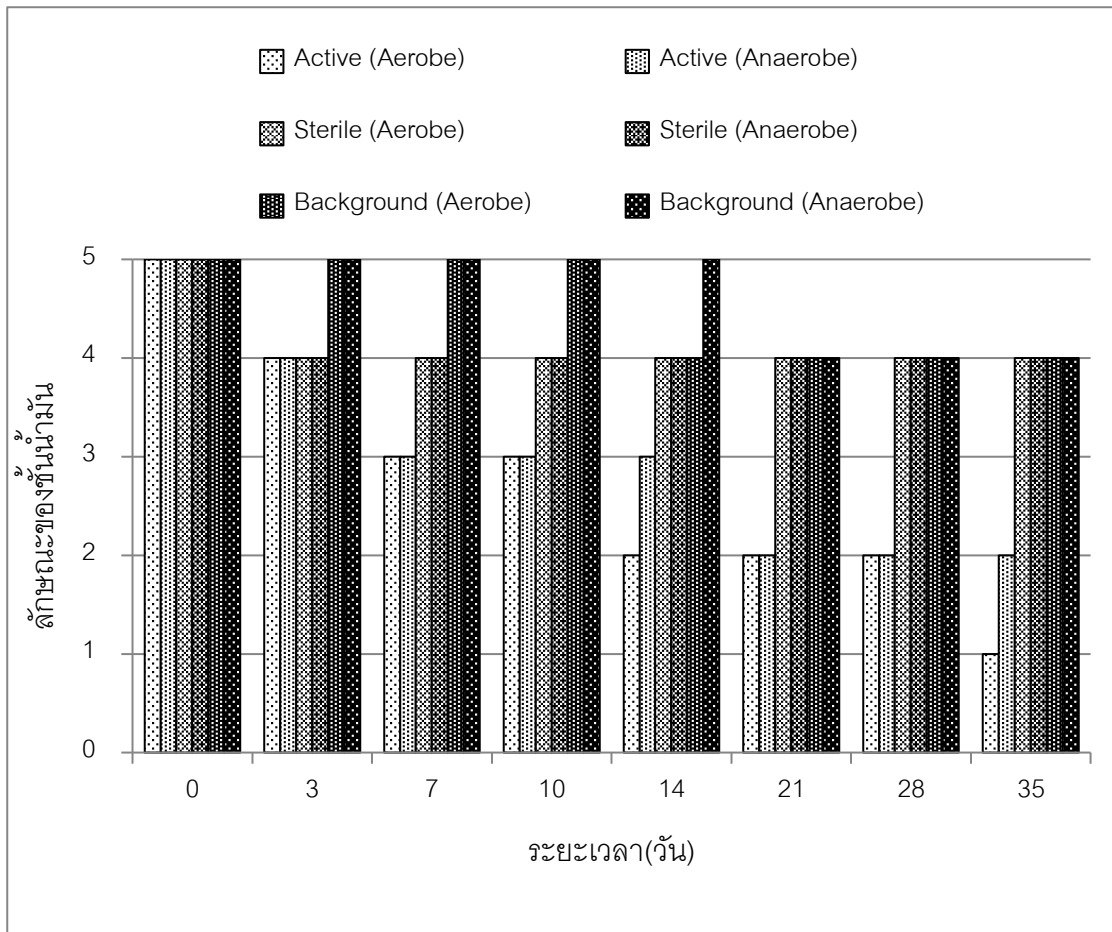
1.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงสังเกตพบเพียงคราบน้ำมันดีเซลจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร (ตารางที่ 4-5 และภาพที่ 4-3, ภาพที่ 4-4)

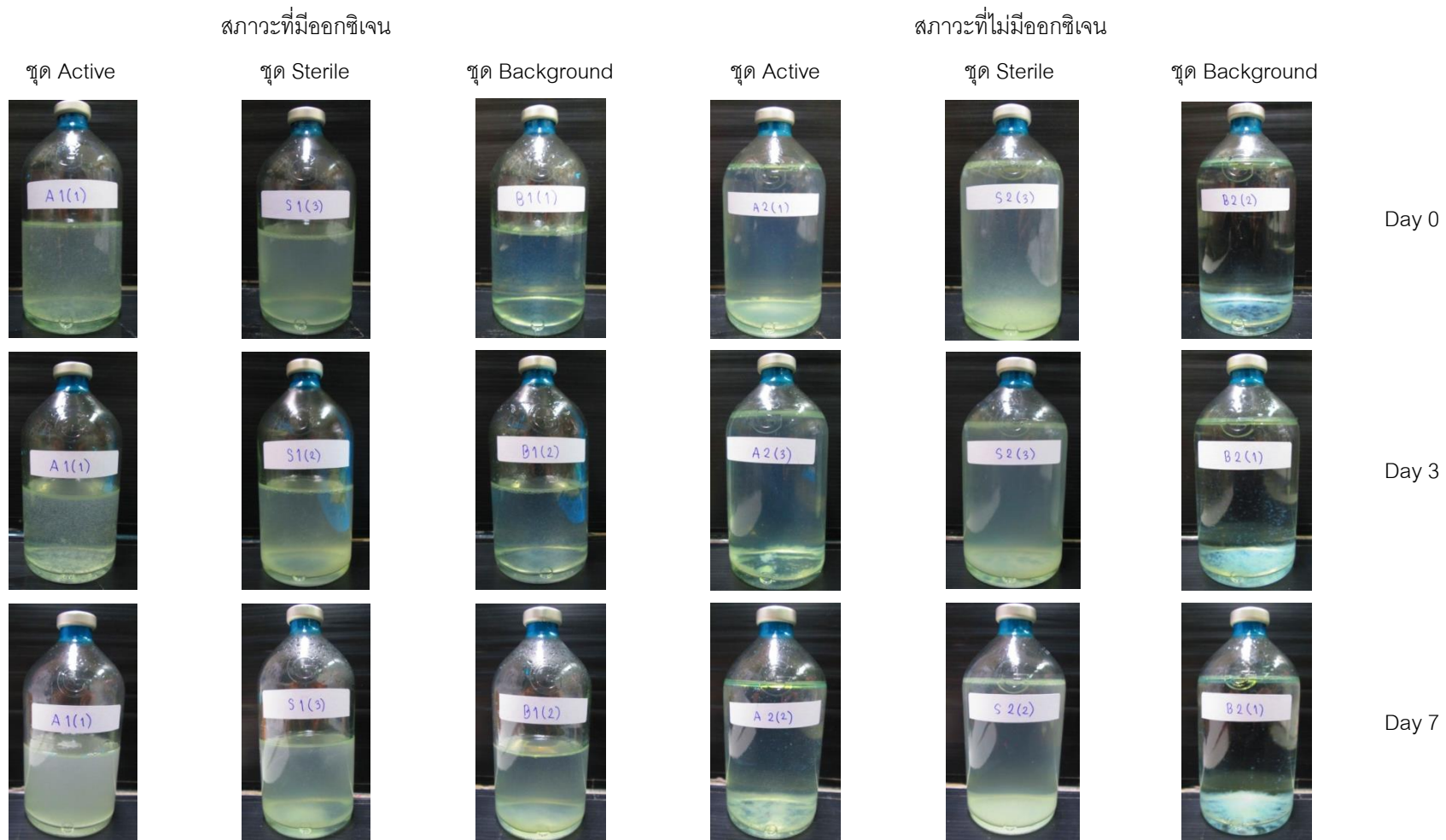
ตารางที่ 4-5 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1
ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	4+	4+	5+	4+	4+	5+
7	3+	4+	5+	3+	4+	5+
10	3+	4+	5+	3+	4+	5+
14	2+	4+	4+	3+	4+	5+
21	2+	4+	4+	2+	4+	4+
28	2+	4+	4+	2+	4+	4+
35	1+	4+	4+	2+	4+	4+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันดีเซลจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรั่ม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันดีเซล



ภาพที่ 4-3 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน



ภาพที่ 4-4 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

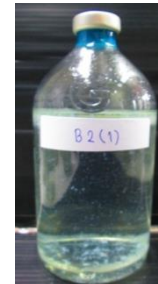
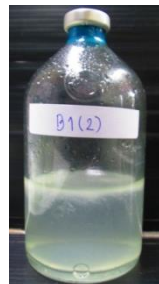
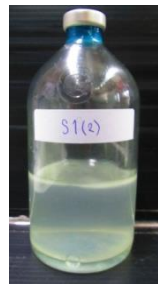
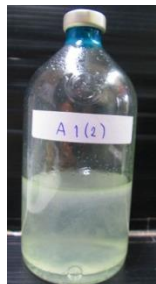
ชุด Sterile

ชุด Background

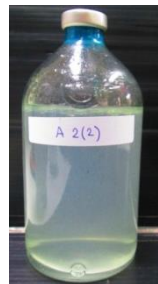
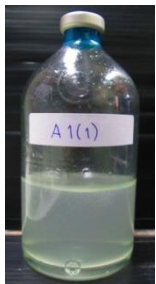
ชุด Active

ชุด Sterile

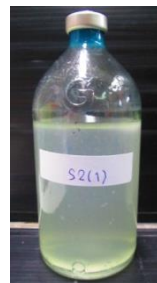
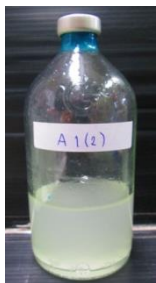
ชุด Background



Day 10



Day 14



Day 21

ภาพที่ 4-4 (ต่อ)

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

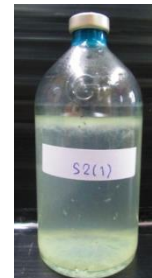
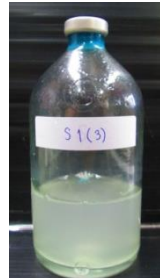
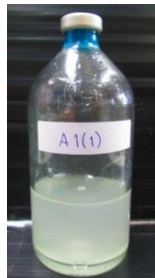
ชุด Sterile

ชุด Background

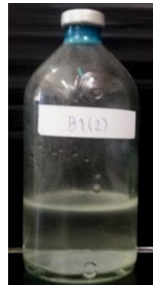
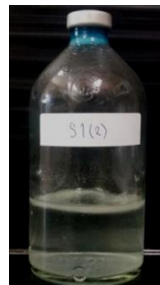
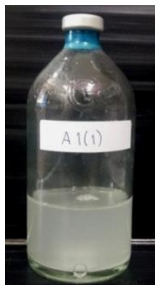
ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 28

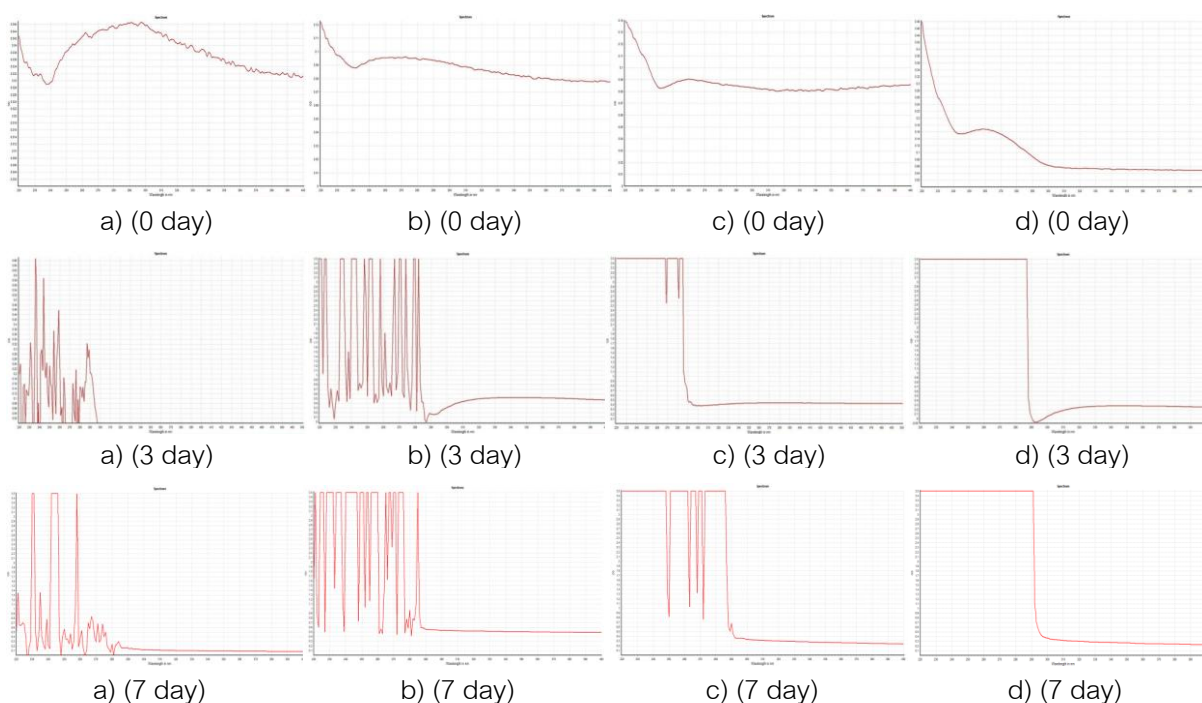


Day 35

ภาพที่ 4-4 (ต่อ)

1.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนโดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และพบว่าน้ำมันดีเซลถูกย่อยสลายจนไม่สามารถตรวจพบฟิเคได้ในวันที่ 35 ของการทดลอง ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลอง และในวันที่ 35 ของการทดลอง ยังสามารถตรวจพบฟิเคจำนวน 3 ฟิเค ที่ค่าความยาวคลื่น 240, 255 และ 275 นาโนเมตร (ภาพที่ 4-5)



ภาพที่ 4-5 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของ

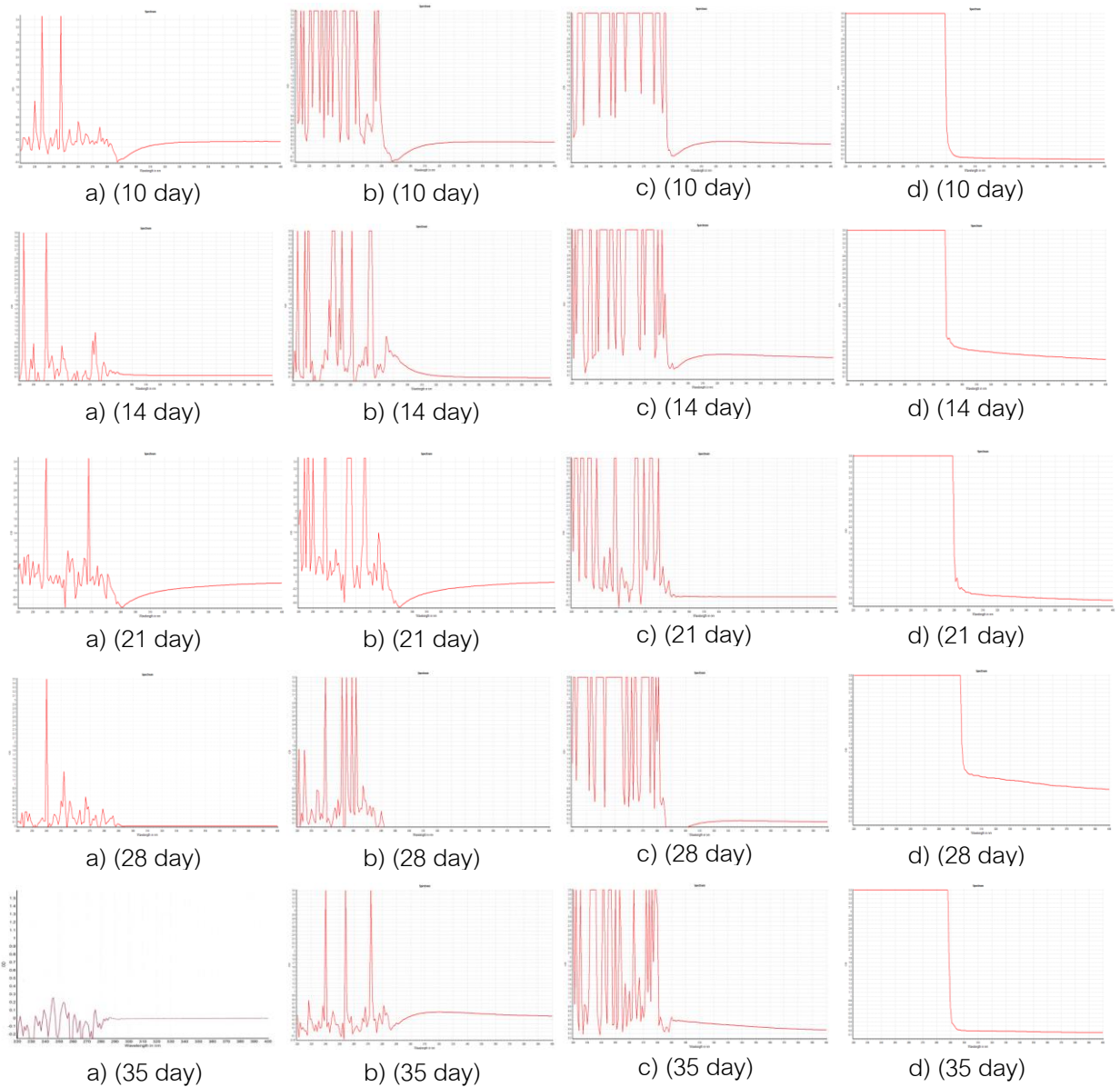
แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

หมายเหตุ a) หมายถึง จุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

b) หมายถึง จุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

c) หมายถึง จุด Sterile

d) หมายถึง จุด Background



ภาพที่ 4-5 (ต่อ)

1.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของ
 แบริดที่เรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของ
 แบริดที่เรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนไม่สามารถตรวจ
 พบก๊าซทั้งหมดได้ในทุกชุดการทดลอง (ตารางที่ 4-6)

ตารางที่ 4-6 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะที่มีออกซิเจน			สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
7	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
10	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
14	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
21	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
28	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
35	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

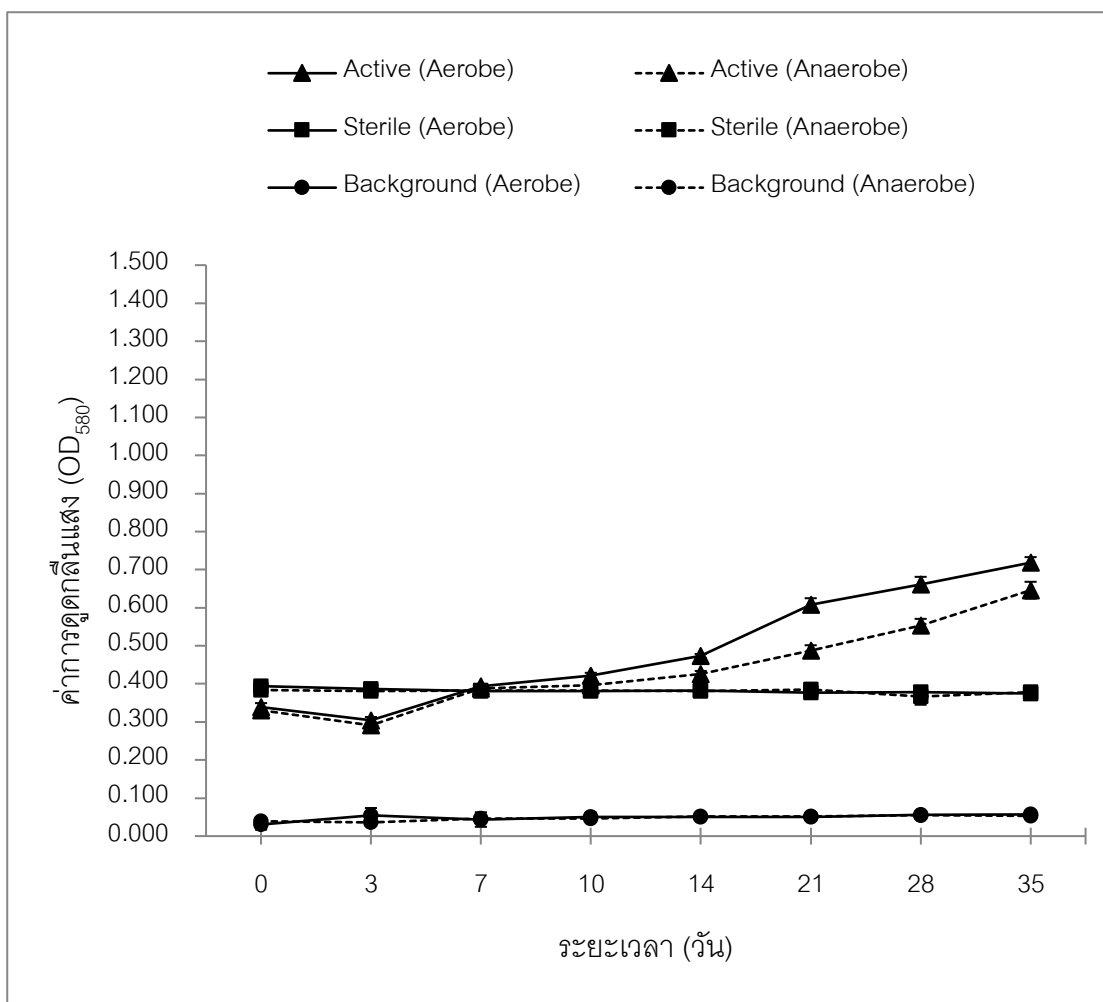
2. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

2.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันเบนซิน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาเมตร พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 มีการเจริญโดยใช้น้ำมันเบนซินเป็นแหล่งคาร์บอนลดลงในวันที่ 3 ของการทดลอง และเพิ่มขึ้นในวันที่ 7 ของการทดลองและมีการเจริญเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อย ๆ ตลอดการทดลองจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองในทั้ง 2 สภาวะ แต่สามารถเจริญภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-7 และภาพที่ 4-6)

ตารางที่ 4-7 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD.$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.339±0.011	0.401±0.014	0.031±0.013	0.330±0.002	0.384±0.001	0.039±0.008
3	0.304±0.009	0.387±0.010	0.054±0.020	0.291±0.005	0.381±0.004	0.036±0.008
7	0.394±0.006	0.380±0.009	0.044±0.019	0.388±0.004	0.382±0.003	0.046±0.006
10	0.422±0.007	0.381±0.002	0.051±0.011	0.397±0.003	0.383±0.003	0.046±0.003
14	0.473±0.006	0.382±0.006	0.050±0.003	0.425±0.009	0.381±0.005	0.052±0.002
21	0.607±0.018	0.377±0.007	0.051±0.001	0.488±0.014	0.385±0.006	0.052±0.004
28	0.661±0.020	0.379±0.007	0.056±0.001	0.553±0.018	0.367±0.022	0.055±0.004
35	0.718±0.015	0.375±0.005	0.057±0.004	0.646±0.022	0.378±0.006	0.053±0.006



ภาพที่ 4-6 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลอง ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน

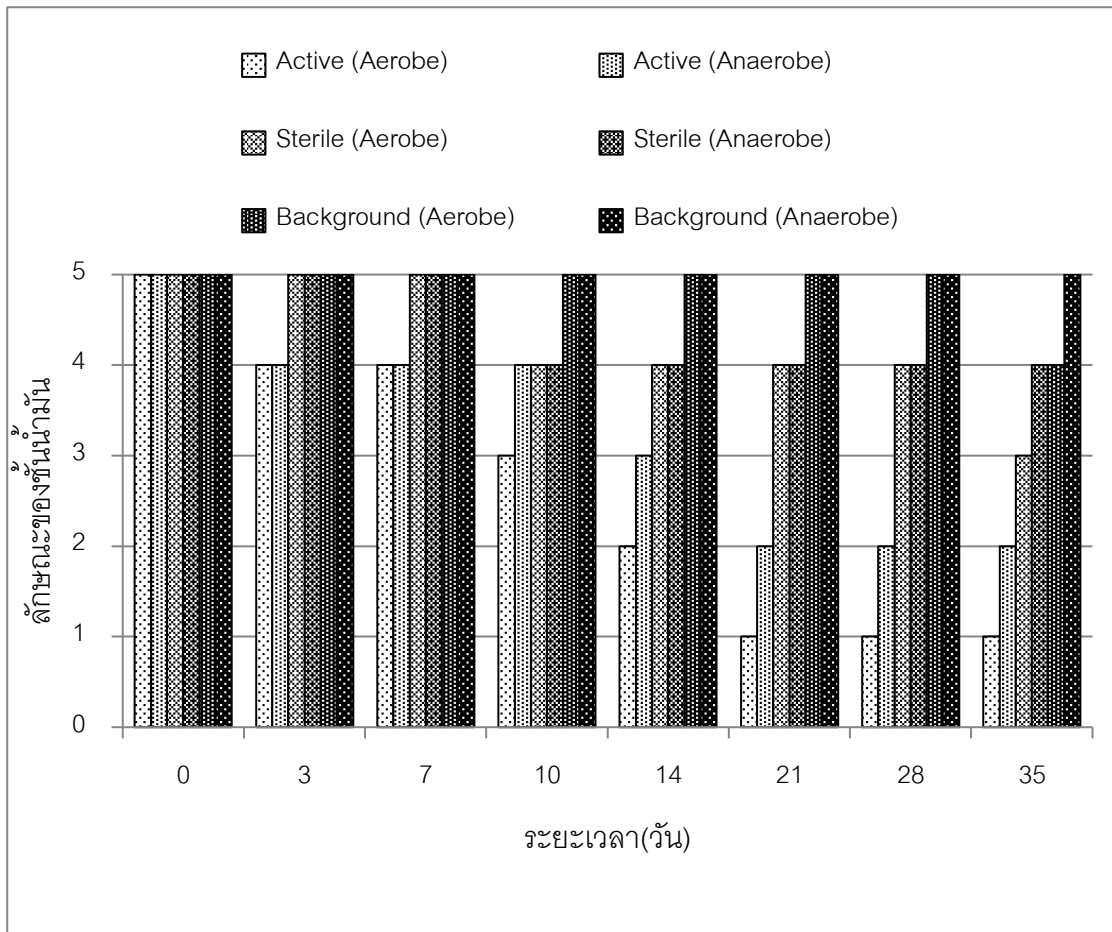
2.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงสังเกตพบเพียงคราบน้ำมันเบนซินจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร (ตารางที่ 4-8 และภาพที่ 4-7, ภาพที่ 4-8)

ตารางที่ 4-8 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1
ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	4+	5+	5+	4+	5+	5+
7	4+	5+	5+	4+	5+	5+
10	3+	4+	5+	4+	4+	5+
14	2+	4+	5+	3+	4+	5+
21	1+	4+	5+	2+	4+	5+
28	1+	4+	5+	2+	4+	5+
35	1+	3+	4+	2+	4+	5+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันเบนซินจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันเบนซิน



ภาพที่ 4-7 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 0



Day 3



Day 7

ภาพที่ 4-8 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1

สภาวะที่มีออกซิเจน

ชุด Active



ชุด Sterile



ชุด Background



สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active



ชุด Sterile



ชุด Background



Day 10

Day 14

Day 21

สภาวะที่มีออกซิเจน

ชุด Active



ชุด Sterile



ชุด Background



สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active



ชุด Sterile



ชุด Background



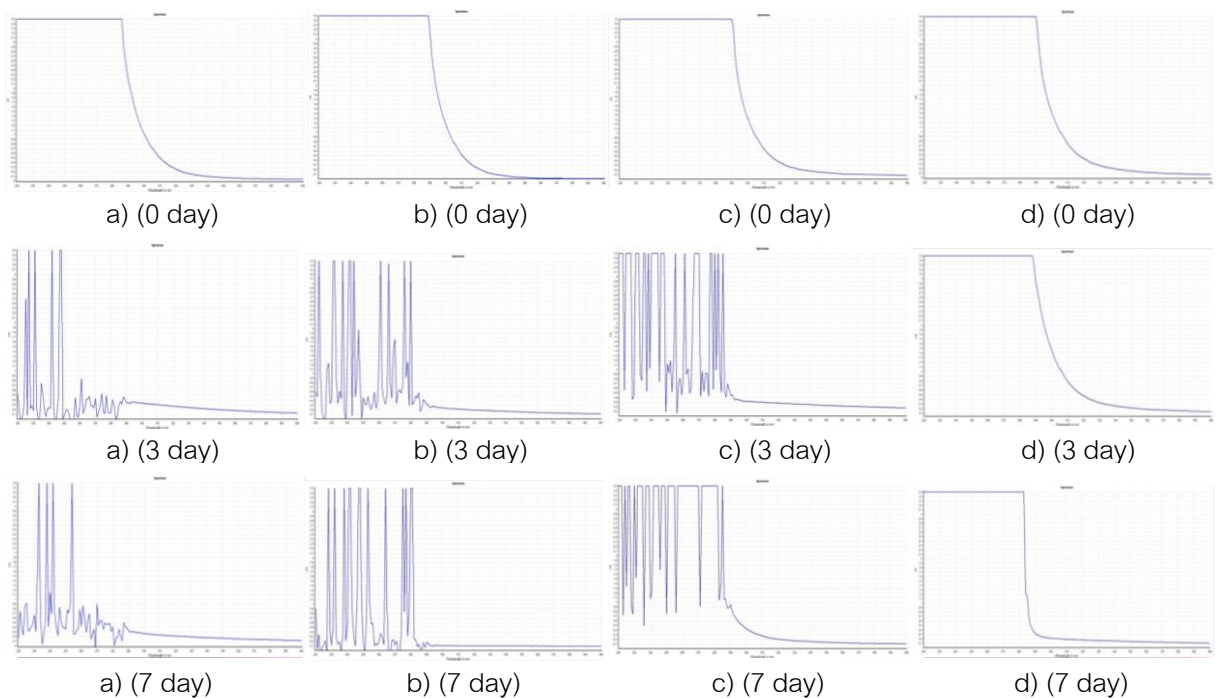
Day 28

Day 35

ภาพที่ 4-8 (ต่อ)

2.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนโดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันเบนซินมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันเบนซินภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และพบว่าน้ำมันเบนซินถูกย่อยสลายจนไม่สามารถตรวจพบพืคได้ในวันที่ 21 ของการทดลอง ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันเบนซินตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และในวันที่ 35 ของการทดลอง พบว่าน้ำมันเบนซินถูกย่อยสลายจนไม่สามารถตรวจพบพืคได้ (ภาพที่ 4-9)



ภาพที่ 4-9 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของ

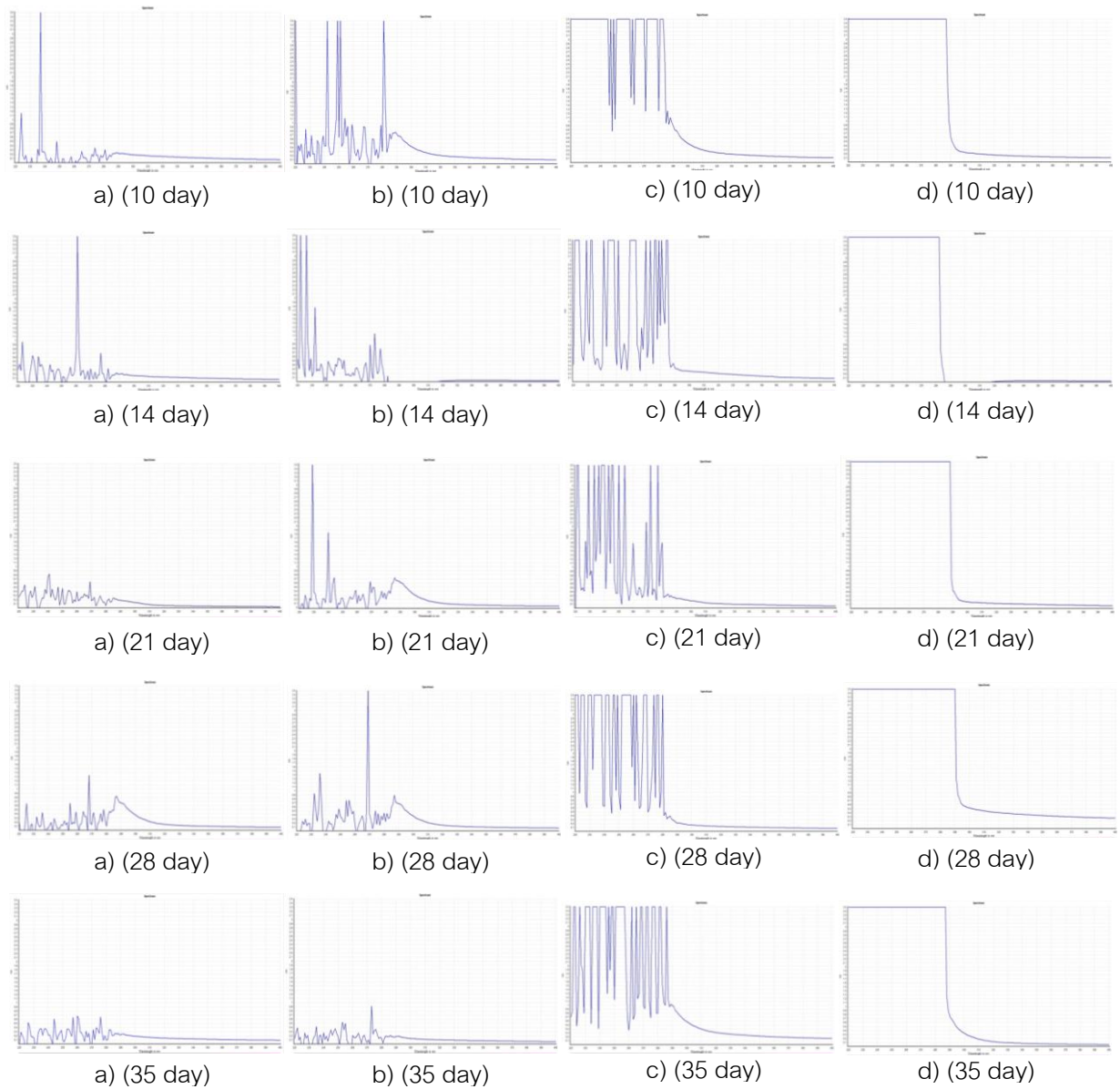
แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

หมายเหตุ a) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

b) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

c) หมายถึง ชุด Sterile

d) หมายถึง ชุด Background



ภาพที่ 4-9 (ต่อ)

2.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของ
แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของ
แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนไม่สามารถตรวจ
พบก๊าซทั้งหมดได้ในทุกชุดการทดลอง (ตารางที่ 4-9)

ตารางที่ 4-9 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
7	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
10	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
14	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
21	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
28	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
35	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

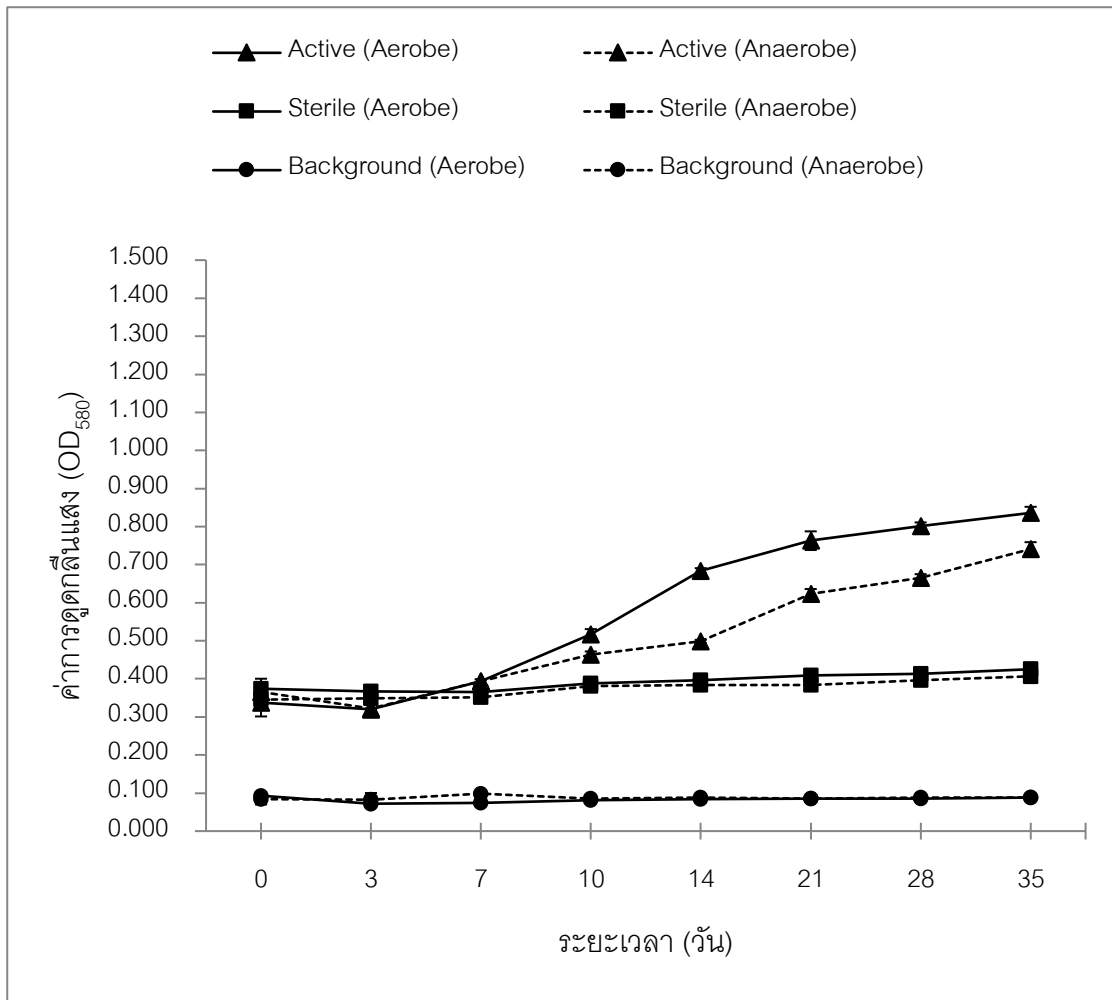
3. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

3.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 มีการเจริญโดยใช้น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วเป็นแหล่งคาร์บอนลดลงเล็กน้อยในวันที่ 0-3 ของการทดลอง และเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 10 ไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ในทั้ง 2 สภาวะ แต่แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถเจริญภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-10 และภาพที่ 4-10)

ตารางที่ 4-10 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD.$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.337±0.036	0.375±0.015	0.093±0.006	0.366±0.035	0.345±0.018	0.084±0.014
3	0.320±0.001	0.366±0.007	0.072±0.008	0.322±0.023	0.349±0.017	0.083±0.018
7	0.394±0.005	0.365±0.010	0.074±0.007	0.393±0.006	0.351±0.007	0.099±0.001
10	0.517±0.014	0.388±0.005	0.081±0.001	0.464±0.008	0.381±0.003	0.086±0.001
14	0.684±0.007	0.397±0.004	0.084±0.002	0.498±0.004	0.383±0.007	0.088±0.002
21	0.763±0.025	0.409±0.009	0.086±0.006	0.623±0.013	0.384±0.009	0.086±0.003
28	0.802±0.009	0.413±0.006	0.085±0.001	0.666±0.009	0.396±0.006	0.089±0.002
35	0.836±0.016	0.425±0.006	0.089±0.001	0.741±0.018	0.407±0.009	0.088±0.001

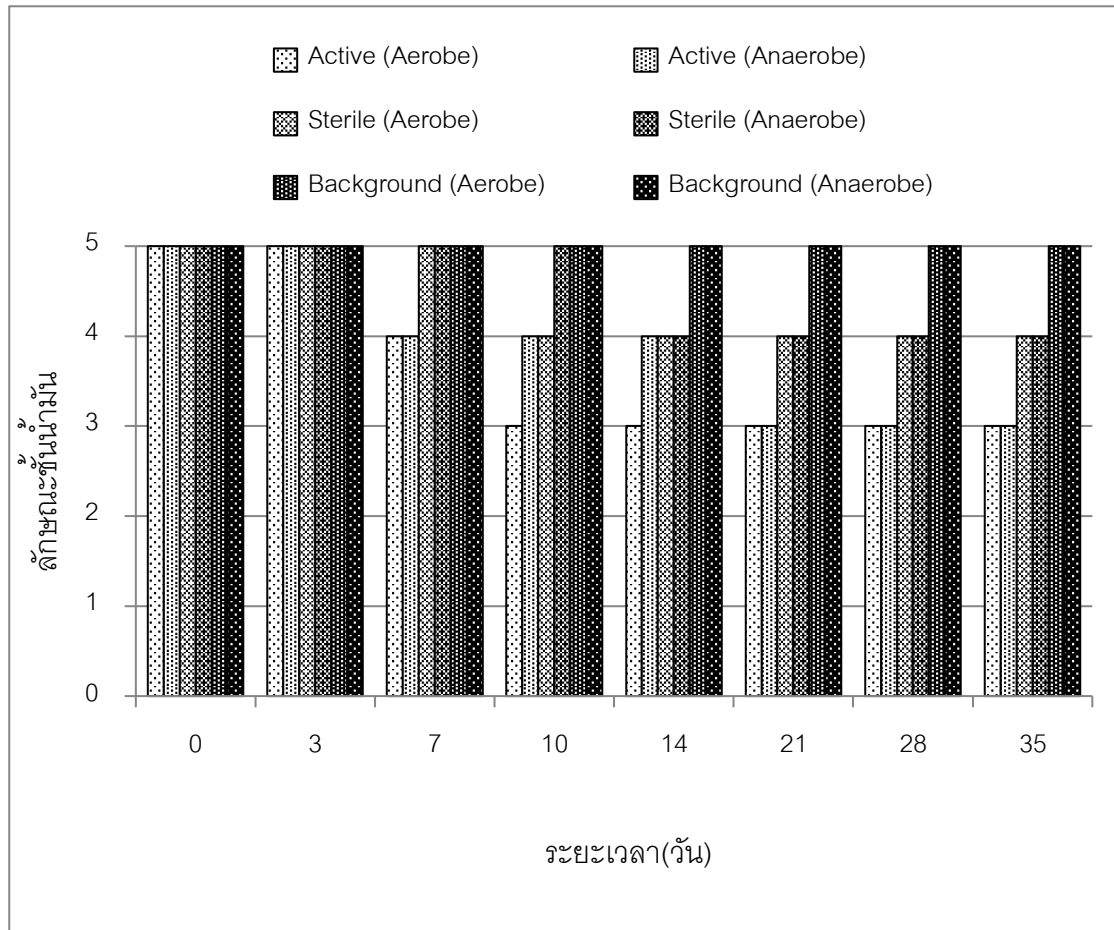


ภาพที่ 4-10 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลอง ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

3.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายน้ำมันของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายน้ำมันของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วลดลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยในวันสุดท้ายของการทดลองทั้ง 2 สภาวะ พบลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร แต่ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน พบลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร ตั้งแต่วันที่ 10

ของการทดลอง ซึ่งลดลงได้เร็วกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนที่พบการลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารในวันที่ 21 ของการทดลอง (ตารางที่ 4-10, ภาพที่ 4-11 และภาพที่ 4-12)



ภาพที่ 4-11 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

ตารางที่ 4-11 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	4+	5+	5+	4+	5+	5+
10	3+	4+	5+	4+	5+	5+
14	3+	4+	5+	4+	4+	5+
21	3+	4+	5+	3+	4+	5+
28	3+	4+	5+	3+	4+	5+
35	3+	4+	5+	3+	4+	5+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว งาม ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 0



Day 3



Day 7

ภาพที่ 4-12 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 10



Day 14



Day 21

สภาวะที่มีออกซิเจน

ชุด Active



ชุด Sterile



ชุด Background



สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active



ชุด Sterile



ชุด Background



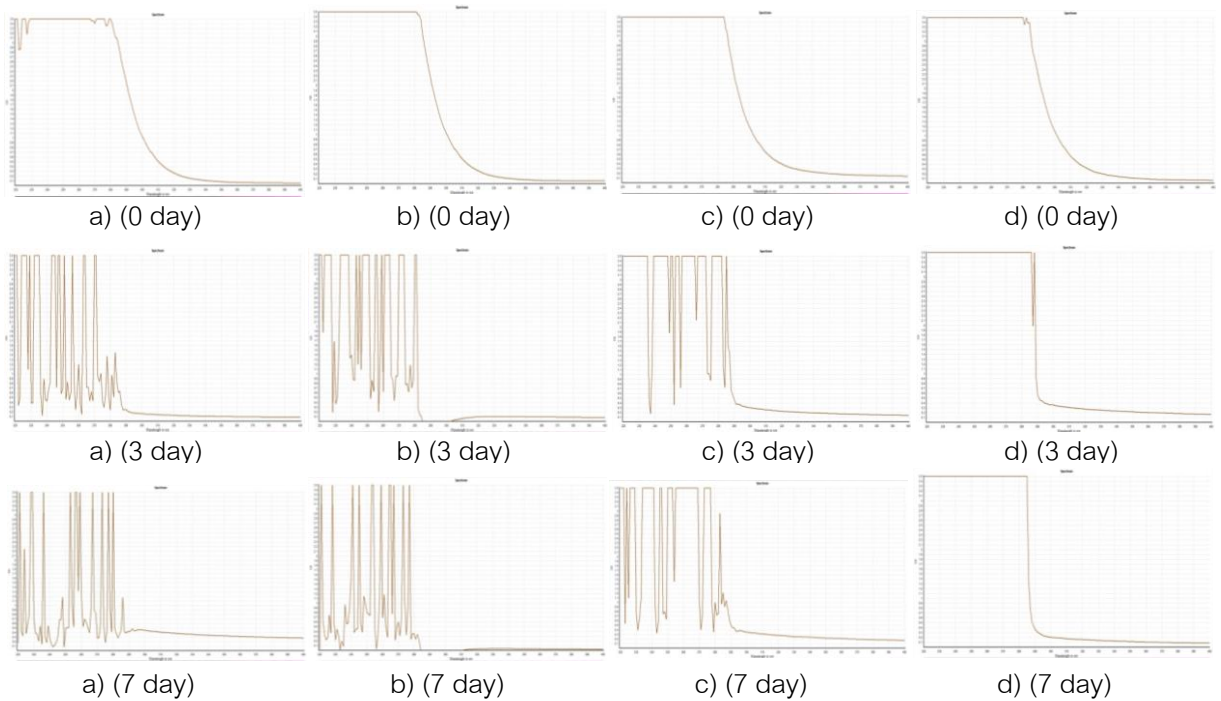
Day 28

Day 35

ภาพที่ 4-12 (ต่อ)

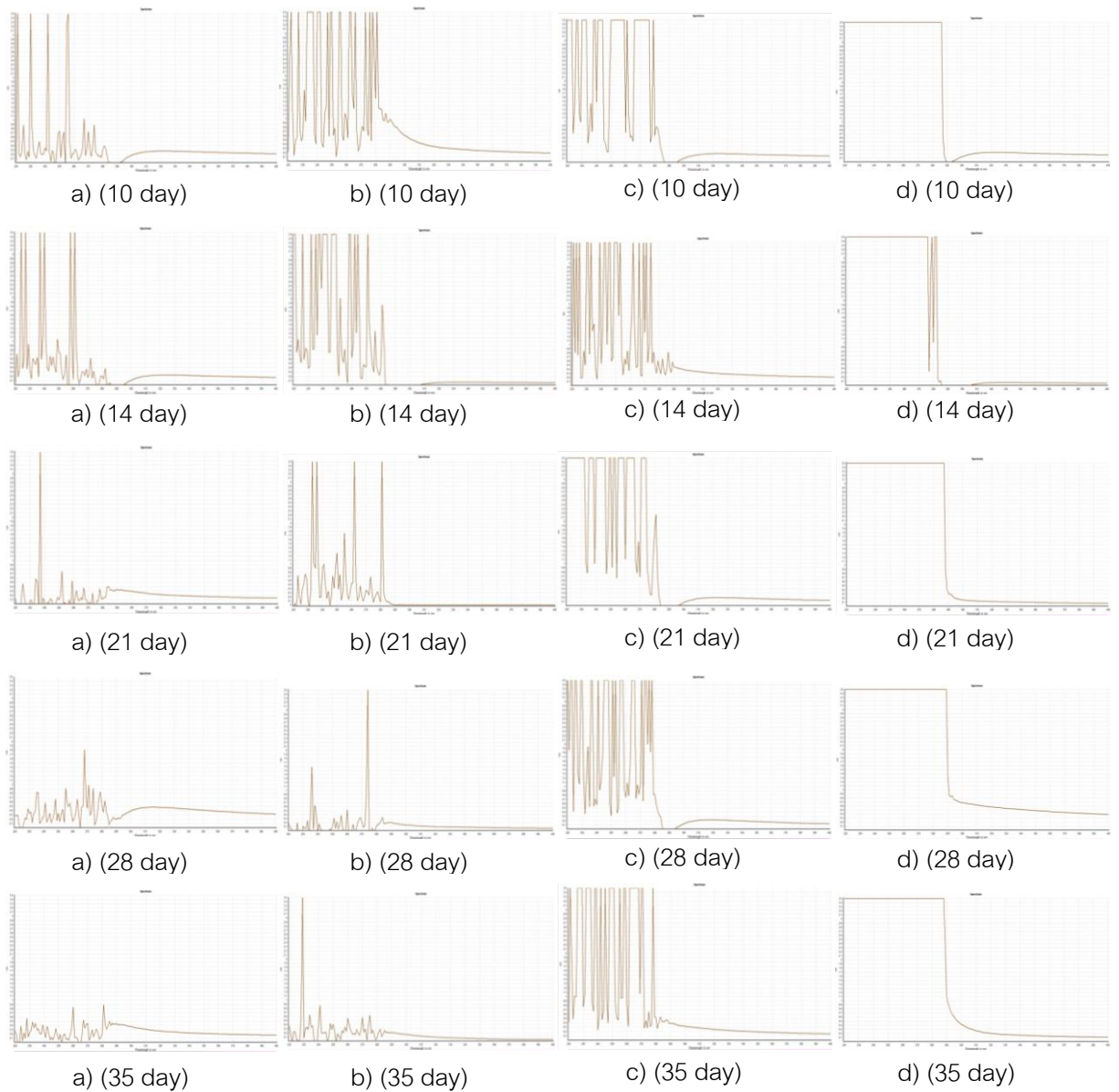
3.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนโดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และพบว่าน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วถูกย่อยสลายจนไม่สามารถตรวจพบฟิเคได้ในวันที่ 28 ของการทดลอง ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และในวันที่ 35 ของการทดลองยังสามารถตรวจพบฟิเคจำนวน 1 ฟิเคที่ค่าความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร (ภาพที่ 4-13)



ภาพที่ 4-13 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

หมายเหตุ a) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน, b) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน, c) หมายถึง ชุด Sterile และ d) หมายถึง ชุด Background



ภาพที่ 4-13 (ต่อ)

3.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนไม่สามารถตรวจพบก๊าซทั้งหมดได้ในทุกชุดการทดลอง (ตารางที่ 4-12)

ตารางที่ 4-12 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะที่มีออกซิเจน			สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
7	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
10	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
14	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
21	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
28	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
35	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

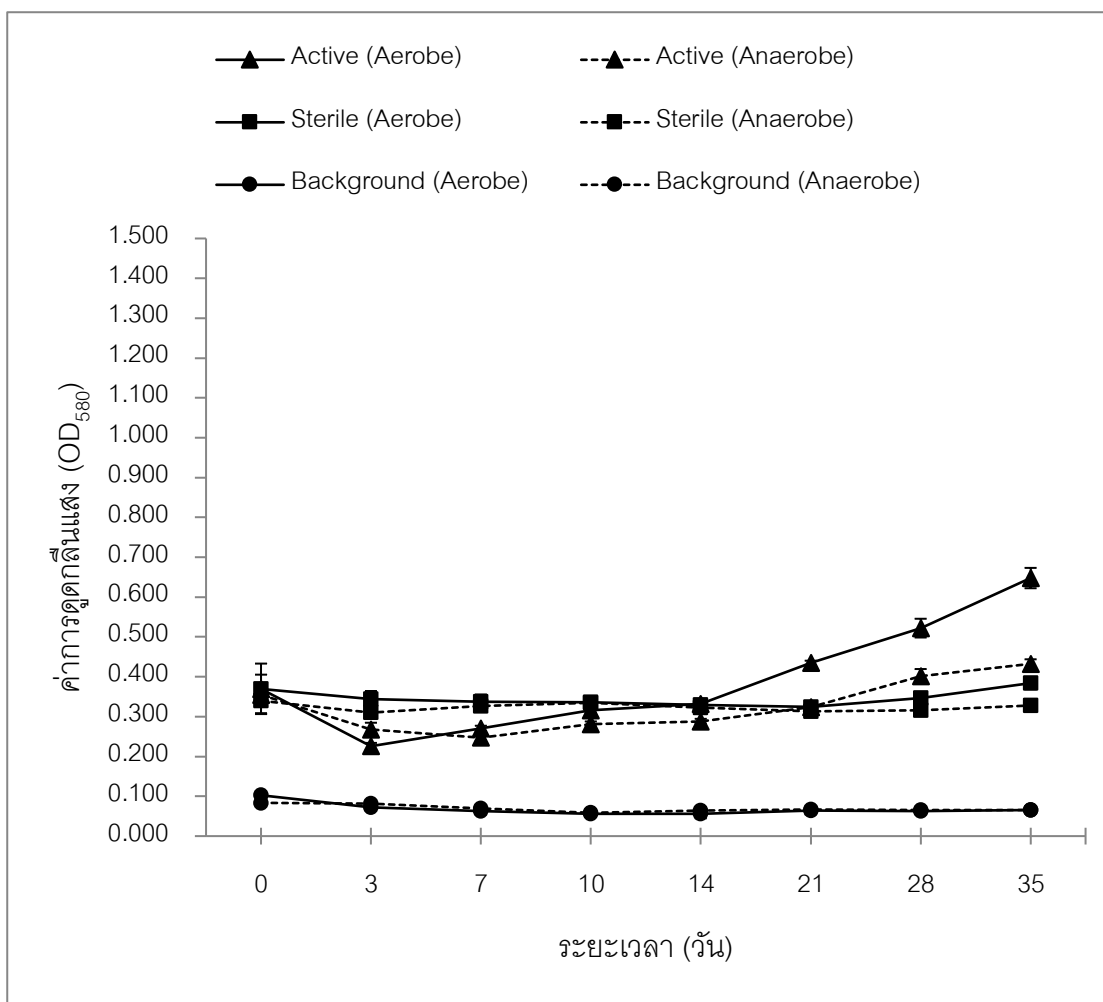
4. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมันดิบภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

4.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันดิบภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมันดิบทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาเมตร พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถเจริญโดยใช้น้ำมันดิบเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยพบว่าปริมาณของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ลดลงเล็กน้อยในวันที่ 0-3 ของการทดลอง และเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 10 ไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ในทั้ง 2 สภาวะ (ตารางที่ 4-13 และภาพที่ 4-14)

ตารางที่ 4-13 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดิบ

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD.$)					
	สภาวะที่มีออกซิเจน			สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.370±0.063	0.369±0.036	0.103±0.008	0.362±0.025	0.340±0.031	0.084±0.008
3	0.226±0.008	0.341±0.023	0.073±0.005	0.267±0.017	0.310±0.012	0.082±0.009
7	0.270±0.007	0.338±0.018	0.063±0.008	0.247±0.008	0.326±0.008	0.070±0.004
10	0.316±0.007	0.330±0.012	0.056±0.006	0.282±0.006	0.335±0.008	0.059±0.006
14	0.332±0.012	0.330±0.012	0.056±0.011	0.288±0.006	0.323±0.011	0.064±0.005
21	0.435±0.005	0.324±0.005	0.064±0.009	0.324±0.007	0.314±0.003	0.068±0.004
28	0.522±0.024	0.347±0.015	0.063±0.006	0.402±0.017	0.316±0.007	0.066±0.003
35	0.648±0.026	0.384±0.015	0.065±0.001	0.432±0.012	0.327±0.004	0.065±0.003



ภาพที่ 4-14 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลอง ในการย่อยสลายน้ำมันดิบ

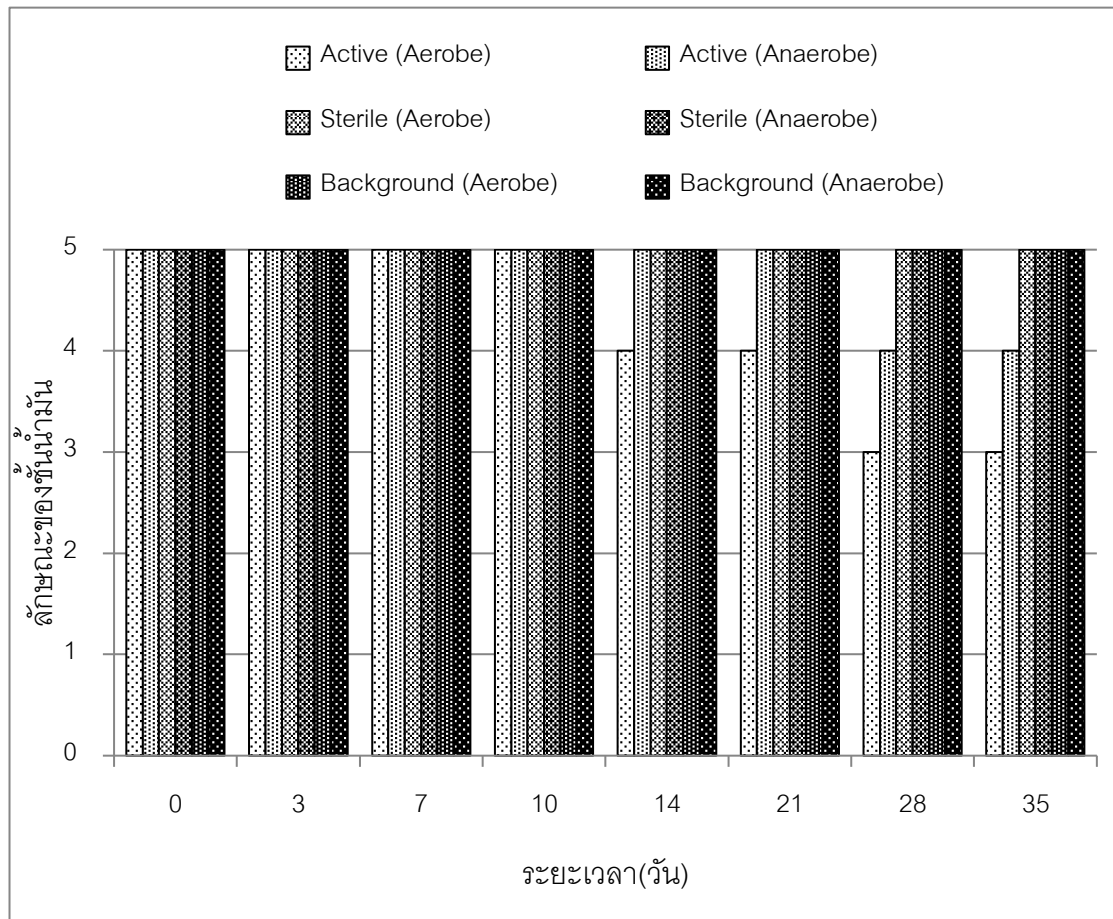
4.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนตั้งแต่วันที่ 14 ของการทดลอง และลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารในวันสุดท้ายของการทดลอง ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง (ตารางที่ 4-14, ภาพที่ 4-15 และภาพที่ 4-16)

ตารางที่ 4-14 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ใน
แต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	5+	5+	5+	5+	5+	5+
10	5+	5+	5+	5+	5+	5+
14	4+	5+	5+	5+	5+	5+
21	4+	5+	5+	5+	5+	5+
28	3+	5+	5+	4+	5+	5+
35	3+	5+	5+	4+	5+	5+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันเบนซินจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันเบนซิน



ภาพที่ 4-15 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน



ภาพที่ 4-16 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 10



Day 14



Day 21

ภาพที่ 4-16 (ต่อ)

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 28

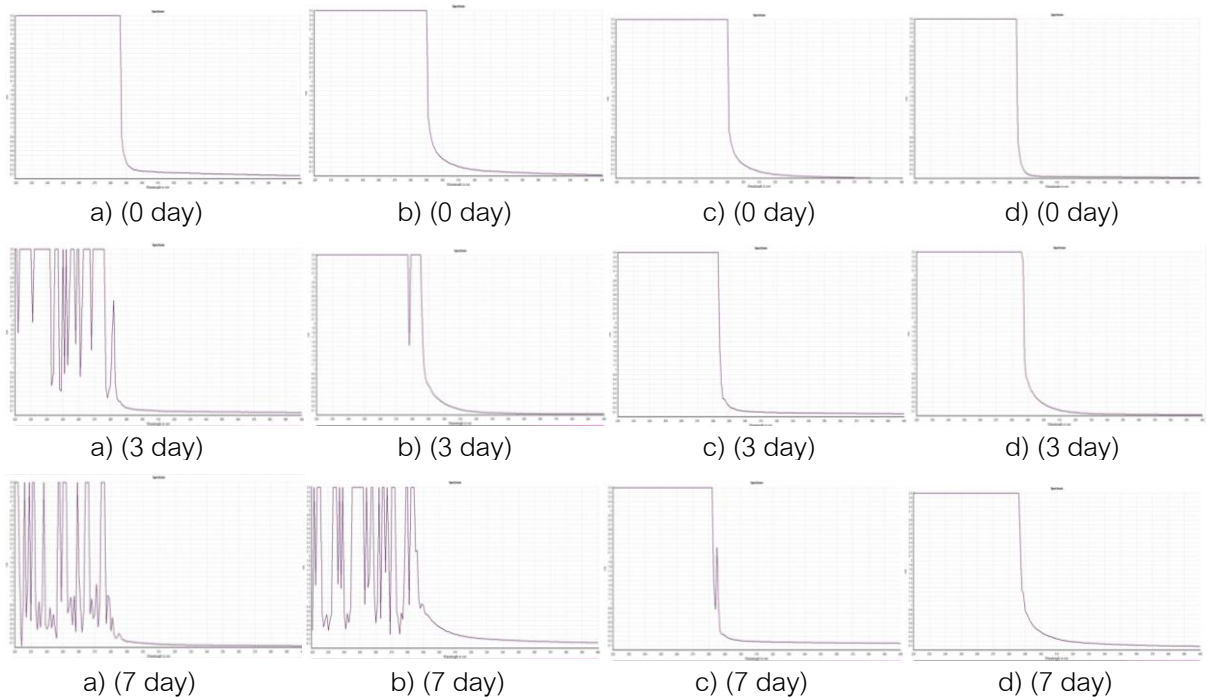


Day 35

ภาพที่ 4-16 (ต่อ)

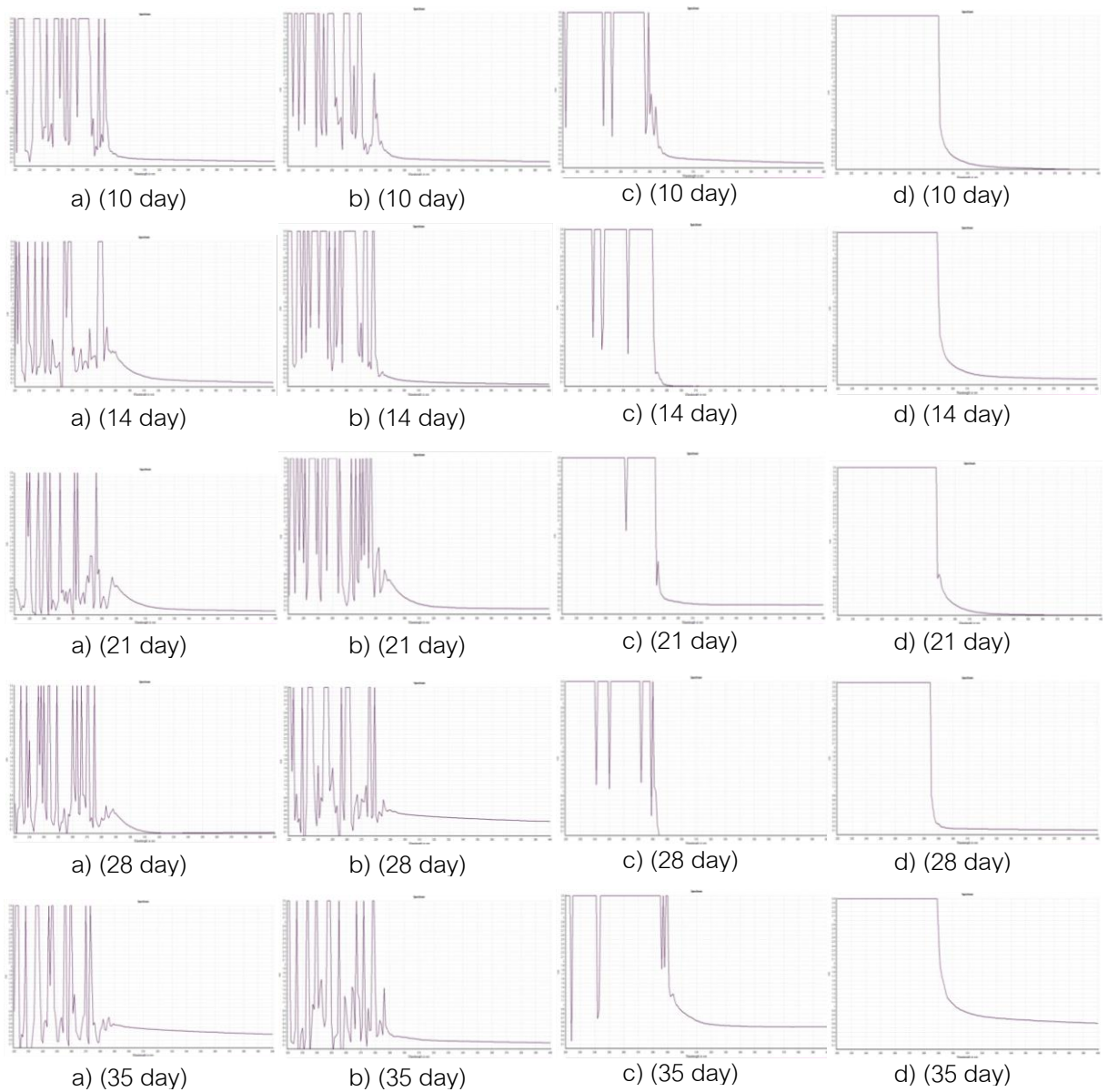
3.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายดิบแล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันดิบมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันดิบภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันดิบตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลอง และทั้ง 2 สภาวะ พบการย่อยสลายเล็กน้อยไปเรื่อย ๆ จนวันสุดท้ายของสุดท้าย (ภาพที่ 4-17)



ภาพที่ 4-17 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

- หมายเหตุ a) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน
 b) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน
 c) หมายถึง ชุด Sterile
 d) หมายถึง ชุด Background



ภาพที่ 4-17 (ต่อ)

4.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนสามารถตรวจพบ
 ก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นได้เล็กน้อยในช่วงวันที่ 7-14 ของการทดลองในชุดการทดลองที่เป็นชุด Active
 (ตารางที่ 4-15)

ตารางที่ 4-15 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1
ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
7	3±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
10	2±1	0±0	0±0	2±1	0±0	0±0
14	2±1	0±0	0±0	2±1	0±0	0±0
21	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
28	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
35	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

5. การเปรียบเทียบความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

5.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

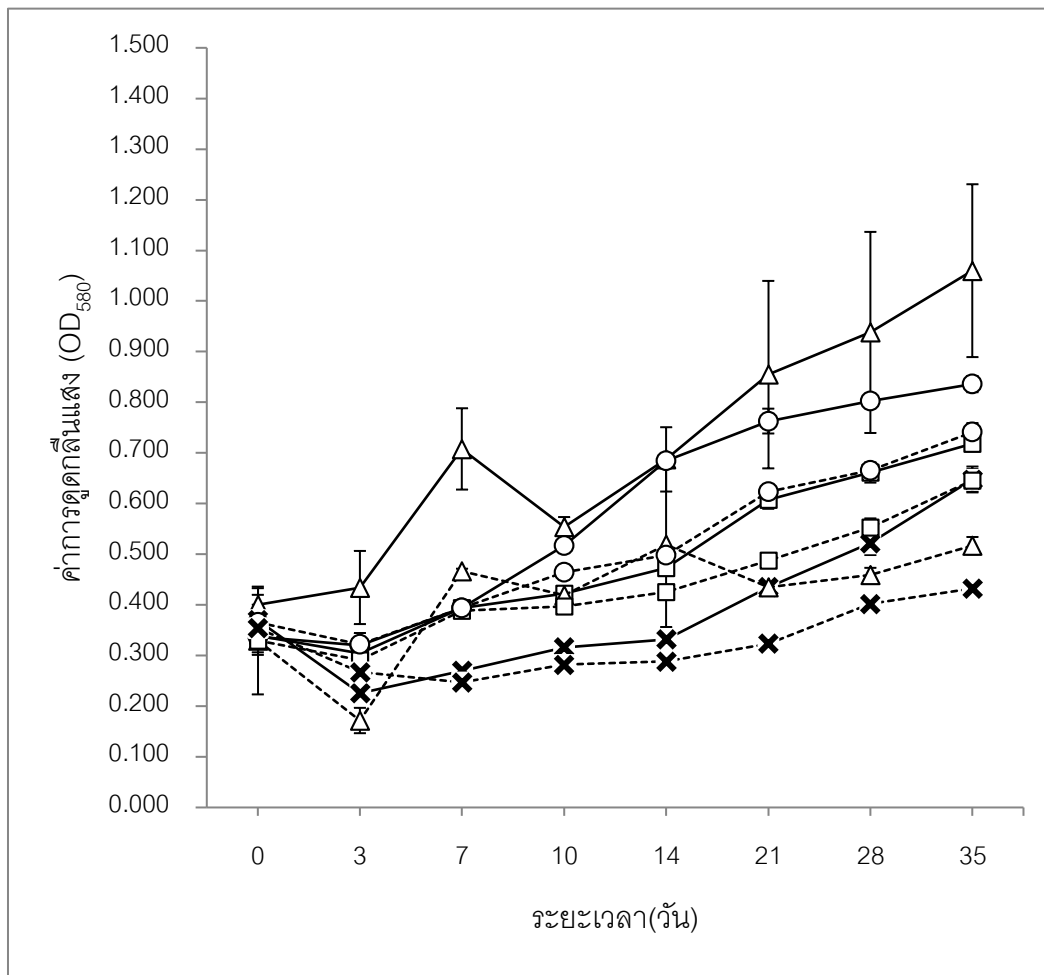
จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถเจริญเพิ่มจำนวนโดยใช้ไขมันดีเซลเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว น้ำมันเบนซินและน้ำมันดิบ ตามลำดับภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถเจริญเพิ่มจำนวนโดยใช้ไขมันเบนซินเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว น้ำมันดีเซล และน้ำมันดิบ ตามลำดับ โดยสามารถเจริญในแหล่งของคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันทั้ง 4 ชนิดได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-16, ตารางที่ 4-17 และภาพที่ 4-18)

ตารางที่ 4-16 ปริมาณของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)							
	สภาวะมีออกซิเจน				สภาวะไม่มีออกซิเจน			
	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมัน ดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมัน ดิบ
0	0.400	0.339	0.337	0.370	0.330	0.330	0.366	0.362
	± 0.020	± 0.011	± 0.036	± 0.063	± 0.106	± 0.002	± 0.035	± 0.025
3	0.434	0.304	0.32	0.226	0.352	0.291	0.322	0.267
	± 0.072	± 0.009	± 0.001	± 0.008	± 0.047	± 0.005	± 0.023	± 0.017
7	0.708	0.394	0.394	0.270	0.466	0.388	0.393	0.247
	± 0.080	± 0.006	± 0.005	± 0.007	± 0.005	± 0.004	± 0.006	± 0.008
10	0.554	0.422	0.517	0.316	0.419	0.397	0.464	0.282
	± 0.019	± 0.007	± 0.014	± 0.007	± 0.016	± 0.003	± 0.008	± 0.006
14	0.687	0.473	0.684	0.332	0.519	0.425	0.498	0.288
	± 0.064	± 0.006	± 0.007	± 0.012	± 0.162	± 0.009	± 0.004	± 0.006

ตารางที่ 4-16 (ต่อ)

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD ₅₈₀) ($\bar{X} \pm SD$)							
	สภาวะมีออกซิเจน				สภาวะไม่มีออกซิเจน			
	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
21	0.855	0.607	0.763	0.435	0.435	0.488	0.623	0.324
	± 0.185	± 0.018	± 0.025	± 0.005	± 0.014	± 0.014	± 0.013	± 0.007
28	0.938 $\pm 0.$	0.661	0.802	0.522	0.459	0.553	0.666	0.402
	199	± 0.020	± 0.009	± 0.024	± 0.014	± 0.018	± 0.009	± 0.017
35	1.060	0.718	0.836	0.648	0.517	0.646	0.741	0.432
	± 0.171	± 0.015	± 0.016	± 0.026	± 0.017	± 0.022	± 0.018	± 0.012



ภาพที่ 4-18 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มี

ออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน: (▲) น้ำมันดีเซล, (◻) น้ำมันเบนซิน, (○) น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว,

(×) น้ำมันดิบ, สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน: (▲) น้ำมันดีเซล, (◻) น้ำมันเบนซิน,

(○) น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและ (×) น้ำมันดิบ

ตารางที่ 4-17 อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด

ชนิดของน้ำมัน	สภาวะมีออกซิเจน		สภาวะไม่มีออกซิเจน	
	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)
น้ำมันดีเซล	0.017162	10	0.005352	21
น้ำมันเบนซิน	0.010848	7	0.009029	10
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว	0.014248	7	0.010724	14
น้ำมันดิบ	0.007943	14	0.002229	21

5.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินพบการลดลงของชั้นน้ำมันรวดเร็วมากที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันดีเซล น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและน้ำมันดิบ ตามลำดับ โดยสภาวะที่มีออกซิเจนในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเหลือเพียงคราบน้ำมันจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม ตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลอง ส่วนการย่อยสลายน้ำมันดีเซล ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลอง และลดลงเหลือเพียงคราบน้ำมันจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม ในวันสุดท้ายของการทดลอง ส่วนน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารตั้งแต่วันที่ 10 ของการทดลองไปจนวันสุดท้ายของการทดลอง และในการย่อยสลายน้ำมันดิบ พบลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารตั้งแต่วันที่ 28 ของการทดลองไปจนวันสุดท้ายของการทดลอง แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนลักษณะของชั้นน้ำมันในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลและน้ำมันเบนซินมีการลดลงอย่างเห็นได้ชัดเหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารในวันสุดท้ายของการทดลอง ส่วนการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลองไปจนวันสุดท้ายของการทดลอง และน้ำมันดิบพบลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนในวันที่ 28 ของการทดลองไปตลอดจนวันสุดท้ายของการทดลอง และ

จากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ยังพบว่า การลดลงของชั้นน้ำมัน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเกิดขึ้นได้เร็วกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนอีกด้วย (ตารางที่ 4-18, ภาพที่ 4-19 และภาพที่ 4-20)

ตารางที่ 4-18 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน							
	สภาวะมีออกซิเจน				สภาวะไม่มีออกซิเจน			
	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	4+	4+	5+	5+	4+	4+	5+	5+
7	3+	4+	4+	5+	3+	4+	4+	5+
10	3+	3+	3+	5+	3+	4+	4+	5+
14	2+	2+	3+	4+	3+	3+	4+	5+
21	2+	1+	3+	4+	2+	2+	3+	5+
28	2+	1+	3+	3+	2+	2+	3+	4+
35	1+	1+	3+	3+	2+	2+	3+	4+

หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

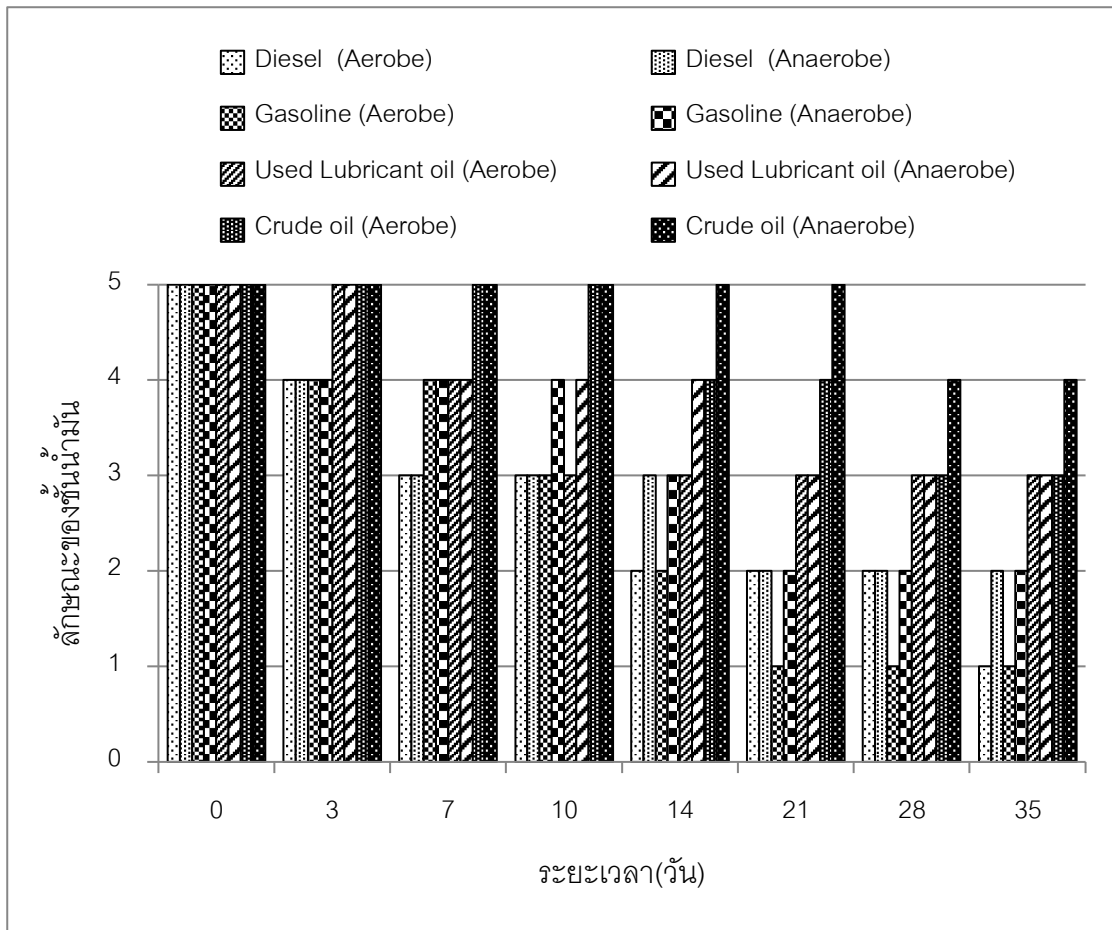
4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

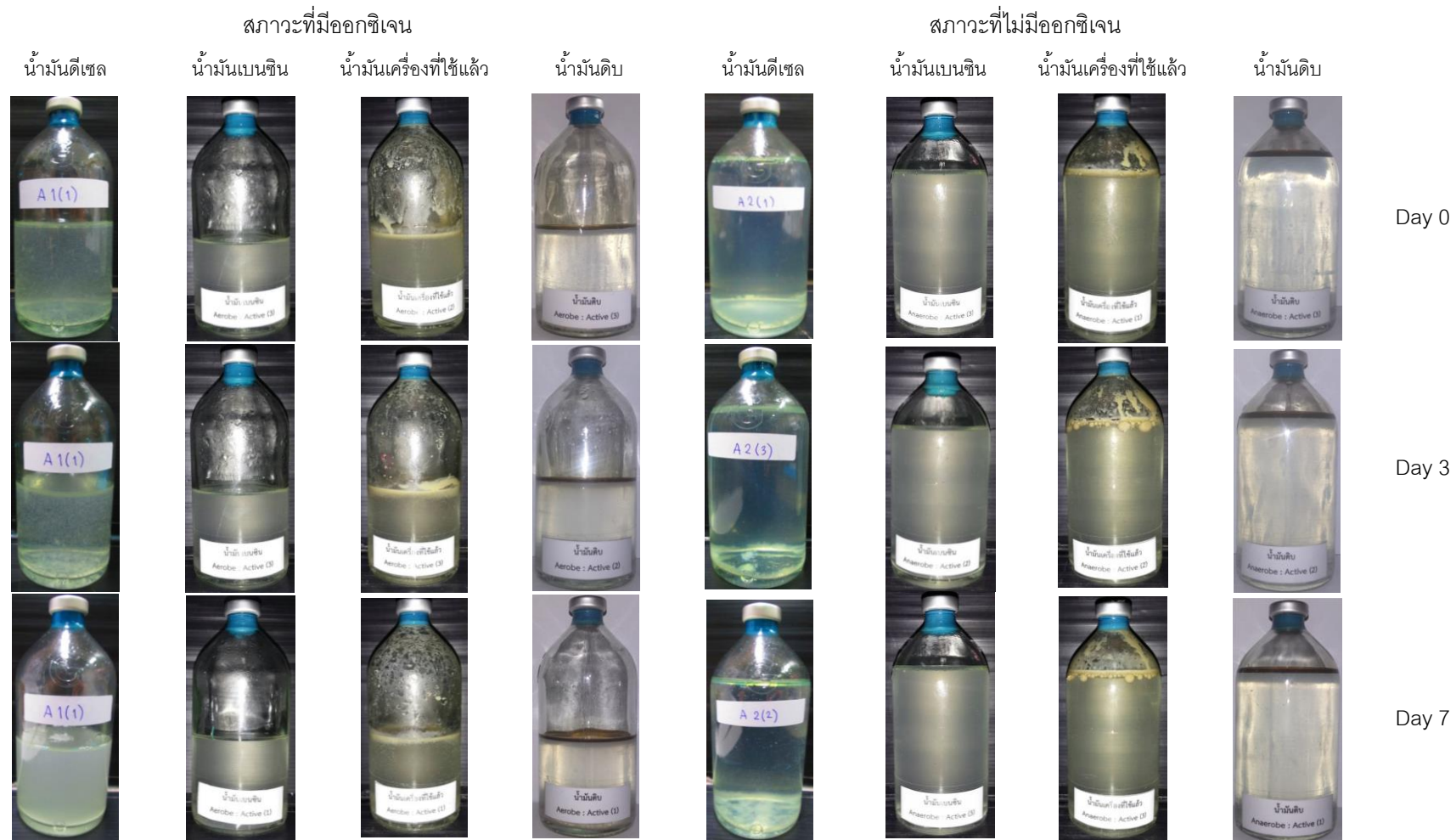
2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม

0 หมายถึง ไม่พบน้ำมัน



ภาพที่ 4-19 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

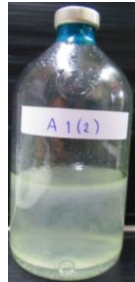


ภาพที่ 4-20 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิดในชุด Active ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

น้ำมันดีเซล



น้ำมันเบนซิน



น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว



น้ำมันดิบ



น้ำมันดีเซล



น้ำมันเบนซิน



น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว



น้ำมันดิบ



Day 10

Day 14

Day 21



Day 28

Day 35

ภาพที่ 4-20 (ต่อ)

5.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

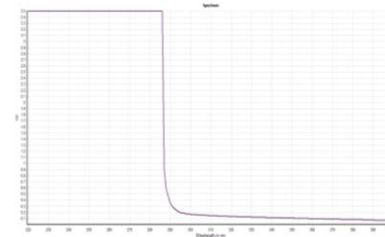
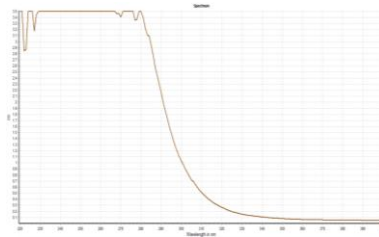
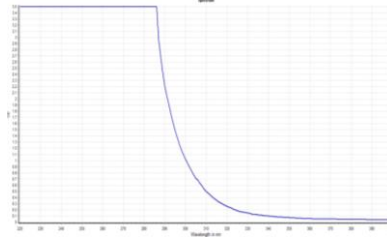
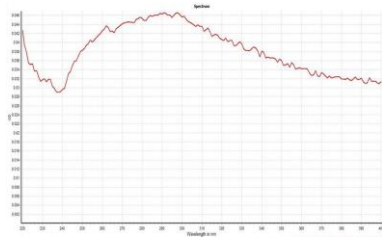
จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดได้ในทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน และสามารถย่อยสลายน้ำมันเบนซินได้ดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว น้ำมันดีเซล และน้ำมันดิบตามลำดับ โดยในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินสามารถเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยสามารถย่อยสลายจนไม่สามารถตรวจพบฟีดได้ตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลอง ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและในวันสุดท้ายของการทดลองภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในส่วนของการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลอง และภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเกิดการย่อยสลายจนไม่สามารถตรวจพบฟีดได้ในวันที่ 28 ของการทดลอง และภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนสามารถตรวจพบจำนวน 1 ฟีดที่ค่าความยาวคลื่น 228 นาโนเมตรในวันสุดท้ายของการทดลอง ส่วนการย่อยสลายน้ำมันดีเซลเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนไม่สามารถตรวจพบฟีดได้ในวันสุดท้ายของการทดลอง แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนยังคงสามารถตรวจพบฟีดได้จำนวน 3 ฟีดที่ค่าความยาวคลื่น 240, 256 และ 275 นาโนเมตร และส่วนการย่อยสลายน้ำมันดิบเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองก็ยังสามารถตรวจพบฟีดจำนวนมากอยู่ในทั้ง 2 สภาวะ (ภาพที่ 4-21 และ 4-22)

น้ำมันดีเซล

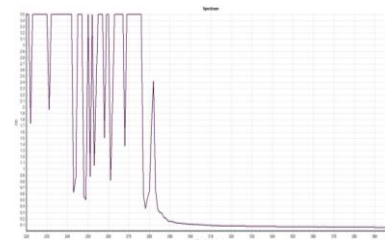
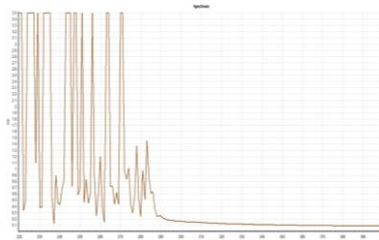
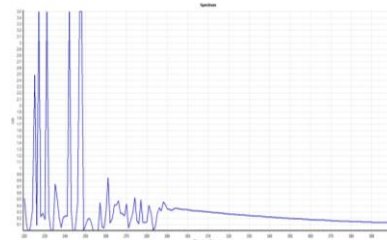
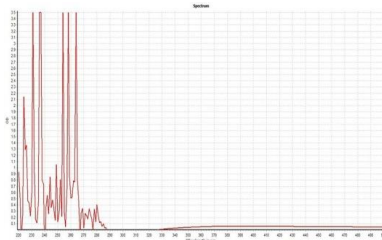
น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

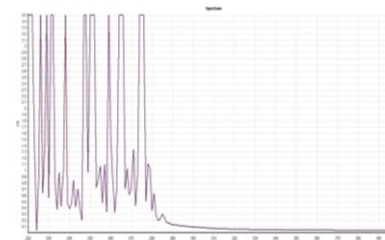
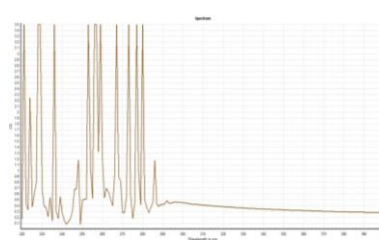
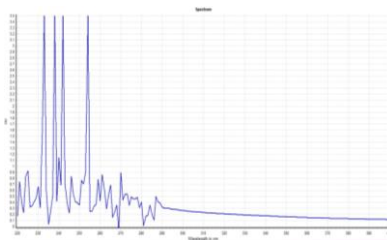
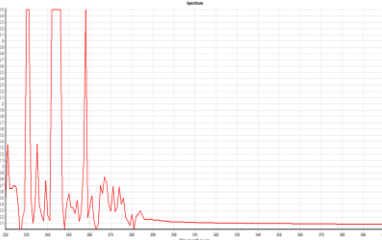
น้ำมันดิบ



Day 0



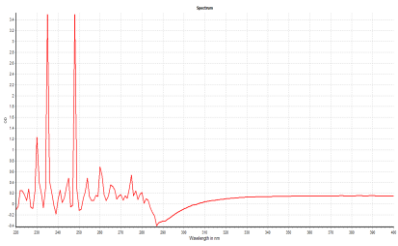
Day 3



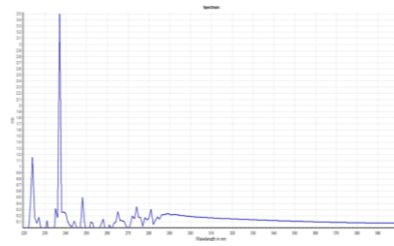
Day 7

ภาพที่ 4-21 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ชูด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

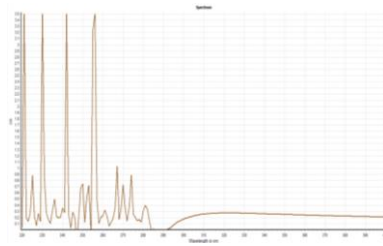
น้ำมันดีเซล



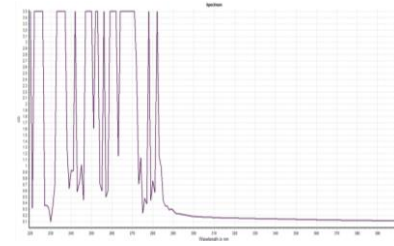
น้ำมันเบนซิน



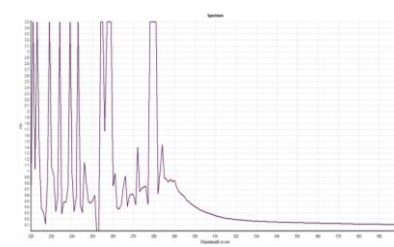
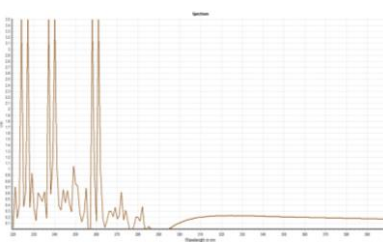
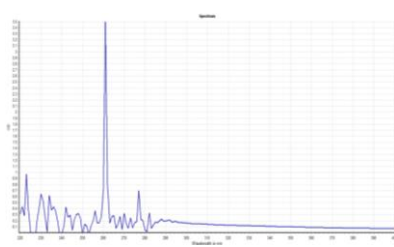
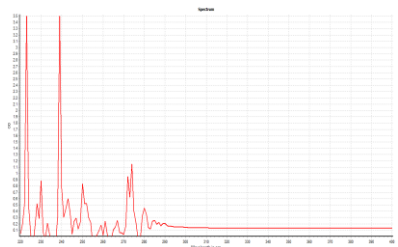
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว



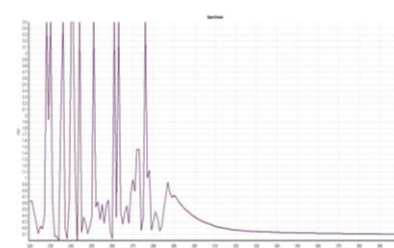
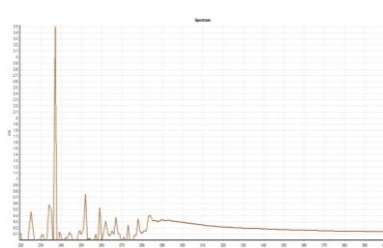
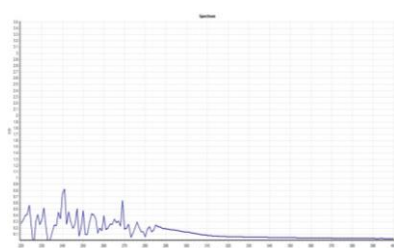
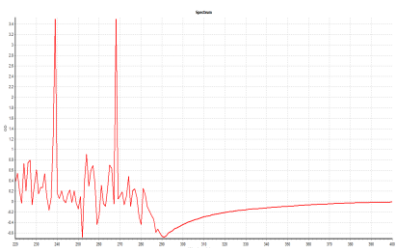
น้ำมันดิบ



Day
10



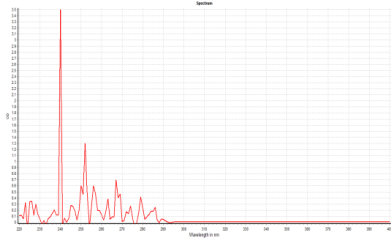
Day
14



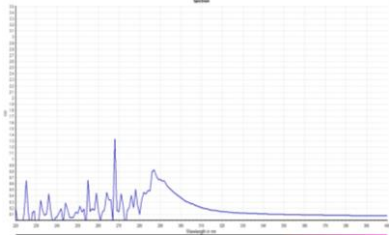
Day
21

ภาพที่ 4-21 (ต่อ)

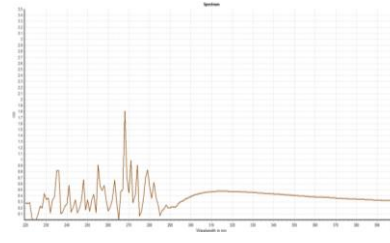
น้ำมันดีเซล



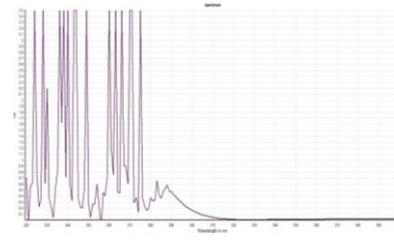
น้ำมันเบนซิน



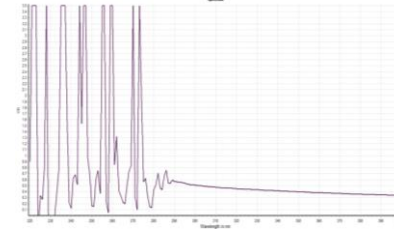
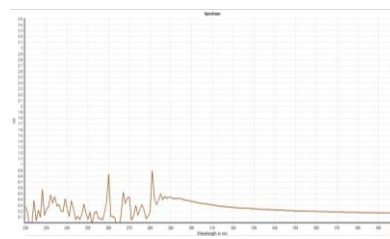
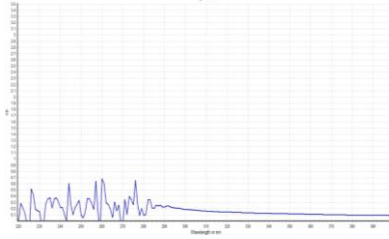
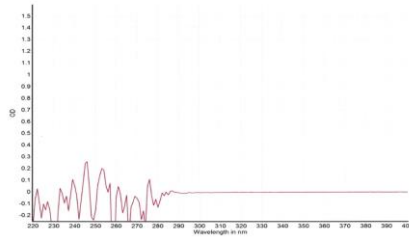
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว



น้ำมันดิบ

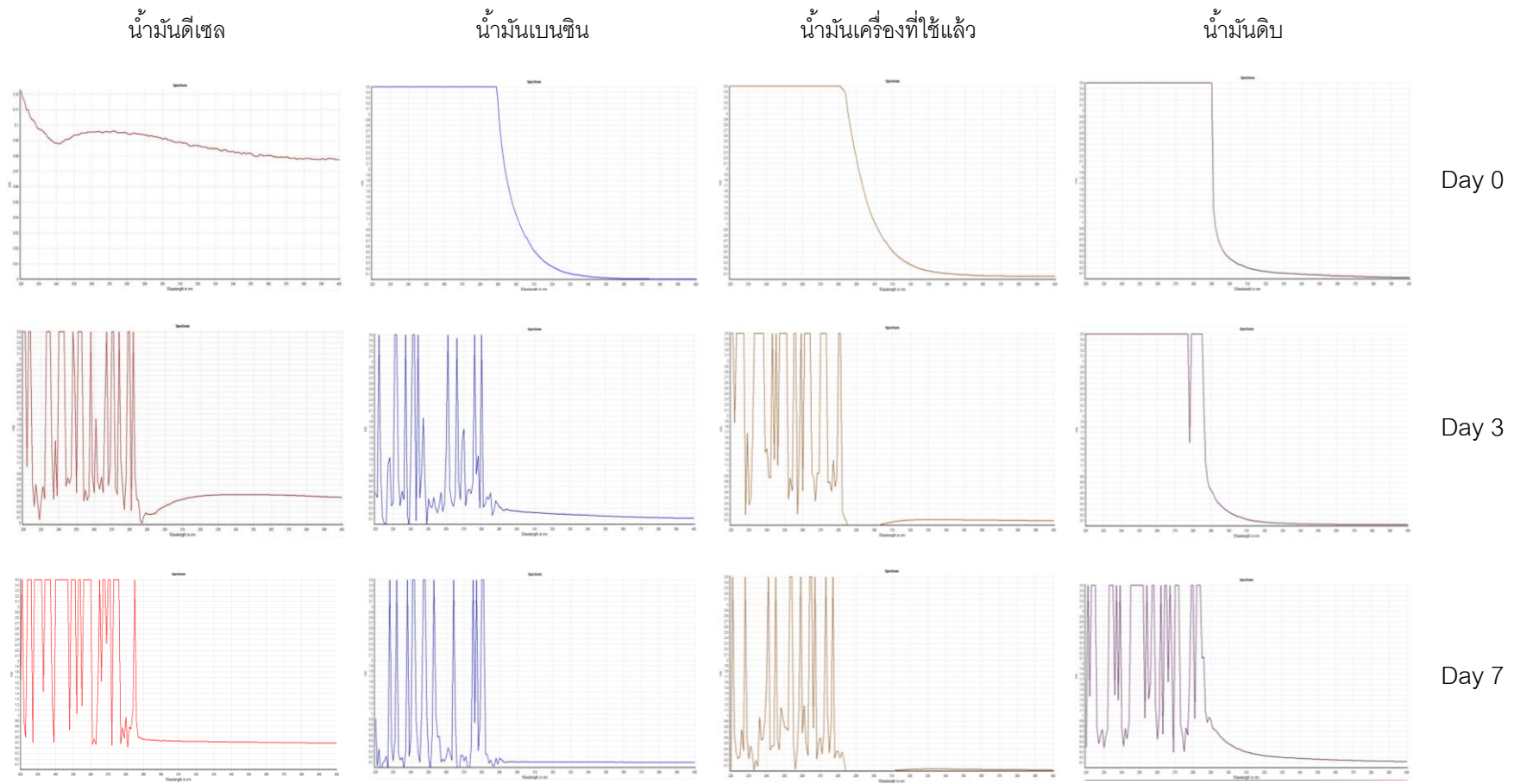


Day
28



Day
35

ภาพที่ 4-21 (ต่อ)



ภาพที่ 4-22 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่
มีออกซิเจน

น้ำมันดีเซล

น้ำมันเบนซิน

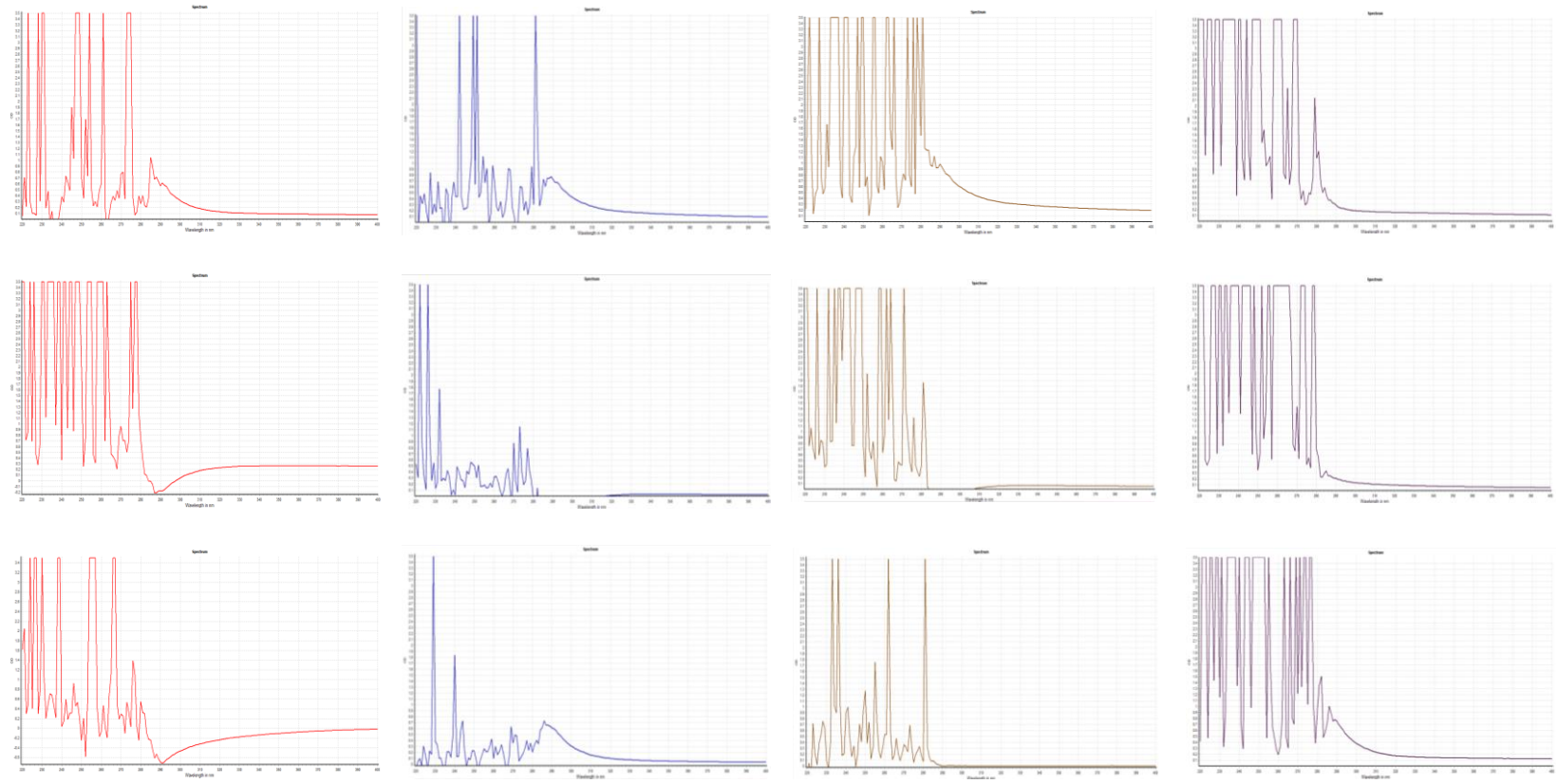
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

น้ำมันดิบ

Day
10

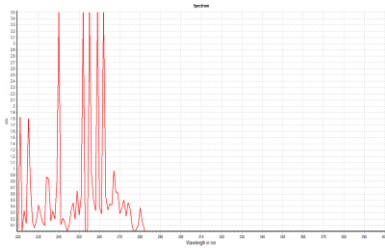
Day
14

Day
21

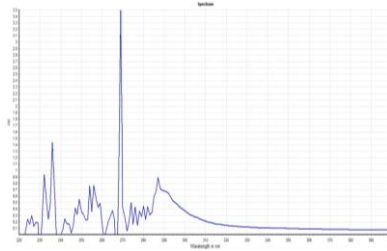


ภาพที่ 4-22 (ต่อ)

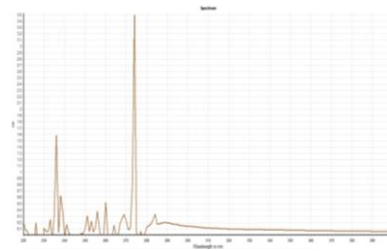
น้ำมันดีเซล



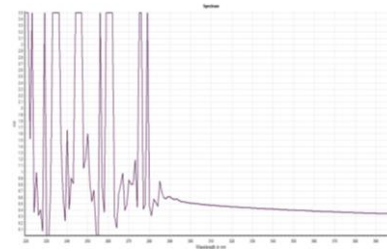
น้ำมันเบนซิน



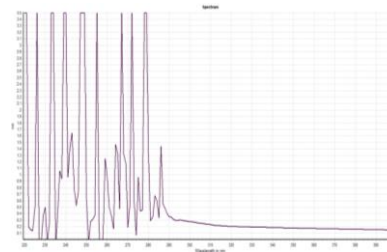
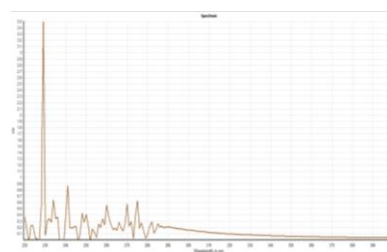
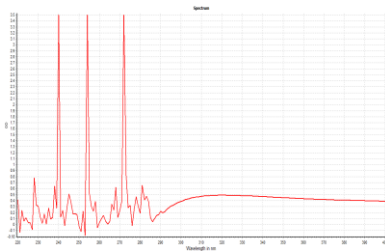
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว



น้ำมันดิบ



Day
28



Day
35

ภาพที่ 4-22 (ต่อ)

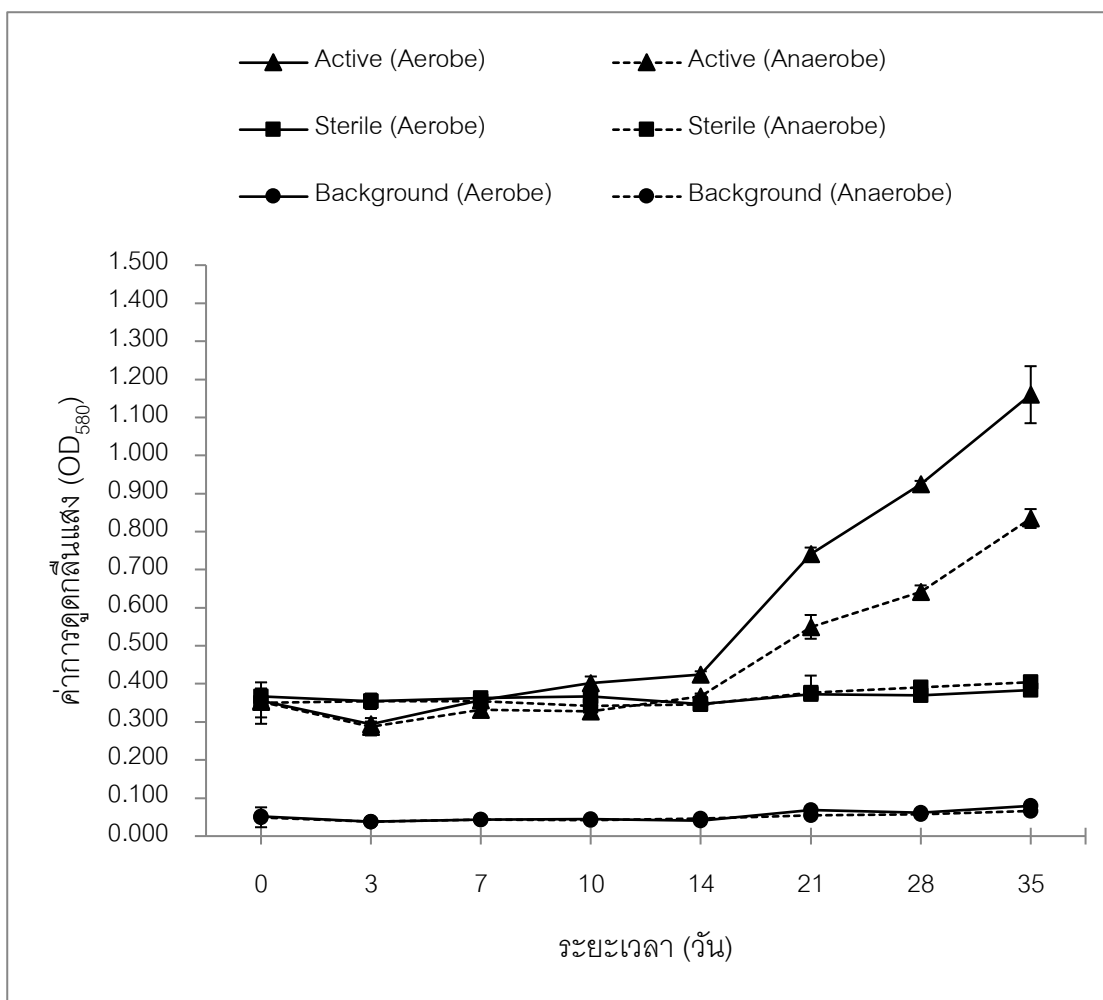
6. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

6.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันดีเซล ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรีย SD4 ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรีย SD4 มีการเจริญโดยใช้น้ำมันดีเซลเป็นแหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 0-7 ของการทดลอง และลดลงในวันที่ 10 ของการทดลอง หลังจากนั้นมีการเจริญเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 14 ของการทดลองไปจนถึงถึงวันสุดท้ายของการทดลองในทั้ง 2 สภาวะ แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแบคทีเรีย SD4 สามารถเจริญได้ดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-20 และภาพที่ 4-23)

ตารางที่ 4-20 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.356±0.021	0.366±0.022	0.052±0.006	0.353±0.018	0.350±0.054	0.050±0.026
3	0.294±0.007	0.354±0.020	0.038±0.006	0.287±0.023	0.354±0.020	0.038±0.006
7	0.358±0.009	0.363±0.006	0.043±0.008	0.332±0.018	0.355±0.016	0.044±0.004
10	0.402±0.017	0.366±0.006	0.045±0.002	0.328±0.008	0.342±0.012	0.042±0.002
14	0.425±0.008	0.347±0.023	0.041±0.001	0.366±0.008	0.346±0.004	0.046±0.001
21	0.741±0.017	0.372±0.049	0.069±0.002	0.550±0.031	0.377±0.010	0.055±0.006
28	0.925±0.008	0.370±0.028	0.062±0.001	0.641±0.018	0.391±0.008	0.058±0.003
35	1.160±0.075	0.384±0.017	0.080±0.006	0.834±0.025	0.404±0.014	0.066±0.003



ภาพที่ 4-23 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล

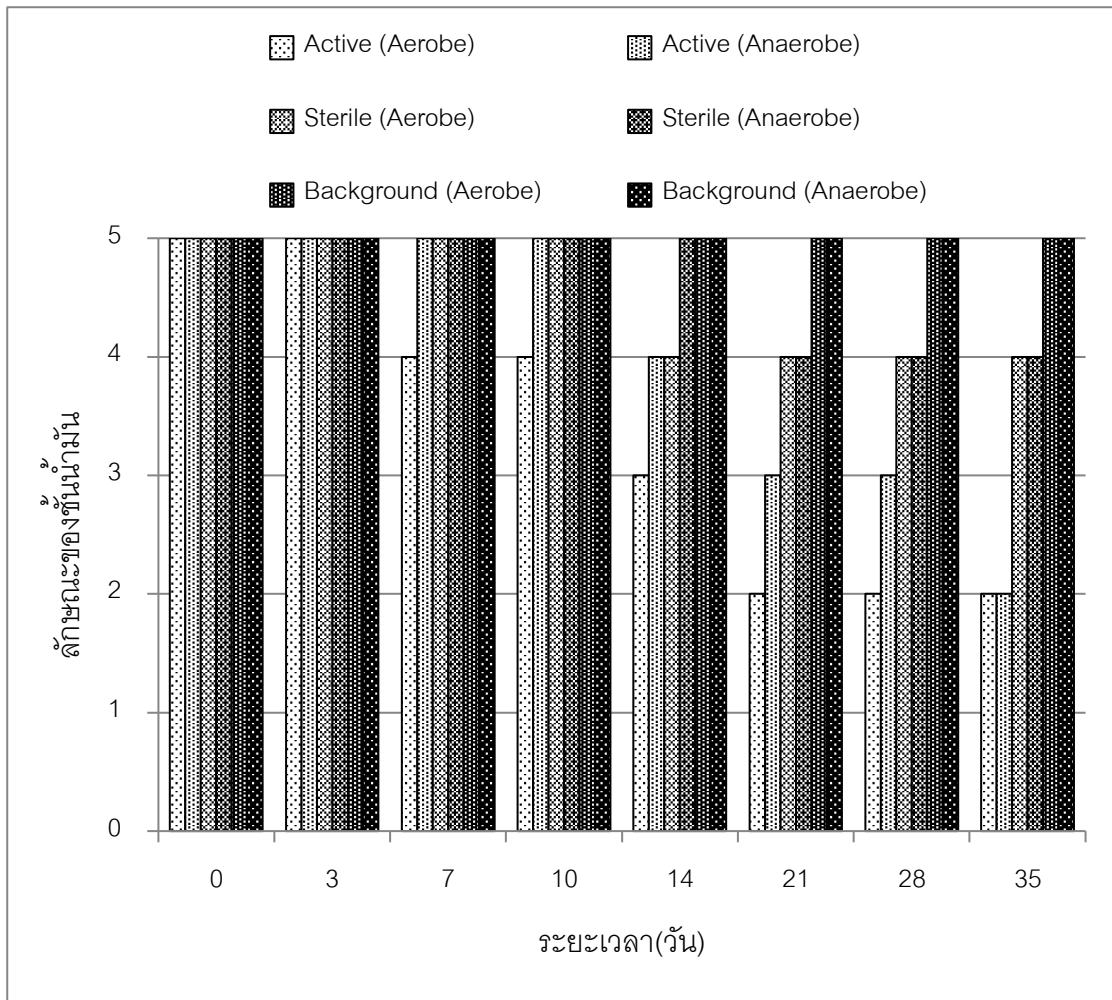
6.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงสังเกตพบเพียงคราบน้ำมันดีเซลจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร (ตารางที่ 4-21, ภาพที่ 4-24 และภาพที่ 4-25)

ตารางที่ 4-21 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4
ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	4+	5+	5+	5+	5+	5+
10	4+	5+	5+	5+	5+	5+
14	3+	4+	5+	4+	5+	5+
21	2+	4+	5+	3+	4+	5+
28	2+	4+	5+	3+	4+	5+
35	2+	4+	5+	2+	4+	5+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันเบนซินจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันเบนซิน



ภาพที่ 4-24 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 0



Day 3



Day 7

ภาพที่ 4-25 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 10



Day 14



Day 21

สภาวะที่มีออกซิเจน

ชุด Active



ชุด Sterile



ชุด Background



สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active



ชุด Sterile



ชุด Background



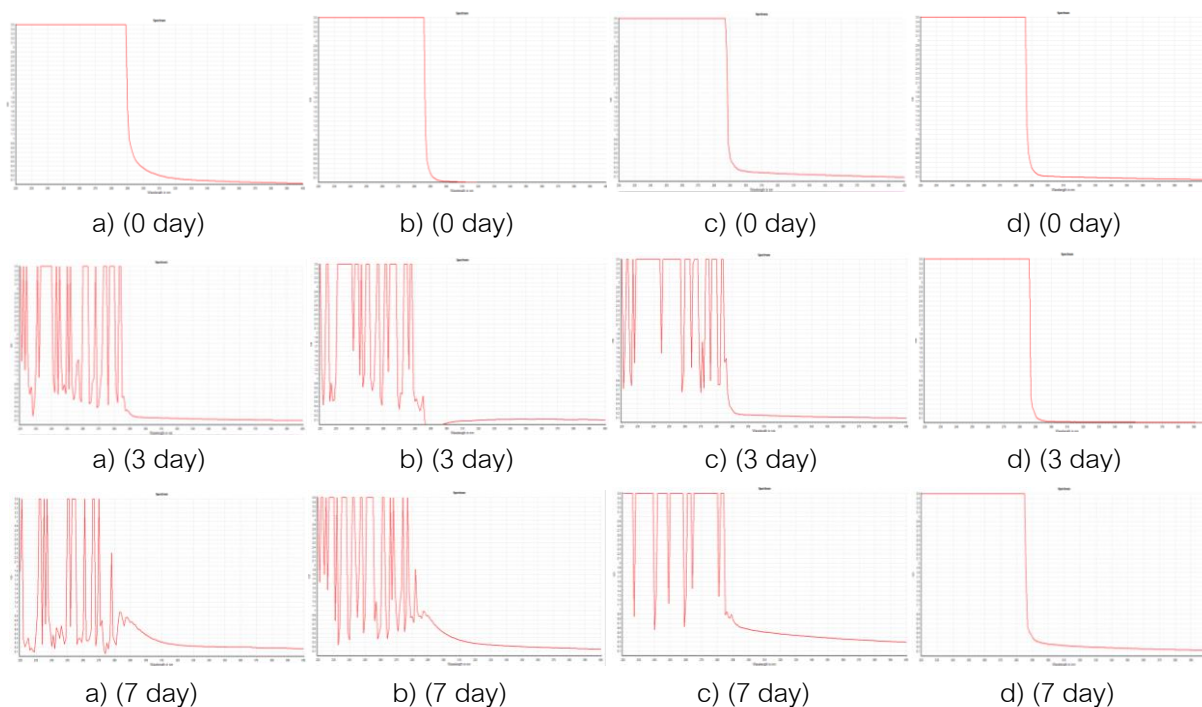
Day 28

Day 35

ภาพที่ 4-25 (ต่อ)

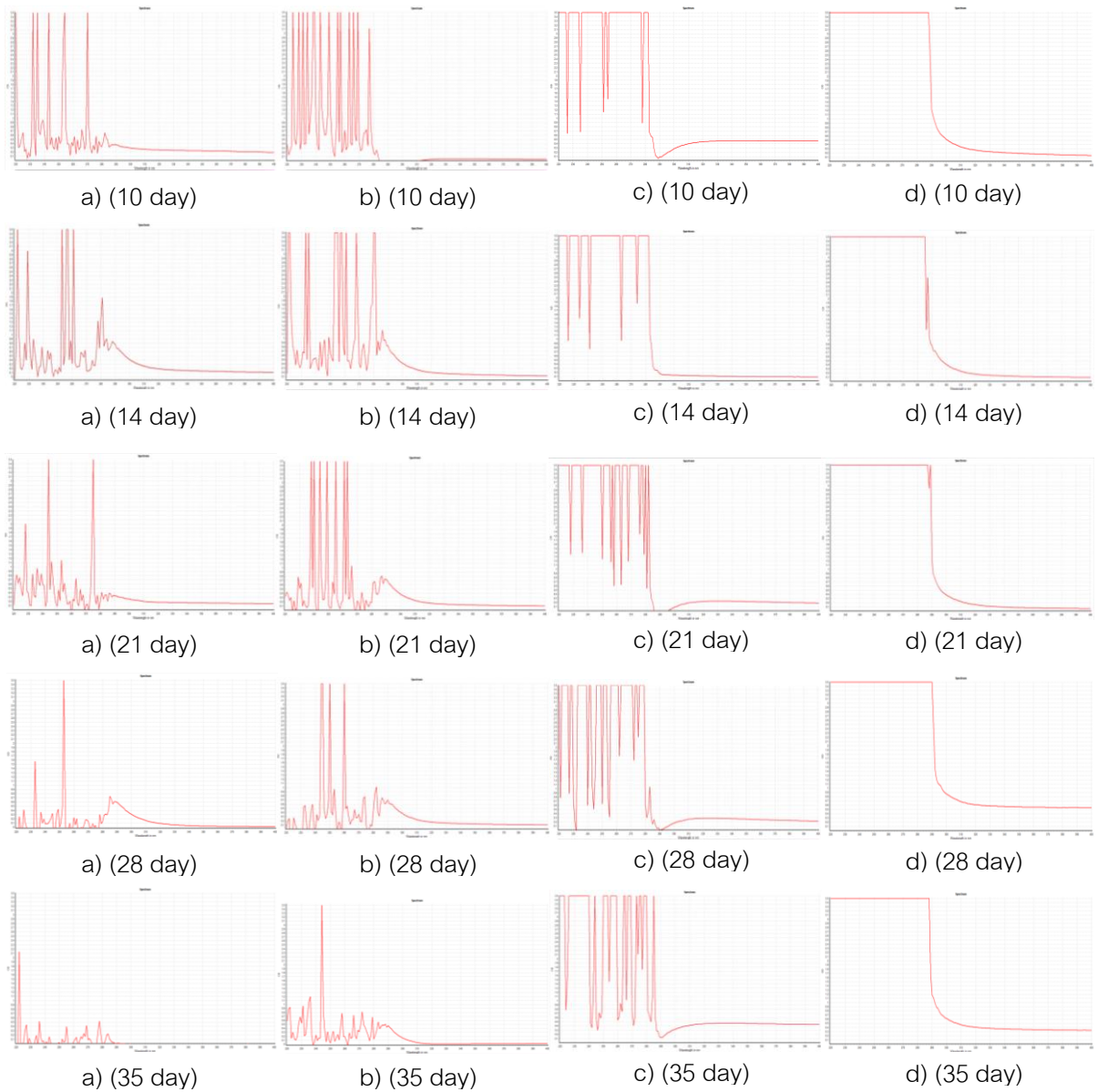
6.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนโดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และพบว่าน้ำมันดีเซลถูกย่อยสลายจนไม่สามารถตรวจพบพิกัดได้ในวันที่ 35 ของการทดลอง ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลอง และในวันที่ 35 ของการทดลอง ยังสามารถตรวจพบพิกัดจำนวน 1 พิกัด ที่ค่าความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร (ภาพที่ 4-26)



ภาพที่ 4-26 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

- หมายเหตุ a) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน
 b) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน
 c) หมายถึง ชุด Sterile
 d) หมายถึง ชุด Background



ภาพที่ 4-26 (ต่อ)

6.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สถานะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นมีปริมาณเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อย
 ตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลองในชุด Active ทั้ง 2 สถานะ (ตารางที่ 4-22)

ตารางที่ 4-22 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
7	3±2	0±0	0±0	2±1	0±0	0±0
10	2±2	0±0	0±0	2±0	0±0	0±0
14	2±1	0±0	0±0	2±1	0±0	0±0
21	3±2	0±0	0±0	3±1	0±0	0±0
28	1±1	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
35	1±1	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0

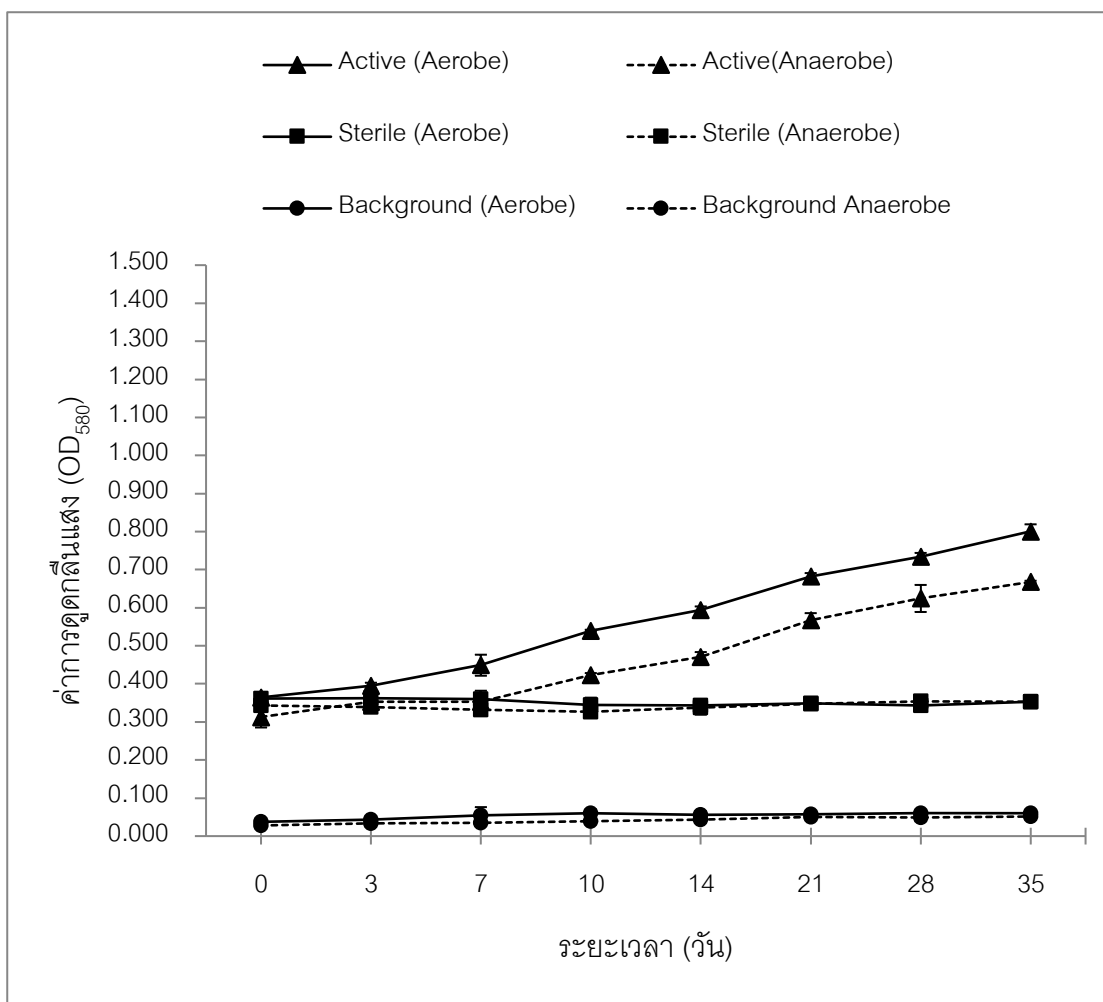
7. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

7.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันเบนซิน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรีย SD4 ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรีย SD4 มีการเจริญโดยใช้น้ำมันเบนซินเป็นแหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยในช่วง 0-7 วันของการทดลองจะไม่ค่อยพบการเพิ่มจำนวนหรือเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลองเป็นต้นไป พบการเจริญเพิ่มจำนวนสูงขึ้นจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองในทั้ง 2 สภาวะ แต่สามารถเจริญภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-23 และ ภาพที่ 4-27)

ตารางที่ 4-23 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะที่มีออกซิเจน			สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.364±0.011	0.361±0.008	0.038±0.004	0.313±0.028	0.343±0.009	0.028±0.006
3	0.395±0.008	0.362±0.006	0.043±0.003	0.353±0.006	0.339±0.007	0.033±0.004
7	0.449±0.028	0.360±0.022	0.055±0.021	0.352±0.008	0.333±0.016	0.035±0.006
10	0.540±0.003	0.345±0.019	0.060±0.011	0.423±0.006	0.327±0.008	0.040±0.004
14	0.594±0.009	0.343±0.009	0.056±0.008	0.471±0.013	0.337±0.018	0.044±0.005
21	0.683±0.008	0.349±0.007	0.058±0.001	0.567±0.018	0.348±0.003	0.051±0.004
28	0.735±0.009	0.344±0.010	0.061±0.001	0.624±0.036	0.354±0.004	0.050±0.011
35	0.801±0.018	0.352±0.007	0.060±0.003	0.668±0.003	0.353±0.007	0.052±0.002



ภาพที่ 4-27 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลอง ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน

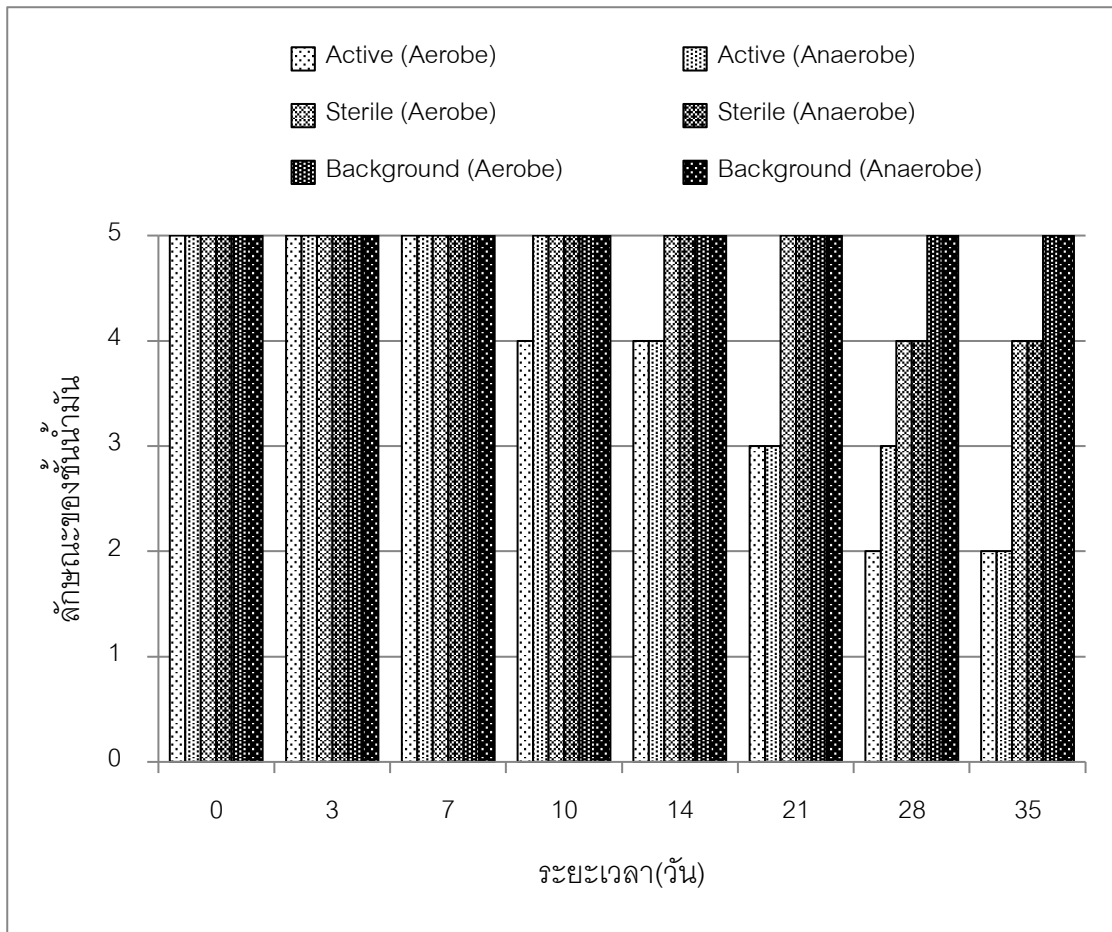
7.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลองภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และตั้งแต่วันที่ 14 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินในทั้ง 2 สภาวะลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร (ตารางที่ 4-24, ภาพที่ 4-28 และ ภาพที่ 4-29)

ตารางที่ 4-24 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	5+	5+	5+	5+	5+	5+
10	4+	5+	5+	5+	5+	5+
14	4+	5+	5+	4+	5+	5+
21	3+	5+	5+	3+	5+	5+
28	2+	4+	5+	3+	4+	5+
35	2+	4+	5+	2+	4+	5+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันเบนซินจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันเบนซิน



ภาพที่ 4-28 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 0



Day 3



Day 7

ภาพที่ 4-29 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 10



Day 14



Day 21

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 28

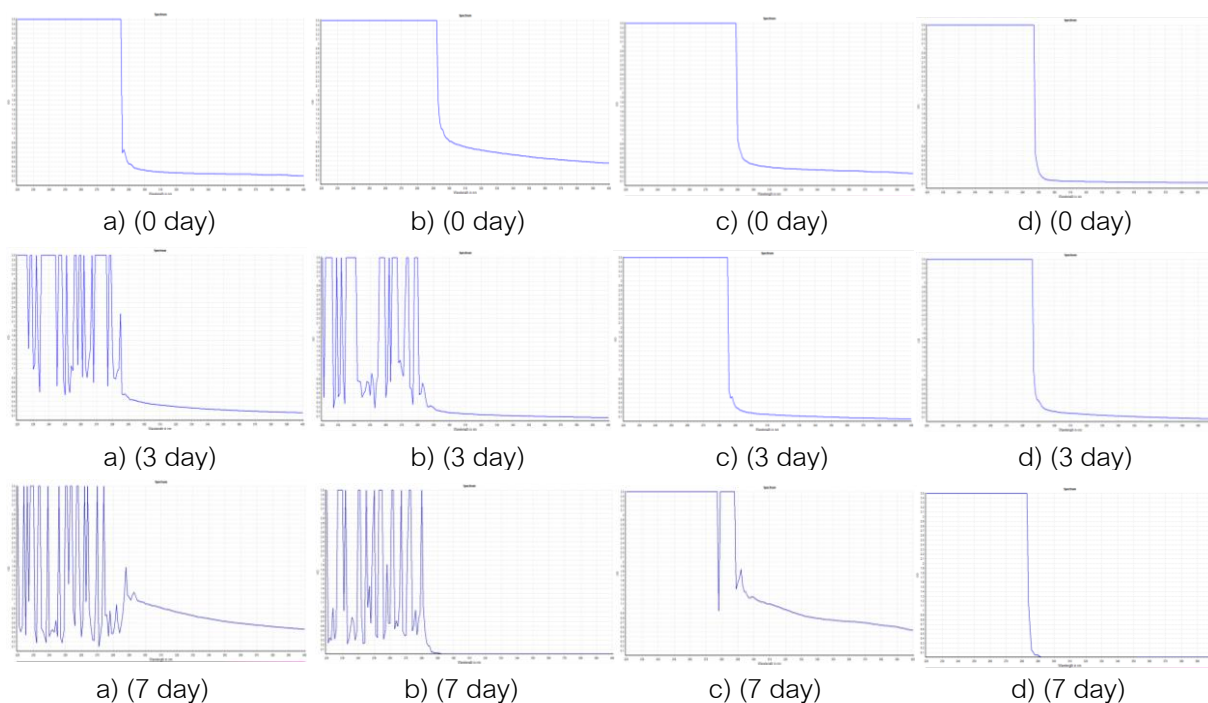


Day 35

ภาพที่ 4-29 (ต่อ)

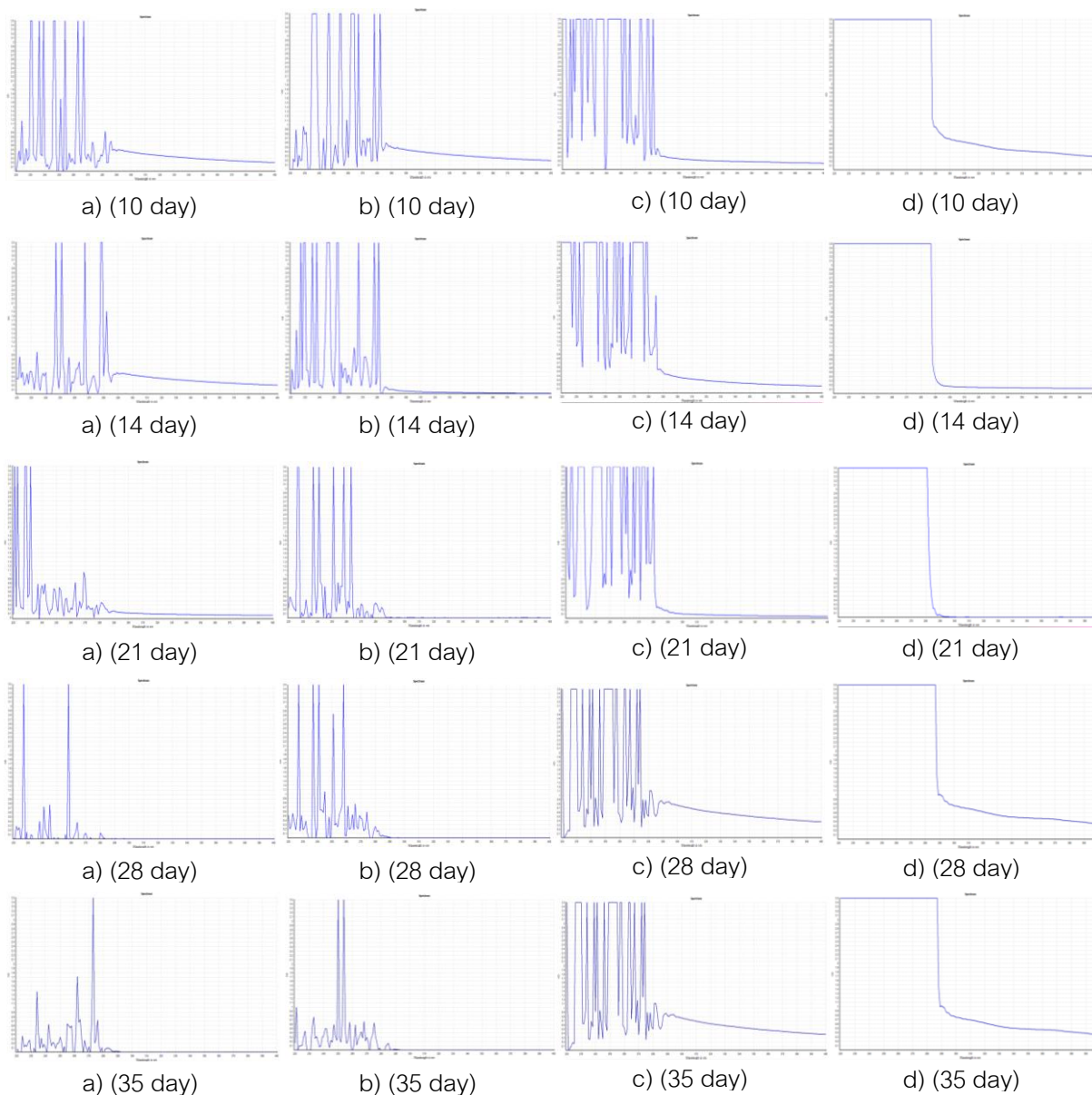
7.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนโดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันเบนซินมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันเบนซินภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลอง และพบว่าน้ำมันเบนซินถูกย่อยสลายจนในวันสุดท้ายของการทดลองยังคงสามารถตรวจพบพีคได้จำนวน 1 พีคที่ค่าความยาวคลื่น 275 นาโนเมตร ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนสามารถตรวจพบทั้งหมด 2 พีคที่ค่าความยาวคลื่น 250 และ 255 นาโนเมตร (ภาพที่ 4-30)



ภาพที่ 4-30 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

- หมายเหตุ a) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน
 b) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน
 c) หมายถึง ชุด Sterile
 d) หมายถึง ชุด Background



ภาพที่ 4-30 (ต่อ)

7.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนสามารถตรวจพบ
 ก๊าซที่เกิดขึ้นเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อยตลอดการทดลอง (ตารางที่ 4-25)

ตารางที่ 4-25 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	3±1	2±1	2±0	2±1	2±0	2±0
7	4±3	2±1	2±0	2±2	2±0	0±0
10	3±2	2±0	1±1	3±1	2±1	0±0
14	2±2	2±1	1±0	2±2	2±0	0±0
21	1±0	0±0	0±0	2±1	1±0	0±0
28	2±1	0±0	0±0	2±0	0±0	0±0
35	1±1	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0

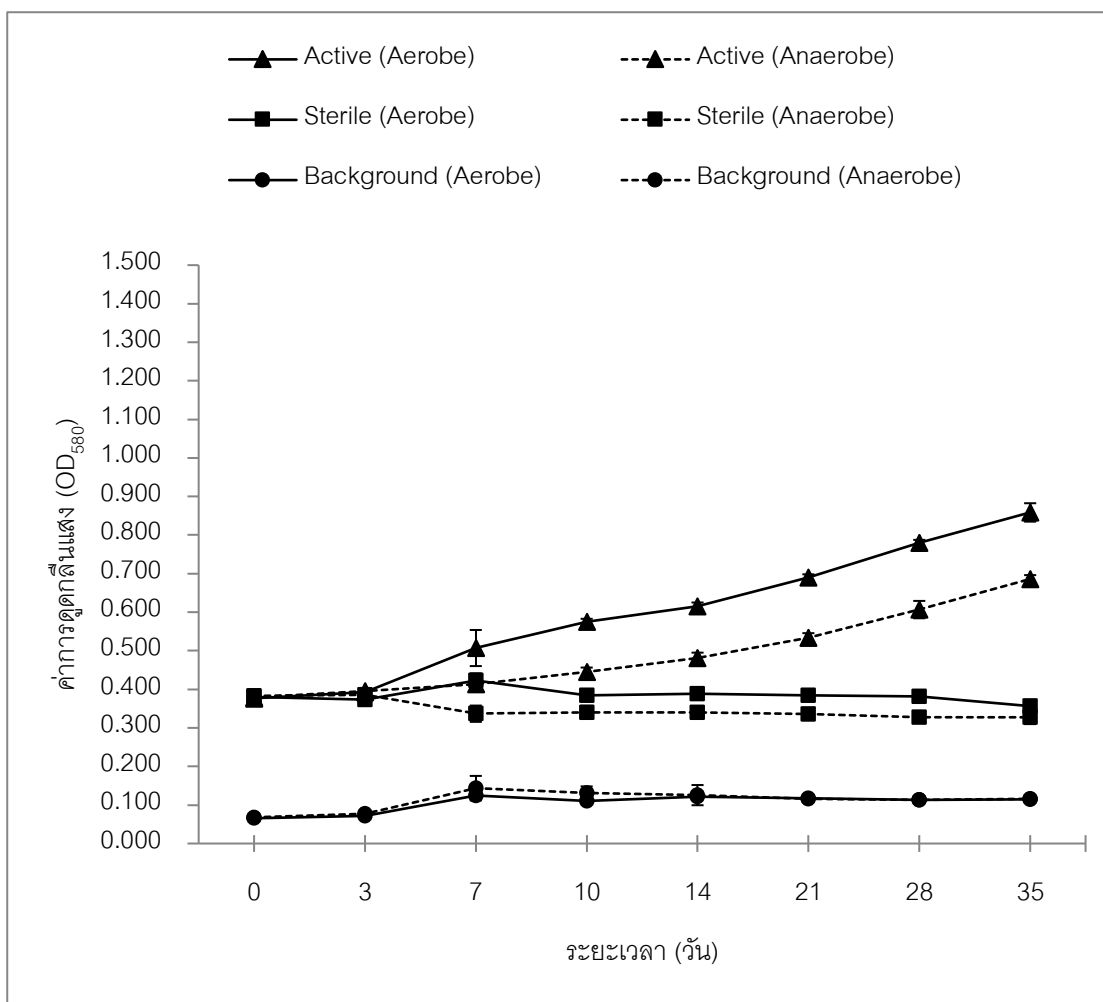
8. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

8.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรีย SD4 ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรีย SD4 มีการเจริญโดยใช้น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วเป็นแหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงวันที่ 0-7 ของการทดลอง และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 7 ไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ในทั้ง 2 สภาวะ แต่แบคทีเรีย SD4 สามารถเจริญภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-26 และภาพที่ 4-31)

ตารางที่ 4-26 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.337±0.006	0.380±0.006	0.066±0.004	0.379±0.005	0.383±0.014	0.068±0.001
3	0.393±0.004	0.374±0.004	0.072±0.002	0.395±0.005	0.386±0.014	0.078±0.004
7	0.507±0.047	0.423±0.019	0.125±0.011	0.413±0.009	0.337±0.021	0.144±0.032
10	0.575±0.008	0.385±0.011	0.111±0.004	0.445±0.011	0.341±0.016	0.131±0.018
14	0.615±0.010	0.397±0.004	0.122±0.003	0.481±0.014	0.341±0.009	0.126±0.026
21	0.690±0.009	0.384±0.011	0.117±0.003	0.534±0.011	0.335±0.016	0.117±0.006
28	0.779±0.008	0.381±0.014	0.114±0.002	0.607±0.023	0.328±0.010	0.113±0.006
35	0.859±0.024	0.356±0.005	0.115±0.001	0.686±0.010	0.327±0.018	0.117±0.002



ภาพที่ 4-31 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลอง ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

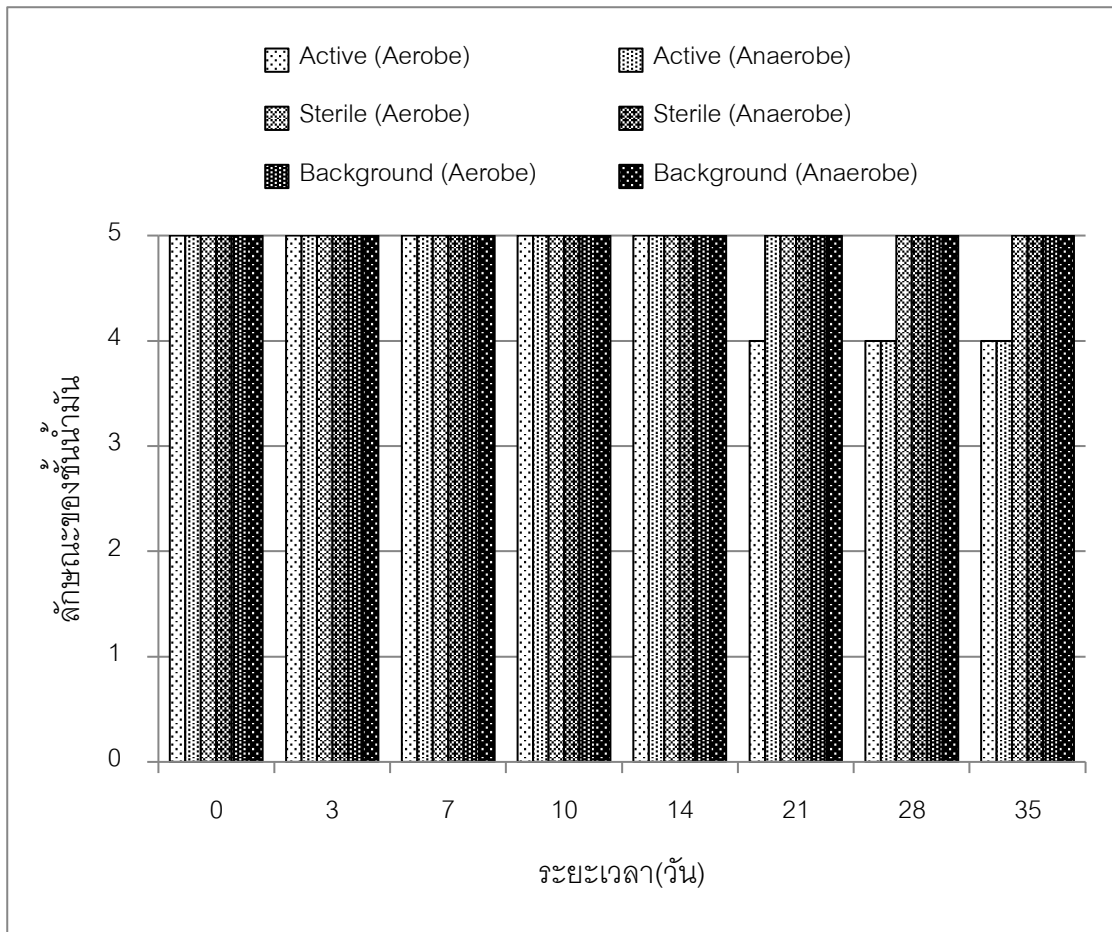
8.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วลดลงเรื่อย ๆ โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการลดลงตั้งแต่วันที่ 21 และภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบการลดลงตั้งแต่วันที่ 28 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยในวันสุดท้ายของการทดลองทั้ง 2 สภาวะ พบลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน (ตารางที่ 4-27, ภาพที่ 4-32 และภาพที่ 4-33)

ตารางที่ 4-27 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว					
	สถานะมีออกซิเจน			สถานะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	5+	5+	5+	5+	5+	5+
10	5+	5+	5+	5+	5+	5+
14	5+	5+	5+	5+	5+	5+
21	4+	5+	5+	5+	5+	5+
28	4+	5+	5+	4+	5+	5+
35	4+	5+	5+	4+	5+	5+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว จาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว



ภาพที่ 4-32 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

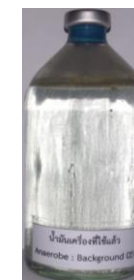
ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 0



Day 3



Day 7

ภาพที่ 4-33 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 10



Day 14



Day 21

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 28

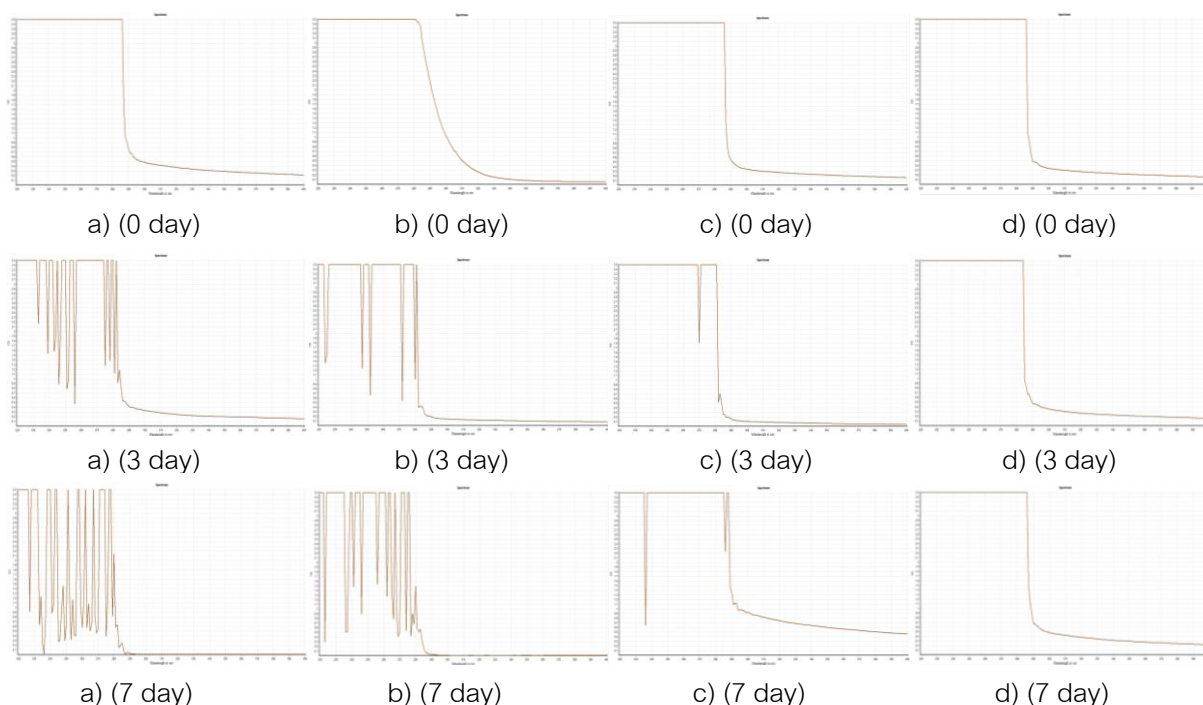


Day 35

ภาพที่ 4-33 (ต่อ)

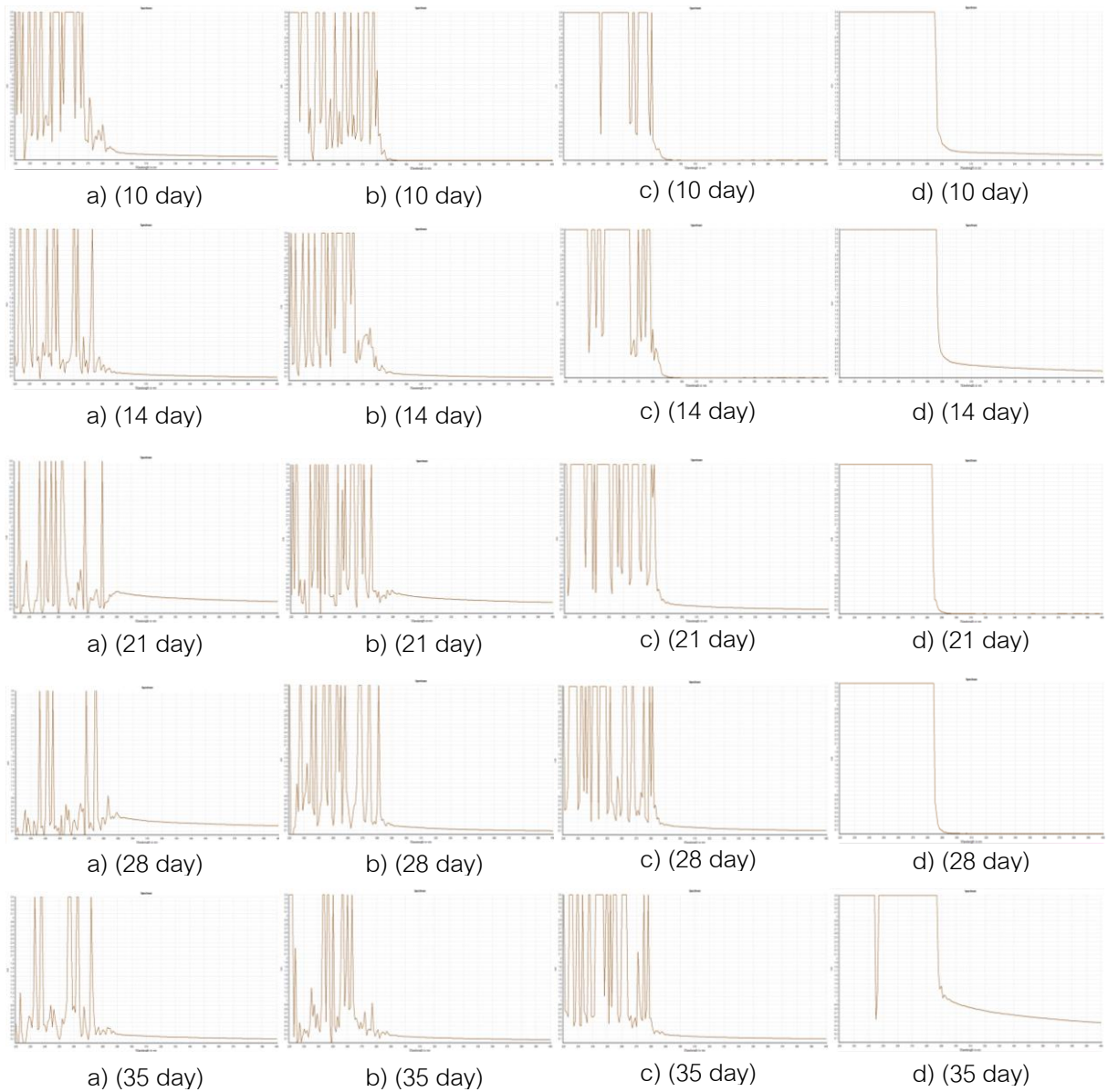
8.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนโดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตั้งแต่วันที่ 10 ของการทดลองไปเรื่อย ๆ จนวันสุดท้ายของการทดลองสามารถตรวจพบพีคจำนวน 5 พีคที่ค่าความยาวคลื่น 234, 238, 258, 263 และ 273 นาโนเมตรภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนสามารถตรวจพบพีคจำนวน 7 พีค ที่ค่าความยาวคลื่น 222, 224, 245, 247, 250, 256, 260 และ 262 นาโนเมตร (ภาพที่ 4-34)



ภาพที่ 4-34 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

หมายเหตุ a) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน, b) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน, c) หมายถึง ชุด Sterile และ d) หมายถึง ชุด Background



ภาพที่ 4-34 (ต่อ)

8.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนสามารถตรวจพบก๊าซที่เกิดขึ้นเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อยตลอดการทดลอง (ตารางที่ 4-28)

ตารางที่ 4-28 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	1±0	1±0	1±1	1±0	0±0	0±0
7	4±4	0±0	0±0	3±2	0±0	0±0
10	3±1	1±0	0±0	2±1	1±0	0±0
14	2±2	2±0	0±0	2±2	0±0	0±0
21	1±1	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0
28	1±0	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0
35	1±0	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0

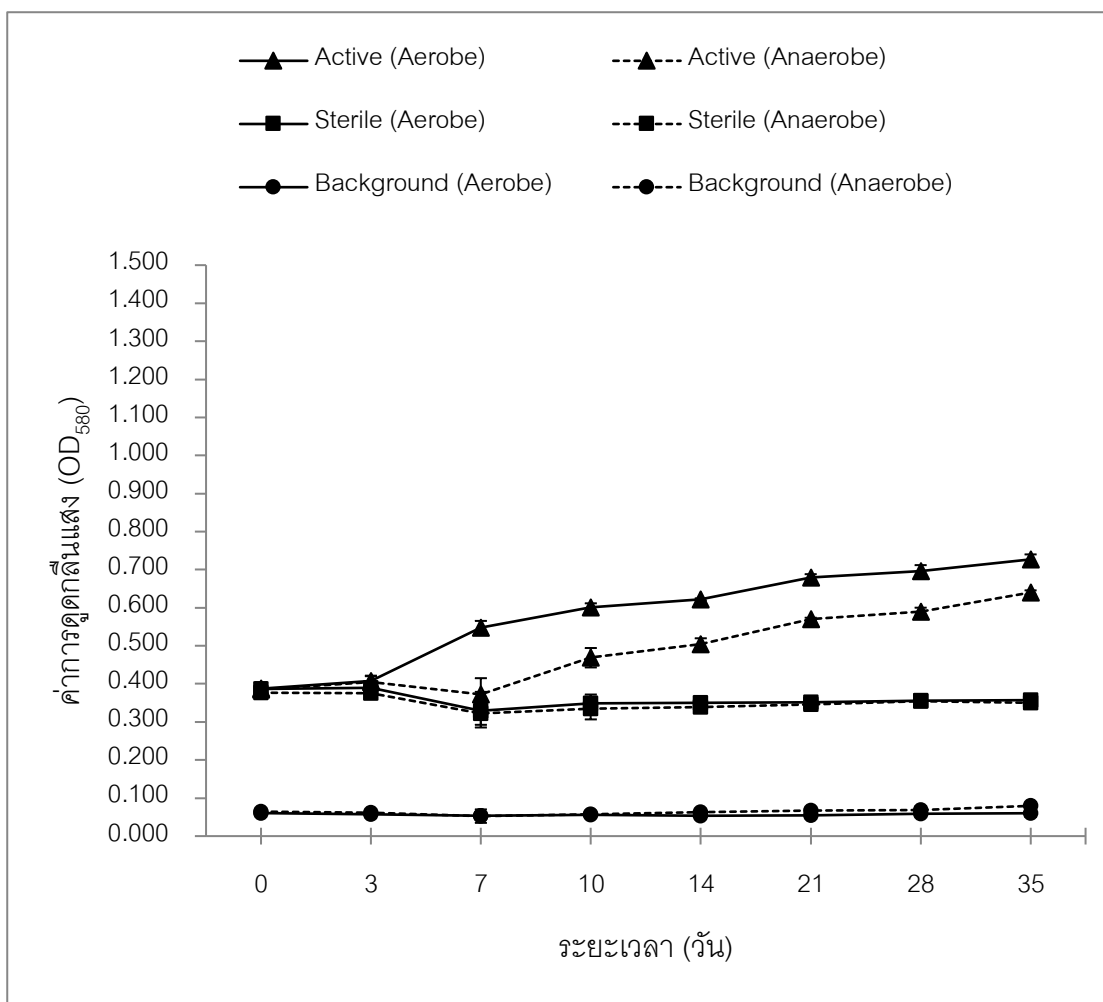
9. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในการย่อยสลายน้ำมันดิบภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

9.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันดิบภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรีย SD4 ในการย่อยสลายน้ำมันดิบทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรีย SD4 มีการเจริญโดยใช้น้ำมันดิบเป็นแหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลองจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบการเจริญของแบคทีเรีย SD4 ลดลงในวันที่ 3-7 ของการทดลอง และเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 10 ไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง และแบคทีเรีย SD4 สามารถเจริญภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-29 และภาพที่ 4-35)

ตารางที่ 4-29 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดิบ

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะที่มีออกซิเจน			สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.387±0.009	0.387±0.018	0.061±0.002	0.386±0.012	0.377±0.004	0.065±0.003
3	0.407±0.013	0.390±0.007	0.057±0.010	0.405±0.017	0.375±0.003	0.062±0.002
7	0.547±0.018	0.329±0.050	0.054±0.002	0.372±0.043	0.322±0.037	0.053±0.018
10	0.601±0.011	0.349±0.023	0.056±0.006	0.469±0.025	0.335±0.028	0.058±0.006
14	0.622±0.003	0.351±0.017	0.054±0.001	0.504±0.016	0.338±0.012	0.063±0.003
21	0.679±0.009	0.352±0.012	0.050±0.004	0.507±0.004	0.345±0.011	0.067±0.004
28	0.696±0.016	0.355±0.012	0.059±0.005	0.590±0.011	0.355±0.011	0.069±0.009
35	0.727±0.013	0.357±0.006	0.060±0.009	0.640±0.006	0.350±0.002	0.080±0.004



ภาพที่ 4-35 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลอง ในการย่อยสลายน้ำมันดิบ

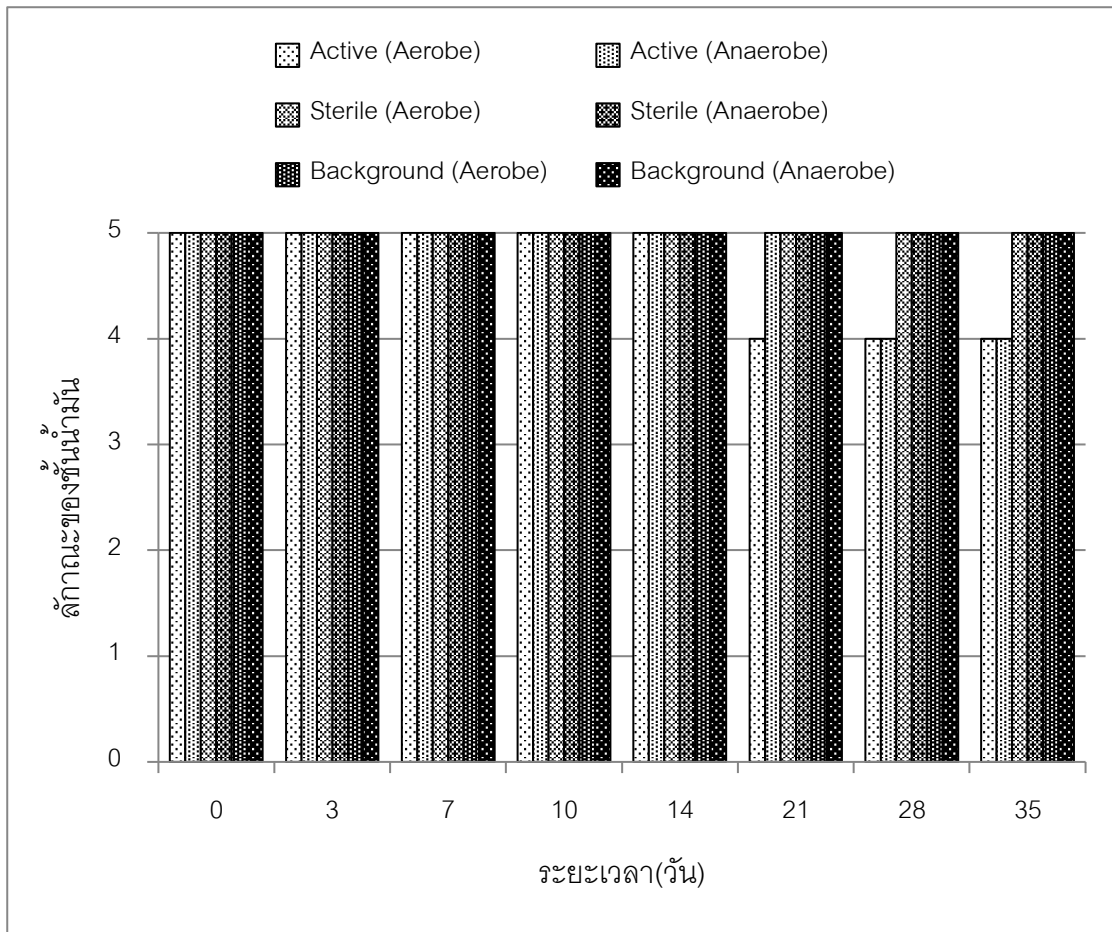
9.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าลักษณะของชั้นน้ำมันดิบลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลองภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และตั้งแต่วันที่ 28 ของการทดลองภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-30, ภาพที่ 4-36 และภาพที่ 4-37)

ตารางที่ 4-30 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4
ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	5+	5+	5+	5+	5+	5+
10	5+	5+	5+	5+	5+	5+
14	5+	5+	5+	5+	5+	5+
21	4+	5+	5+	5+	5+	5+
28	4+	5+	5+	4+	5+	5+
35	4+	5+	5+	4+	5+	5+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันดิบบาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันดิบ



ภาพที่ 4-36 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

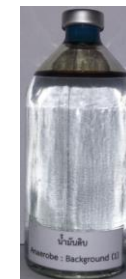
ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 0



Day 3



Day 7

ภาพที่ 4-37 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 10



Day 14



Day 21

สภาวะที่มีออกซิเจน

ชุด Active



ชุด Sterile



ชุด Background



สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active



ชุด Sterile



ชุด Background



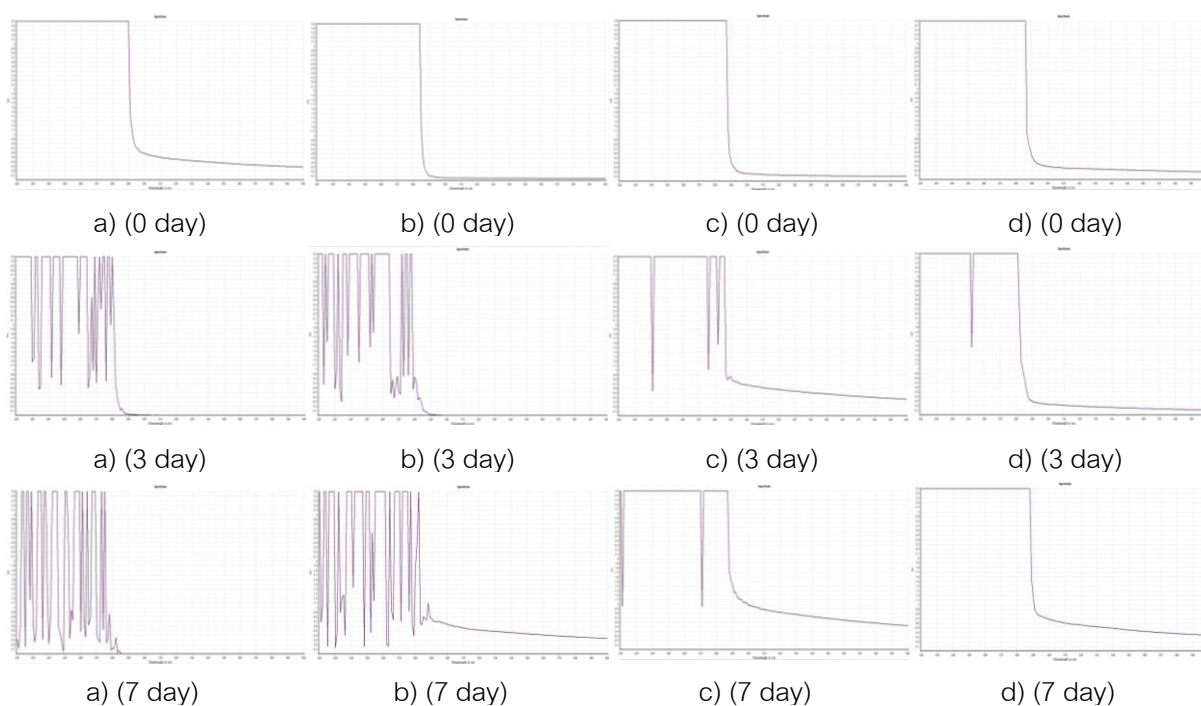
Day 28

Day 35

ภาพที่ 4-37 (ต่อ)

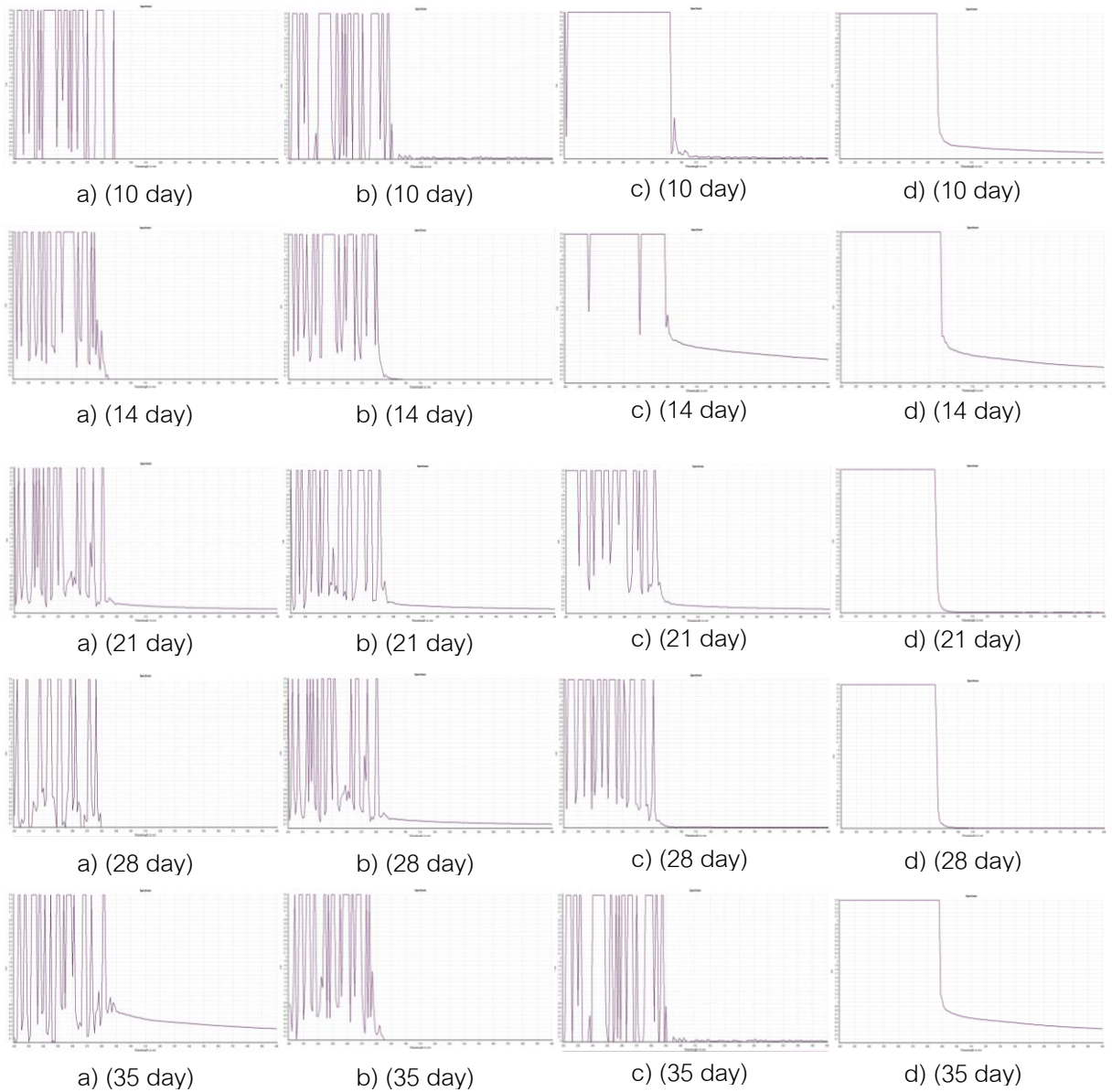
9.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบแล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนใกล้เคียงกัน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันดิบภายใต้ทั้ง 2 สภาวะ ตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และพบการย่อยสลายเล็กน้อยไปเรื่อย ๆ จนวันสุดท้ายของสุดท้าย โดยยังคงสามารถตรวจพบพีคจำนวนมากอยู่ในทั้ง 2 สภาวะ (ภาพที่ 4-38)



ภาพที่ 4-38 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

- หมายเหตุ a) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน
 b) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน
 c) หมายถึง ชุด Sterile
 d) หมายถึง ชุด Background



ภาพที่ 4-38 (ต่อ)

9.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนมีปริมาณก๊าซ
 ทั้งหมดเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อยตลอดการทดลอง (ตารางที่ 4-31)

ตารางที่ 4-31 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4
ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	1±0	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0
7	4±2	0±0	0±0	2±2	0±0	0±0
10	3±1	1±0	0±0	2±1	1±1	0±0
14	2±1	0±0	0±0	2±0	1±0	0±0
21	1±1	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0
28	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
35	1±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

10. การเปรียบเทียบความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

10.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

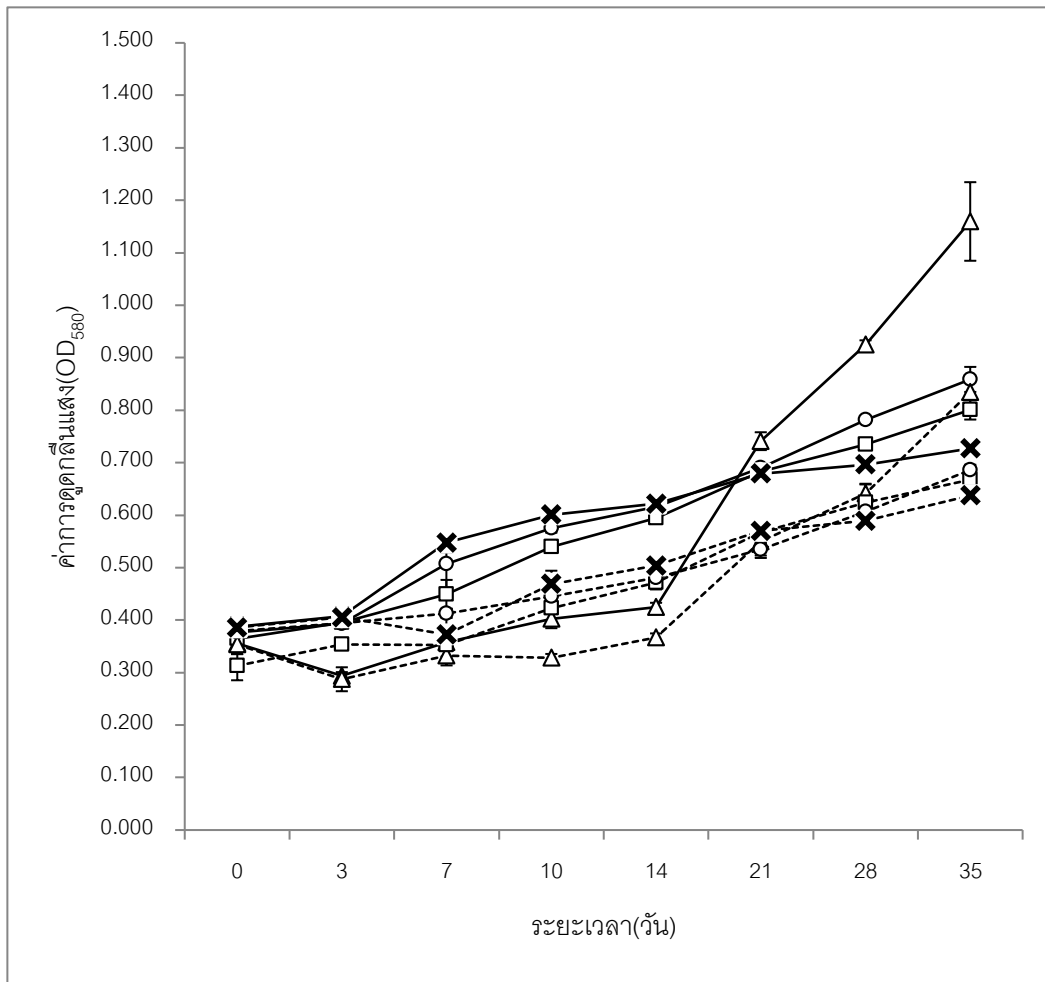
จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 สามารถเจริญเพิ่มจำนวนโดยใช้ไขมันดีเซลเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว น้ำมันเบนซินและน้ำมันดิบ ตามลำดับในทั้ง 2 สภาวะ โดยสามารถเจริญในแหล่งของคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันทั้ง 4 ชนิดได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-32, ตารางที่ 4-33 และภาพที่ 4-39)

ตารางที่ 4-32 ปริมาณของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)							
	สภาวะมีออกซิเจน				สภาวะไม่มีออกซิเจน			
	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
0	0.356 ± 0.021	0.364 ± 0.011	0.337 ± 0.006	0.387 ± 0.009	0.353 ± 0.018	0.313 ± 0.028	0.379 ± 0.005	0.386 ± 0.012
3	0.294 ± 0.007	0.395 ± 0.008	0.393 ± 0.004	0.407 ± 0.013	0.287 ± 0.023	0.353 ± 0.006	0.395 ± 0.005	0.405 ± 0.017
7	0.358 ± 0.009	0.449 ± 0.028	0.507 ± 0.047	0.547 ± 0.018	0.332 ± 0.018	0.352 ± 0.008	0.413 ± 0.009	0.372 ± 0.043
10	0.402 ± 0.017	0.540 ± 0.003	0.575 ± 0.008	0.601 ± 0.011	0.328 ± 0.008	0.423 ± 0.006	0.445 ± 0.011	0.469 ± 0.025
14	0.425 ± 0.008	0.594 ± 0.009	0.615 ± 0.010	0.622 ± 0.003	0.366 ± 0.008	0.471 ± 0.013	0.481 ± 0.014	0.504 ± 0.016
21	0.741 ± 0.017	0.683 ± 0.008	0.690 ± 0.009	0.679 ± 0.009	0.550 ± 0.031	0.567 ± 0.018	0.534 ± 0.011	0.507 ± 0.004
28	0.925 ± 0.008	0.735 ± 0.009	0.779 ± 0.008	0.696 ± 0.016	0.641 ± 0.018	0.624 ± 0.036	0.607 ± 0.023	0.590 ± 0.011

ตารางที่ 4-32 (ต่อ)

		ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)						
ระยะเวลา (วัน)	สภาวะมีออกซิเจน				สภาวะไม่มีออกซิเจน			
	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
35	1.160	0.801	0.859	0.727	0.834	0.668	0.686	0.640
	± 0.075	± 0.018	± 0.024	± 0.013	± 0.025	± 0.003	± 0.010	± 0.006



ภาพที่ 4-39 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มี

ออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน: (▲) น้ำมันดีเซล, (□) น้ำมันเบนซิน, (○) น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว,

(×) น้ำมันดิบ, สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน: (▲) น้ำมันดีเซล, (□) น้ำมันเบนซิน,

(○) น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและ (×) น้ำมันดิบ

ตารางที่ 4-33 อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด

ชนิดของน้ำมัน	สภาวะมีออกซิเจน		สภาวะไม่มีออกซิเจน	
	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)
น้ำมันดีเซล	0.022962	14	0.013743	14
น้ำมันเบนซิน	0.012467	3	0.010133	7
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว	0.013771	3	0.008771	7
น้ำมันดิบ	0.009705	14	0.00719	28

10.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลพบการลดลงของชั้นน้ำมันรวดเร็วมากที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและน้ำมันดิบ โดยสภาวะที่มีออกซิเจนในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างเห็นได้ชัดเหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลอง ส่วนการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างเห็นได้ชัดเหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารตั้งแต่วันที่ 28 ของการทดลอง ส่วนน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและน้ำมันดิบ ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน ตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลอง แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนลักษณะของชั้นน้ำมันในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลและน้ำมันเบนซินมีการลดลงอย่างเห็นได้ชัดเหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารในวันสุดท้ายของการทดลองพร้อมกัน และการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและน้ำมันดิบพบลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนในวันที่ 28 ของการทดลอง และจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ยังพบว่าการลดลงของชั้นน้ำมันภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเกิดขึ้นได้เร็วกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนอีกด้วย (ตารางที่ 4-34, ภาพที่ 4-40 และภาพที่ 4-41)

ตารางที่ 4-34 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายของแบคทีเรีย
สายพันธุ์ SD4 ในชุด Active ทั้งสถานะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน							
	สถานะมีออกซิเจน				สถานะไม่มีออกซิเจน			
	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	4+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
10	4+	4+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
14	3+	4+	5+	5+	4+	4+	5+	5+
21	2+	3+	4+	4+	3+	3+	5+	5+
28	2+	2+	4+	4+	3+	3+	4+	4+
35	2+	2+	4+	4+	2+	2+	4+	4+

หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

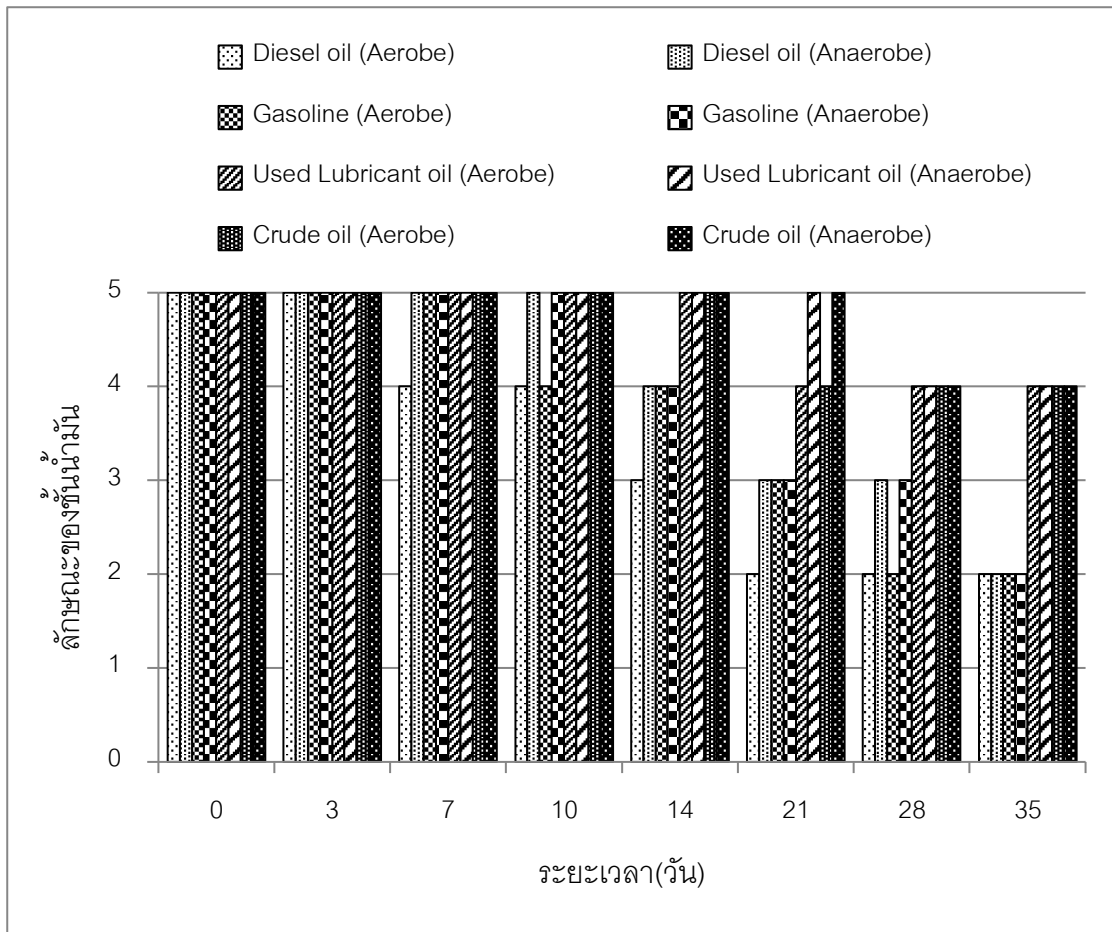
4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม

0 หมายถึง ไม่พบน้ำมัน



ภาพที่ 4-40 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน



Day 0

Day 3

Day 7

ภาพที่ 4-41 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิดในชุด Active ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

น้ำมันดีเซล

น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

น้ำมันดิบ

น้ำมันดีเซล

น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

น้ำมันดิบ



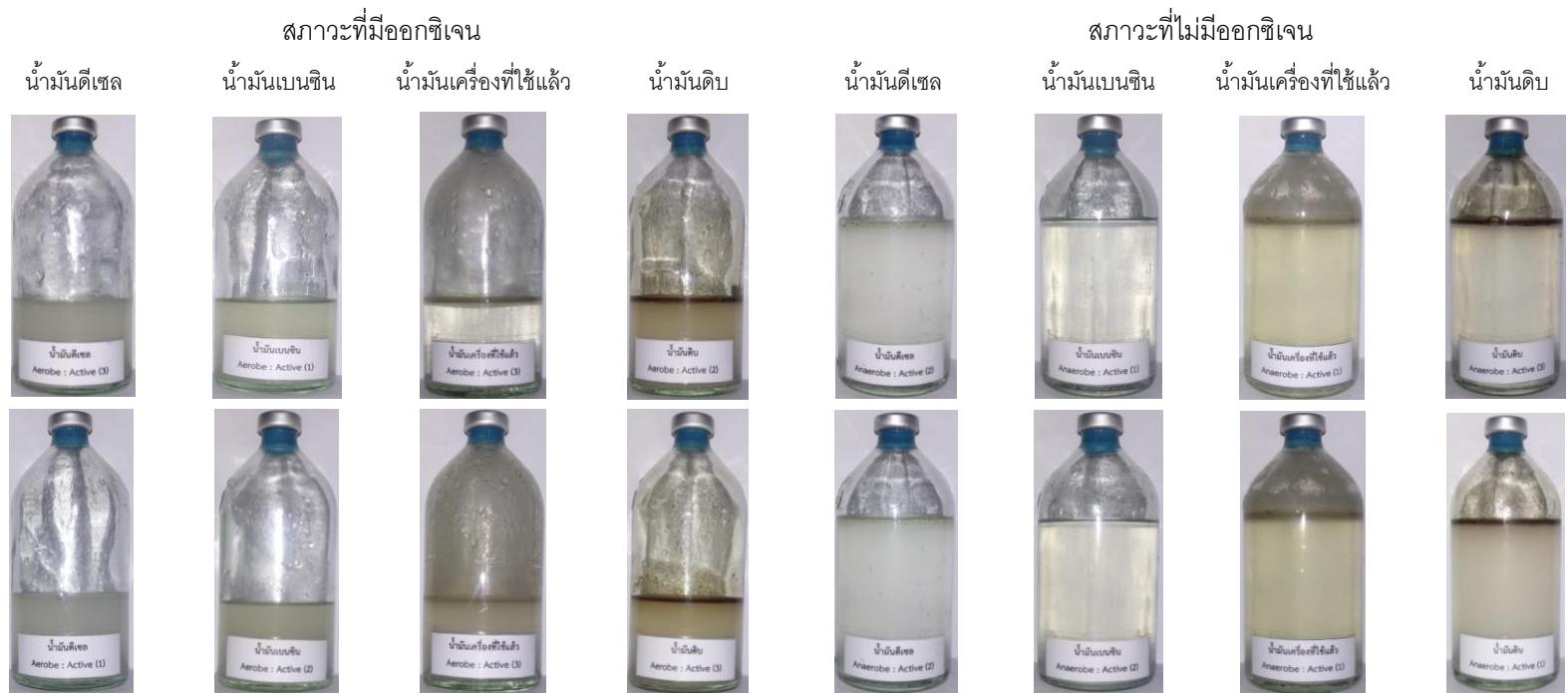
Day 10



Day 14



Day 21



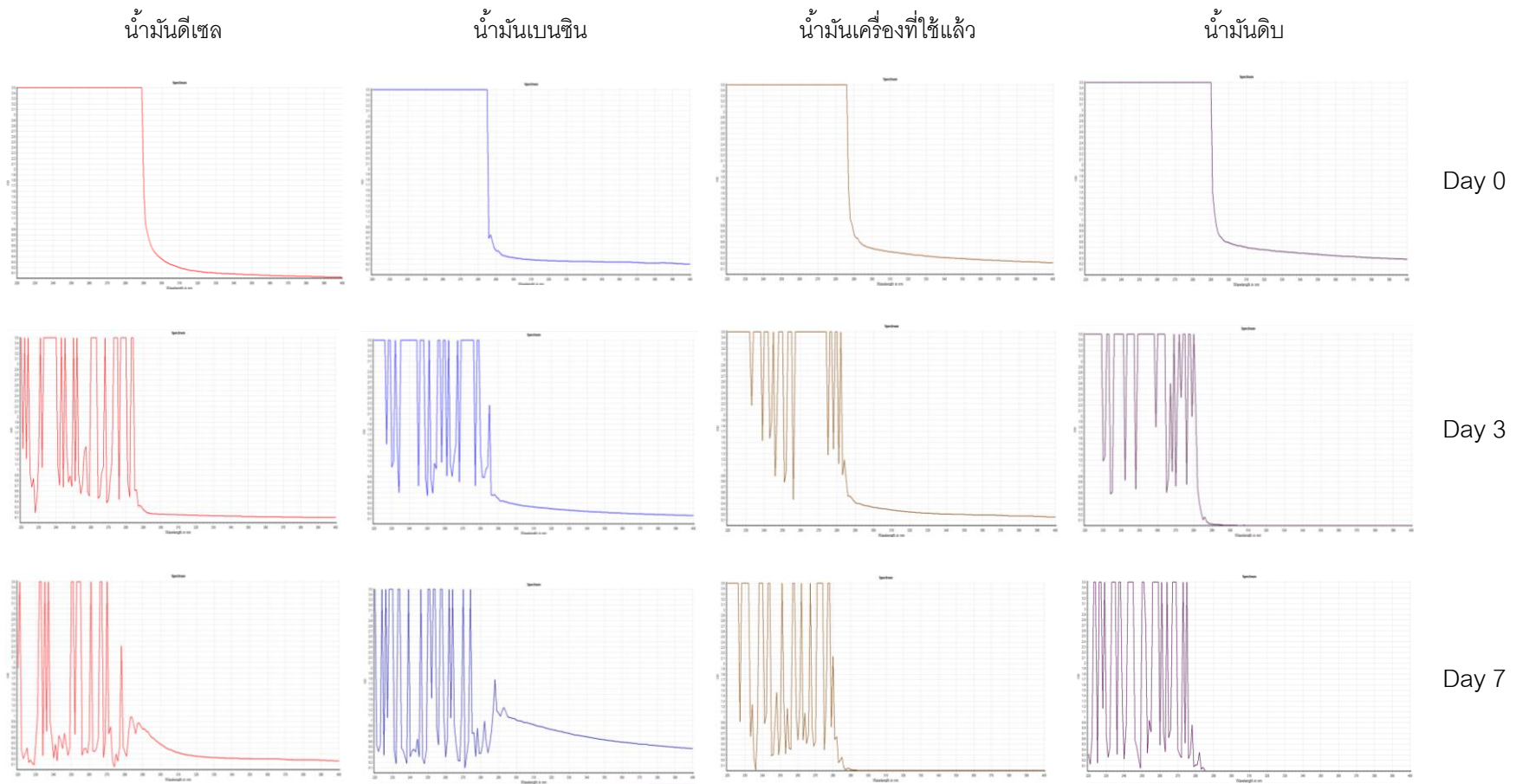
Day 28

Day 35

ภาพที่ 4-41 (ต่อ)

10.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 สามารถย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดได้ในทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน และสามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบตามลำดับ โดยในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลสามารถเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยในวันสุดท้ายของการทดลองเกิดการย่อยสลายจนไม่สามารถตรวจพบพิกัดได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และตรวจพบเพียง 1 พิกัดที่ค่าความยาวคลื่น 245 นาโนเมตร ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ส่วนการย่อยสลายน้ำมันเบนซินเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลองเช่นกัน แต่เกิดการย่อยสลายที่ช้ากว่า ในวันสุดท้ายของการทดลองจึงยังคงสามารถตรวจพบพิกัดได้จำนวน 1 พิกัดที่ค่าความยาวคลื่น 275 นาโนเมตร ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนสามารถตรวจพบทั้งหมด 2 พิกัดที่ค่าความยาวคลื่น 250 และ 255 นาโนเมตร ในส่วนของการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 10 ของการทดลองไปเรื่อย ๆ จนวันสุดท้ายของการทดลองสามารถตรวจพบพิกัดจำนวน 5 พิกัดที่ค่าความยาวคลื่น 234, 238, 258, 263 และ 273 นาโนเมตรภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนสามารถตรวจพบพิกัดจำนวน 7 พิกัด ที่ค่าความยาวคลื่น 222, 224, 245, 247, 250, 256, 260 และ 262 นาโนเมตร และส่วนการย่อยสลายน้ำมันดิบเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองก็ยังสามารถตรวจพบพิกัดจำนวนมากอยู่ในทั้ง 2 สภาวะ (ภาพที่ 4-42 และภาพที่ 4-43)



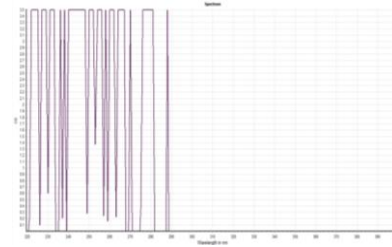
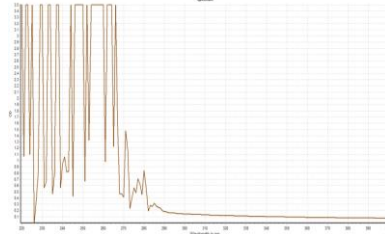
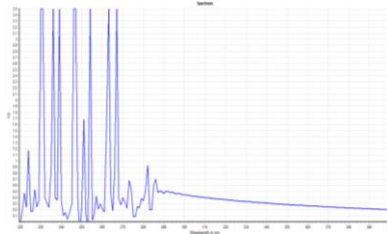
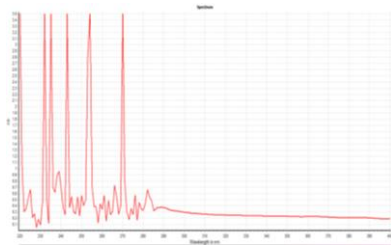
ภาพที่ 4-42 กราฟการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

น้ำมันดีเซล

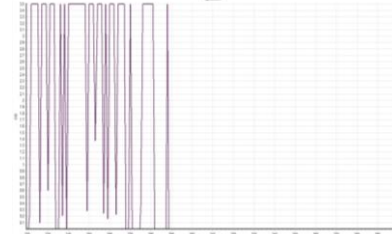
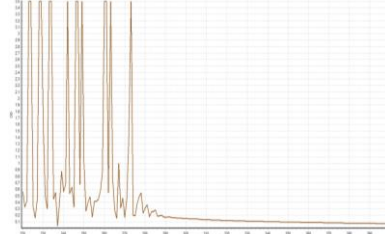
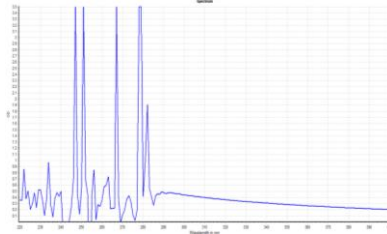
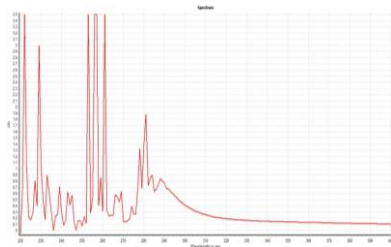
น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

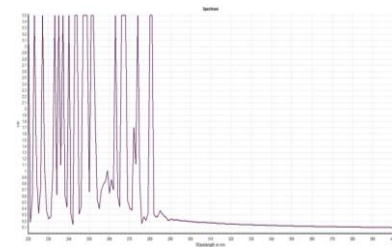
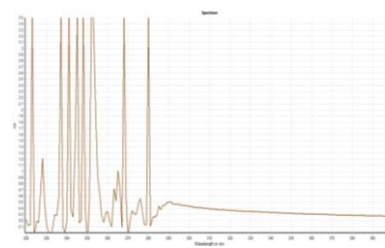
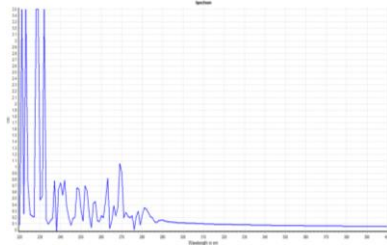
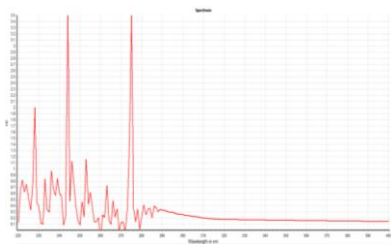
น้ำมันดิบ



Day
10



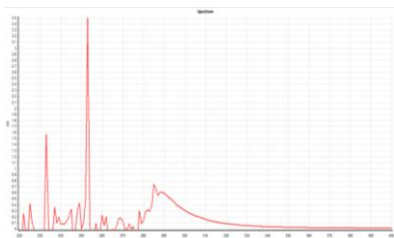
Day
14



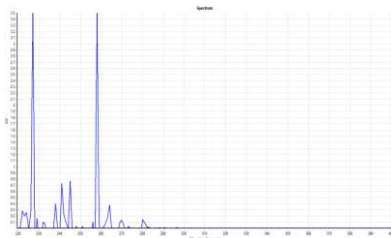
Day
21

ภาพที่ 4-42 (ต่อ)

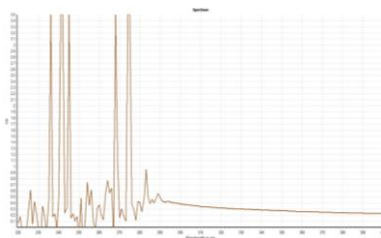
น้ำมันดีเซล



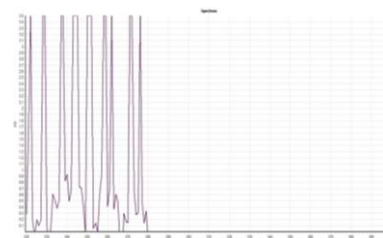
น้ำมันเบนซิน



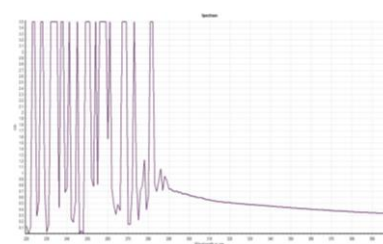
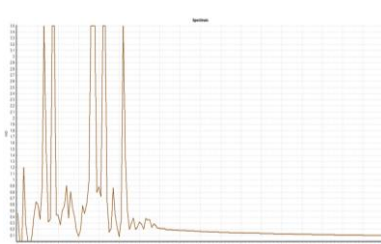
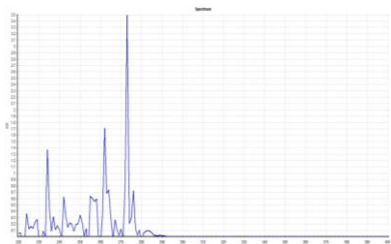
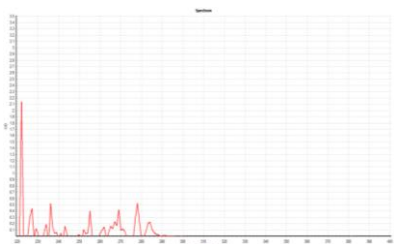
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว



น้ำมันดิบ

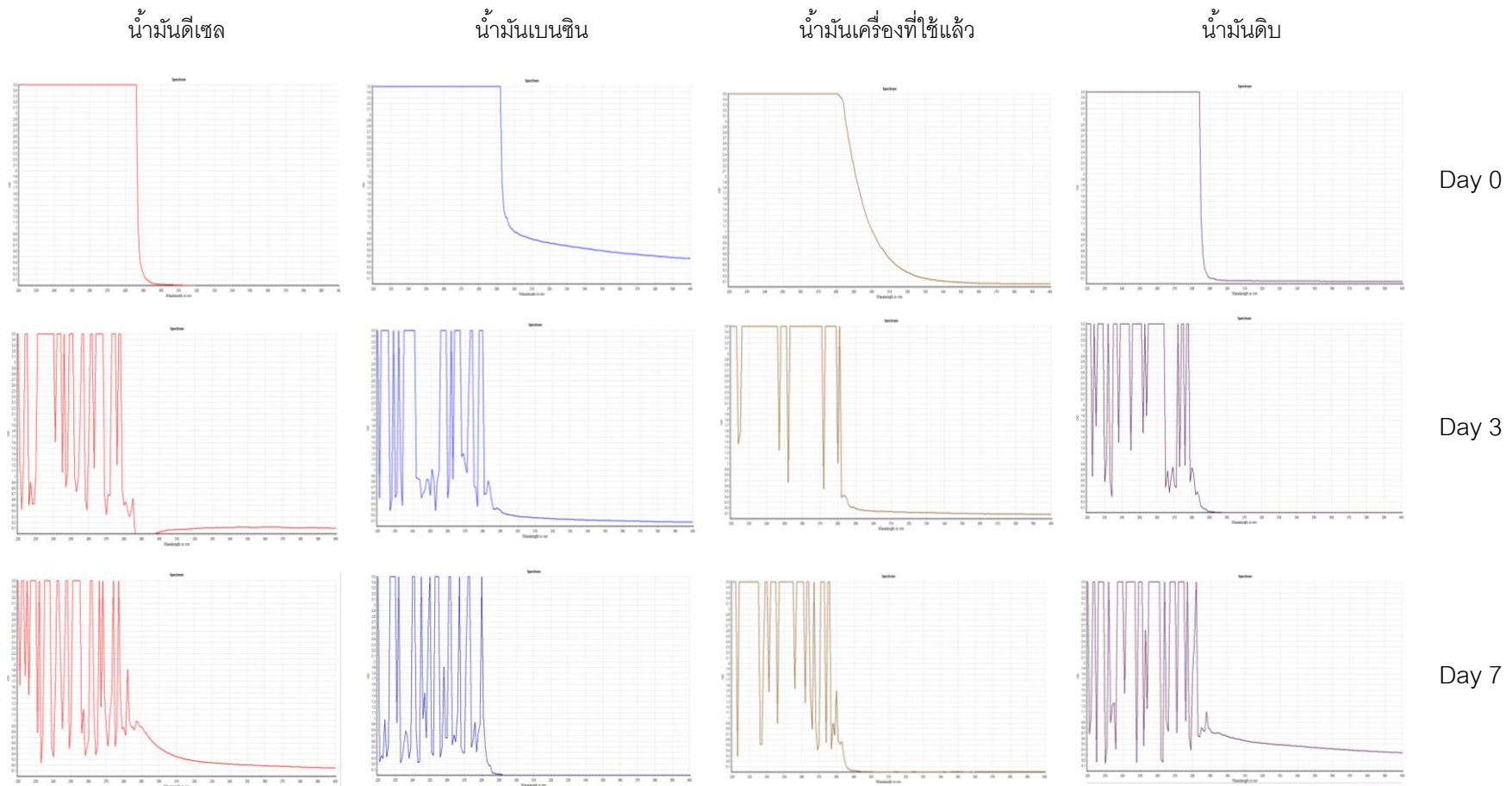


Day
28



Day
35

ภาพที่ 4-42 (ต่อ)



ภาพที่ 4-43 กราฟการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ชูด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

น้ำมันดีเซล

น้ำมันเบนซิน

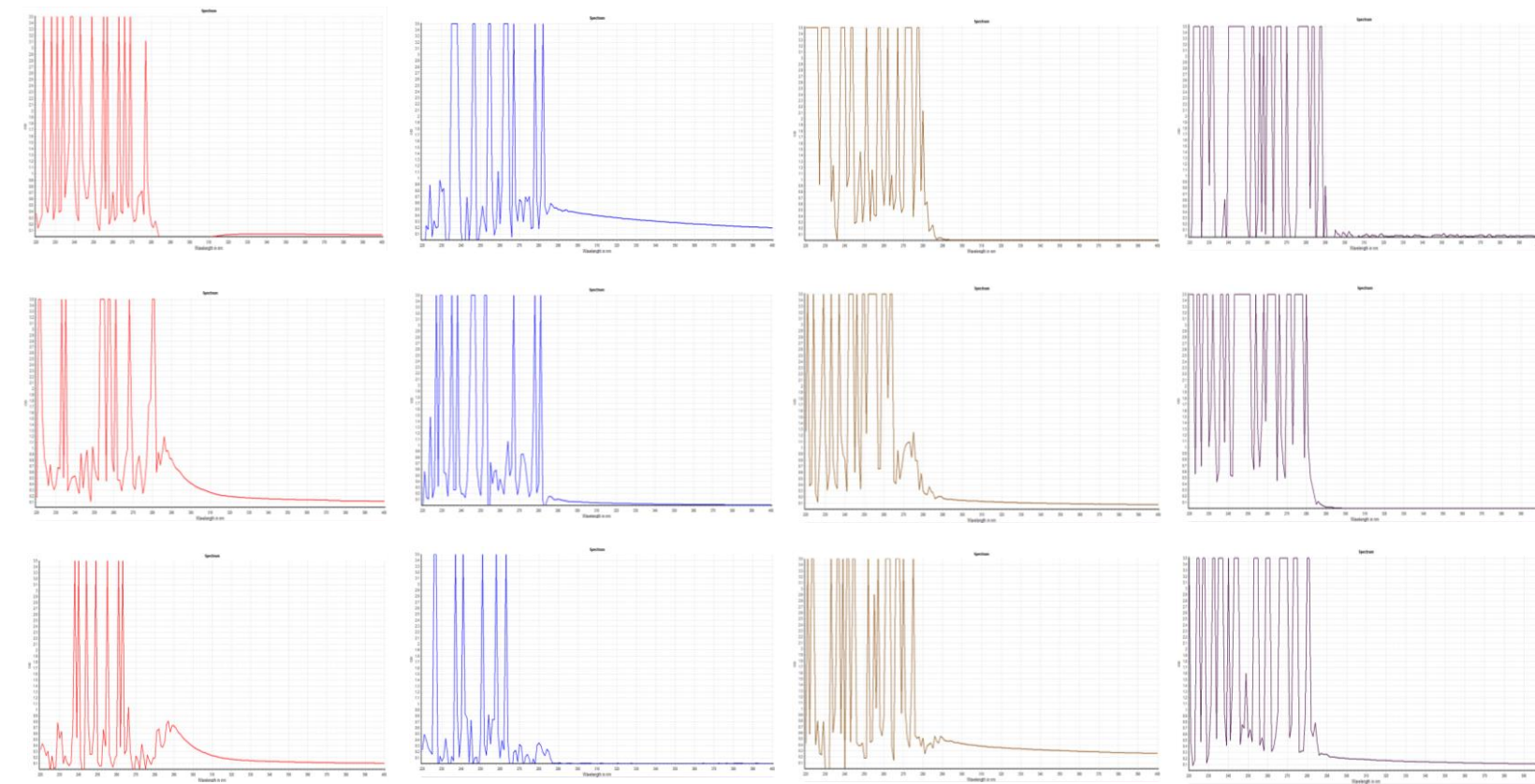
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

น้ำมันดิบ

Day
10

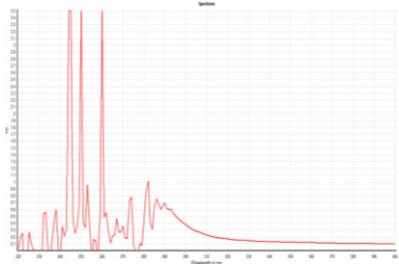
Day
14

Day
21

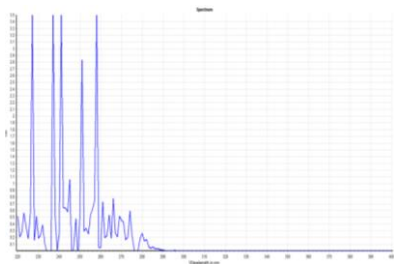


ภาพที่ 4-43 (ต่อ)

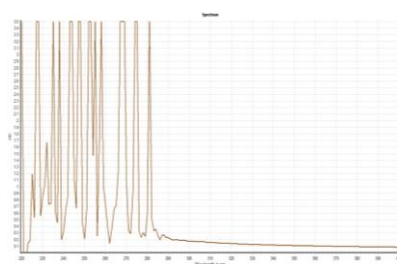
น้ำมันดีเซล



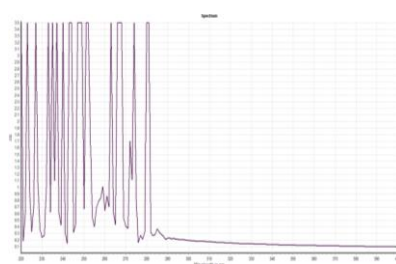
น้ำมันเบนซิน



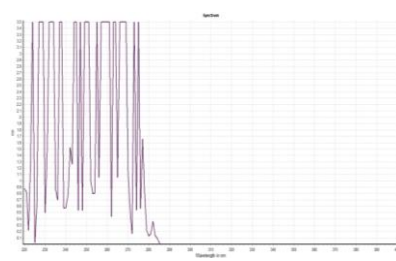
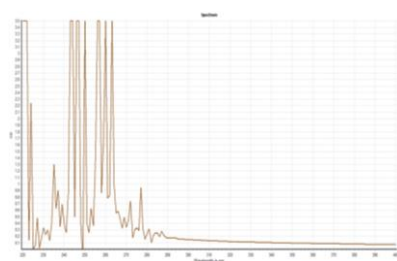
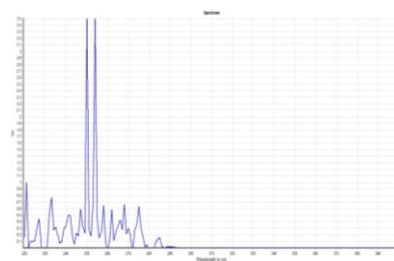
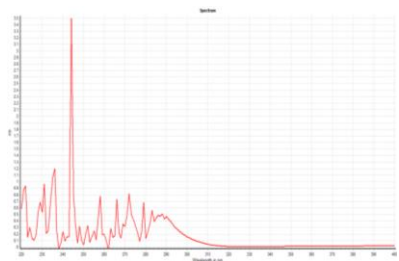
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว



น้ำมันดิบ



Day
28



Day
35

ภาพที่ 4-43 (ต่อ)

10.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 พบว่าภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเกิดก๊าซทั้งหมดในปริมาณที่มากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน แต่พบการเพิ่มขึ้นและลดลงของก๊าซทั้งหมดใกล้เคียงกันในทั้ง 4 น้ำมัน (ตารางที่ 4-35)

ตารางที่ 4-35 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในชุด Active

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)							
	สภาวะมีออกซิเจน				สภาวะไม่มีออกซิเจน			
	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	0±0	3±1	1±0	1±0	0±0	2±1	1±0	1±1
7	3±2	4±3	4±4	4±2	2±1	2±2	3±2	2±2
10	2±2	3±2	3±1	3±1	2±0	3±1	2±1	2±1
14	2±1	2±2	2±2	2±1	2±1	2±2	2±2	2±0
21	3±2	1±0	1±1	1±1	3±1	2±1	1±0	1±0
28	1±1	2±1	1±0	0±0	0±0	2±0	1±0	0±0
35	1±1	1±1	1±0	1±0	1±1	1±0	1±0	0±0

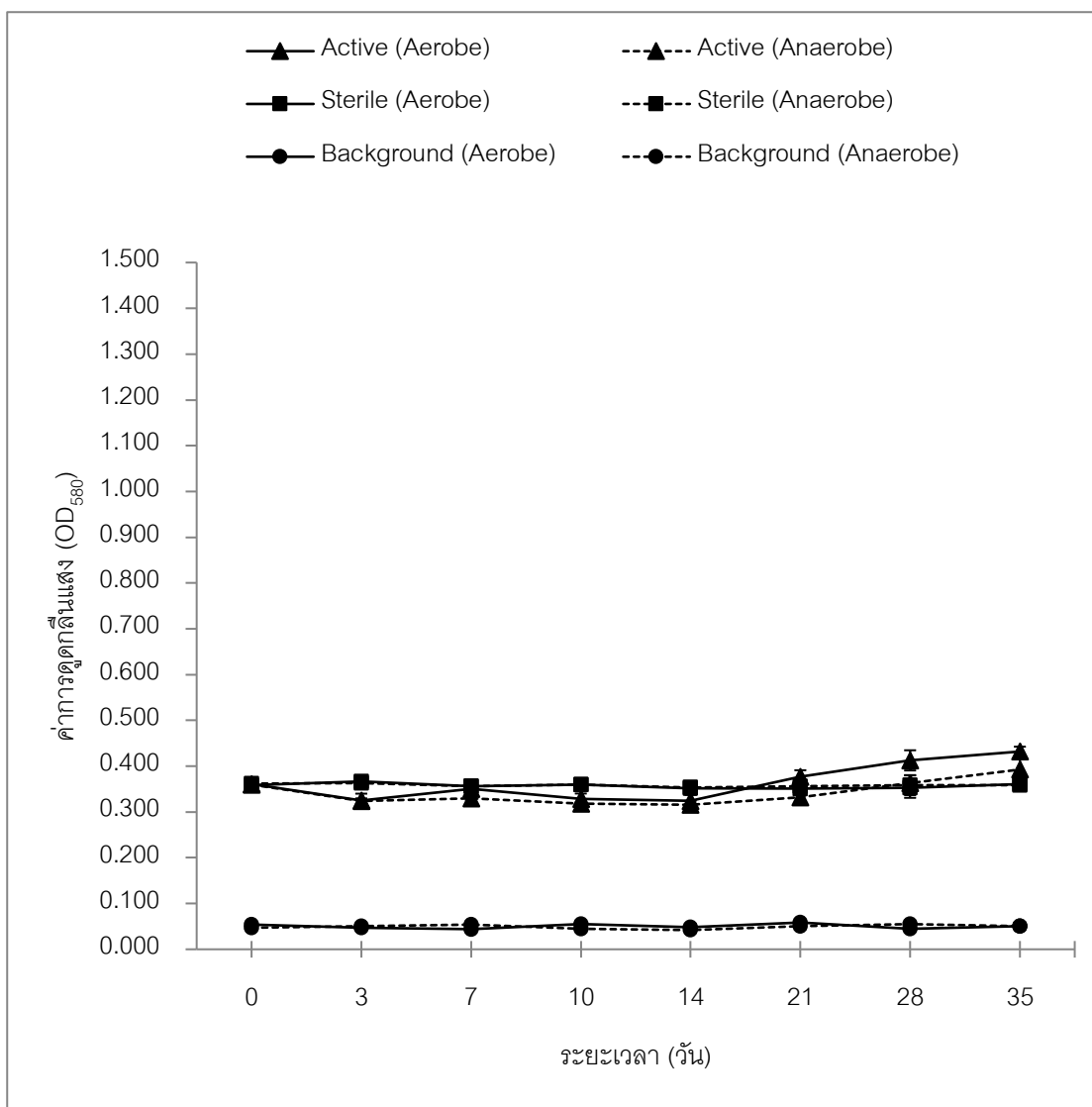
11. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

11.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันดีเซล ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรีย SJ1#1 ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรีย SJ1#1 มีการเจริญโดยใช้น้ำมันดีเซลเป็นแหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อยในวันที่ 0-14 ของการทดลอง และเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในวันที่ 14 ของการทดลอง ไปจนถึงถึงวันสุดท้ายของการทดลองในทั้ง 2 สภาวะ แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแบคทีเรีย SJ1#1 สามารถเจริญได้ดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-36 และภาพที่ 4-44)

ตารางที่ 4-36 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD.$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.360±0.015	0.359±0.006	0.054±0.002	0.360±0.014	0.362±0.002	0.047±0.003
3	0.325±0.015	0.367±0.011	0.048±0.006	0.324±0.018	0.363±0.004	0.051±0.001
7	0.350±0.020	0.356±0.009	0.044±0.004	0.330±0.019	0.356±0.005	0.054±0.001
10	0.329±0.012	0.360±0.018	0.056±0.001	0.319±0.006	0.359±0.008	0.045±0.001
14	0.324±0.013	0.352±0.008	0.049±0.006	0.316±0.006	0.353±0.004	0.042±0.001
21	0.377±0.014	0.351±0.012	0.059±0.001	0.332±0.008	0.356±0.004	0.051±0.006
28	0.413±0.022	0.352±0.013	0.045±0.003	0.363±0.014	0.358±0.005	0.055±0.004
35	0.432±0.011	0.361±0.008	0.051±0.001	0.393±0.009	0.358±0.010	0.051±0.009



ภาพที่ 4-44 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล

11.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 14 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบ

ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร (ตารางที่ 4-37, ภาพที่ 4-45 และภาพที่ 4-46)

ตารางที่ 4-37 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	5+	5+	5+	5+	5+	5+
10	5+	5+	5+	5+	5+	5+
14	4+	5+	5+	5+	5+	5+
21	4+	5+	5+	4+	5+	5+
28	3+	4+	5+	4+	4+	5+
35	2+	4+	5+	3+	4+	5+

หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

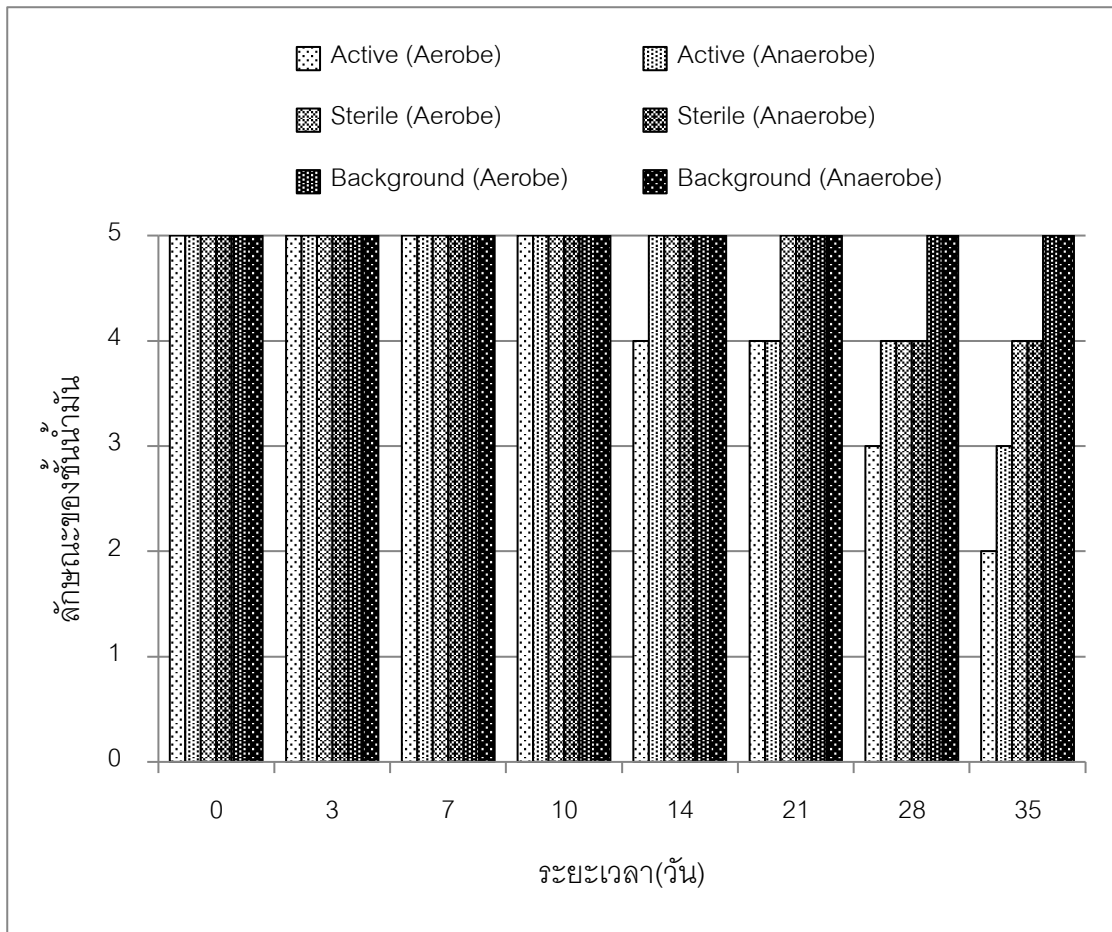
4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันดีเซลจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม

0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันดีเซล



ภาพที่ 4-45 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 0



Day 3



Day 7

ภาพที่ 4-46 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 10



Day 14



Day 21

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 28

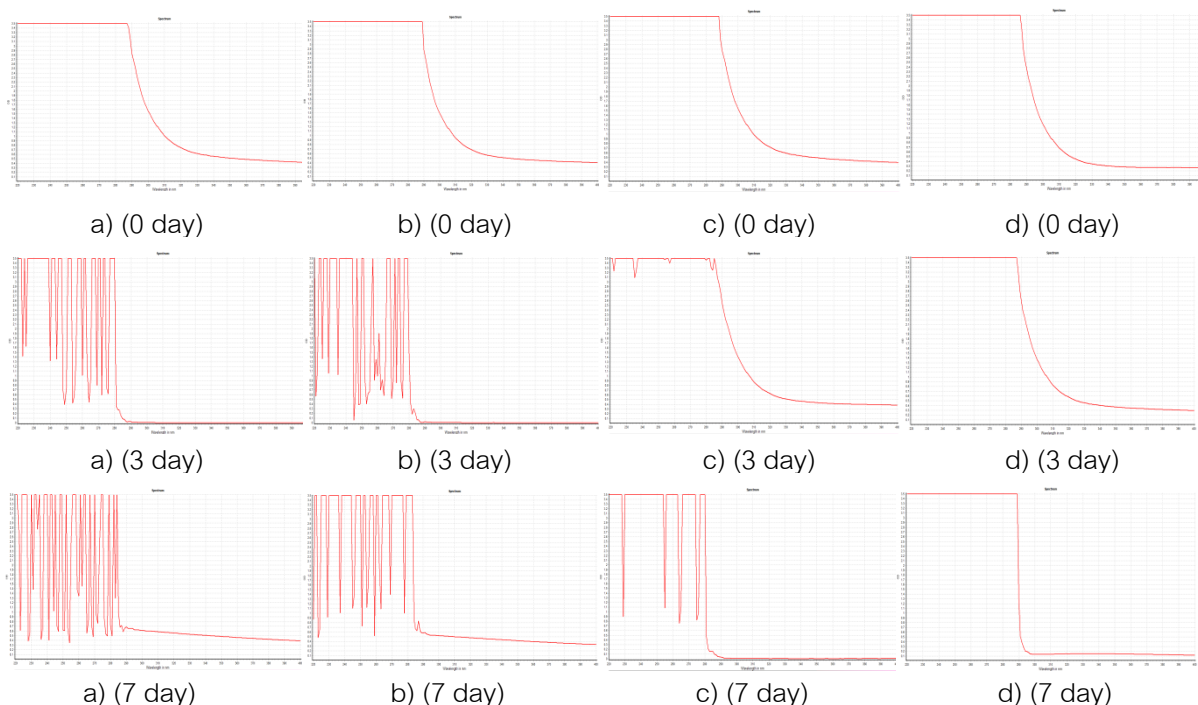


Day 35

ภาพที่ 4-46 (ต่อ)

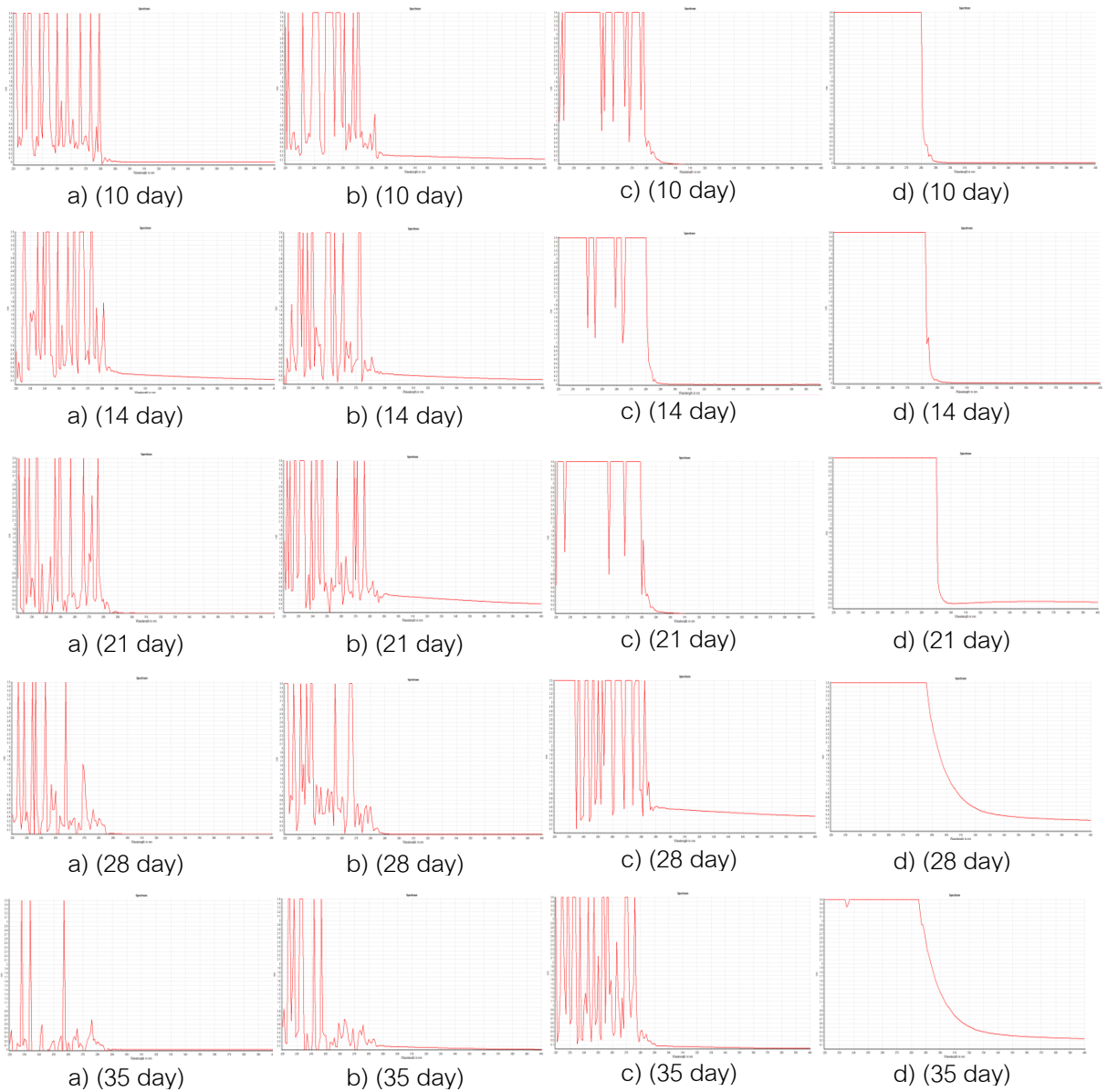
11.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนโดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และพบว่าน้ำมันดีเซลถูกย่อยสลายจนสามารถตรวจพบฟีดเพียงจำนวน 3 ฟีด ในวันที่ 35 ของการทดลอง ที่ค่าความยาวคลื่น 228, 234 และ 260 นาโนเมตร ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และในวันที่ 35 ของการทดลอง ยังสามารถตรวจพบฟีดจำนวน 5 ฟีด ที่ค่าความยาวคลื่น 225, 228, 234, 242 และ 248 นาโนเมตร (ภาพที่ 4-47)



ภาพที่ 4-47 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

- หมายเหตุ a) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน
 b) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน
 c) หมายถึง ชุด Sterile
 d) หมายถึง ชุด Background



ภาพที่ 4-47 (ต่อ)

11.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของ
แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของ
แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นมีปริมาณเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อย
ตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลองในชุด Active ทั้ง 2 สภาวะ (ตารางที่ 4-38)

ตารางที่ 4-38 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะที่มีออกซิเจน			สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
7	2±1	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0
10	2±1	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0
14	3±1	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0
21	2±2	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0
28	1±1	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0
35	1±1	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0

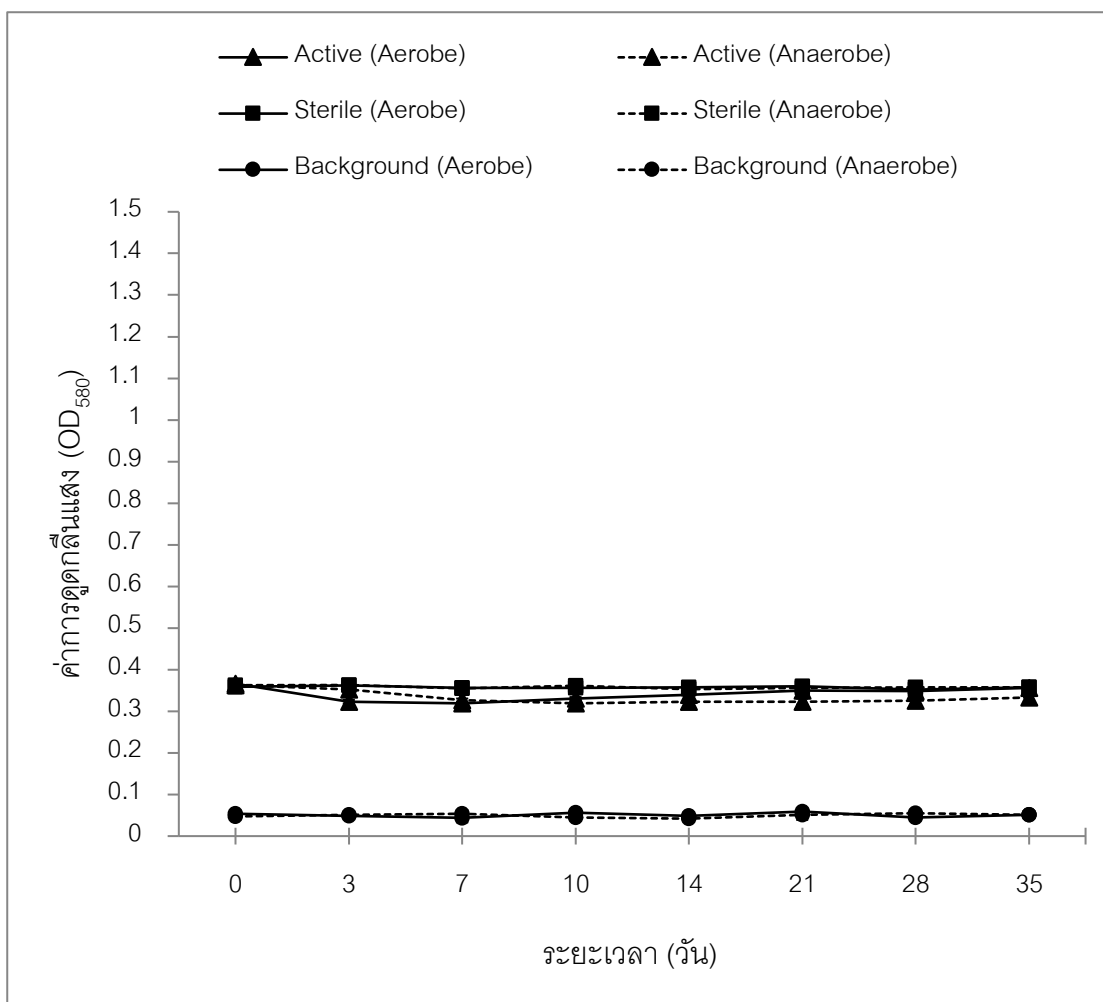
12. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

12.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันเบนซิน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรีย SJ1#1 ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรีย SJ1#1 มีการเจริญโดยใช้น้ำมันเบนซินเป็นแหล่งคาร์บอนลดลงในช่วงวันที่ 0-10 ของการทดลอง และเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 14 ของการทดลองจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ในทั้ง 2 สภาวะ แต่สามารถเจริญภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-39 และภาพที่ 4-48)

ตารางที่ 4-39 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มี
ออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลาย
น้ำมันเบนซิน

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.362±0.002	0.361±0.007	0.052±0.001	0.362±0.002	0.363±0.006	0.059±0.001
3	0.345±0.004	0.358±0.004	0.059±0.002	0.352±0.003	0.362±0.004	0.070±0.003
7	0.337±0.003	0.362±0.005	0.050±0.011	0.346±0.004	0.358±0.004	0.061±0.008
10	0.336±0.003	0.361±0.003	0.048±0.001	0.336±0.005	0.361±0.009	0.053±0.001
14	0.349±0.003	0.358±0.003	0.055±0.004	0.341±0.004	0.362±0.008	0.059±0.002
21	0.388±0.014	0.356±0.005	0.060±0.004	0.360±0.007	0.361±0.006	0.064±0.012
28	0.420±0.020	0.358±0.004	0.064±0.004	0.399±0.011	0.361±0.005	0.061±0.001
35	0.451±0.008	0.360±0.002	0.058±0.003	0.436±0.013	0.362±0.003	0.060±0.009



ภาพที่ 4-48 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลอง ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน

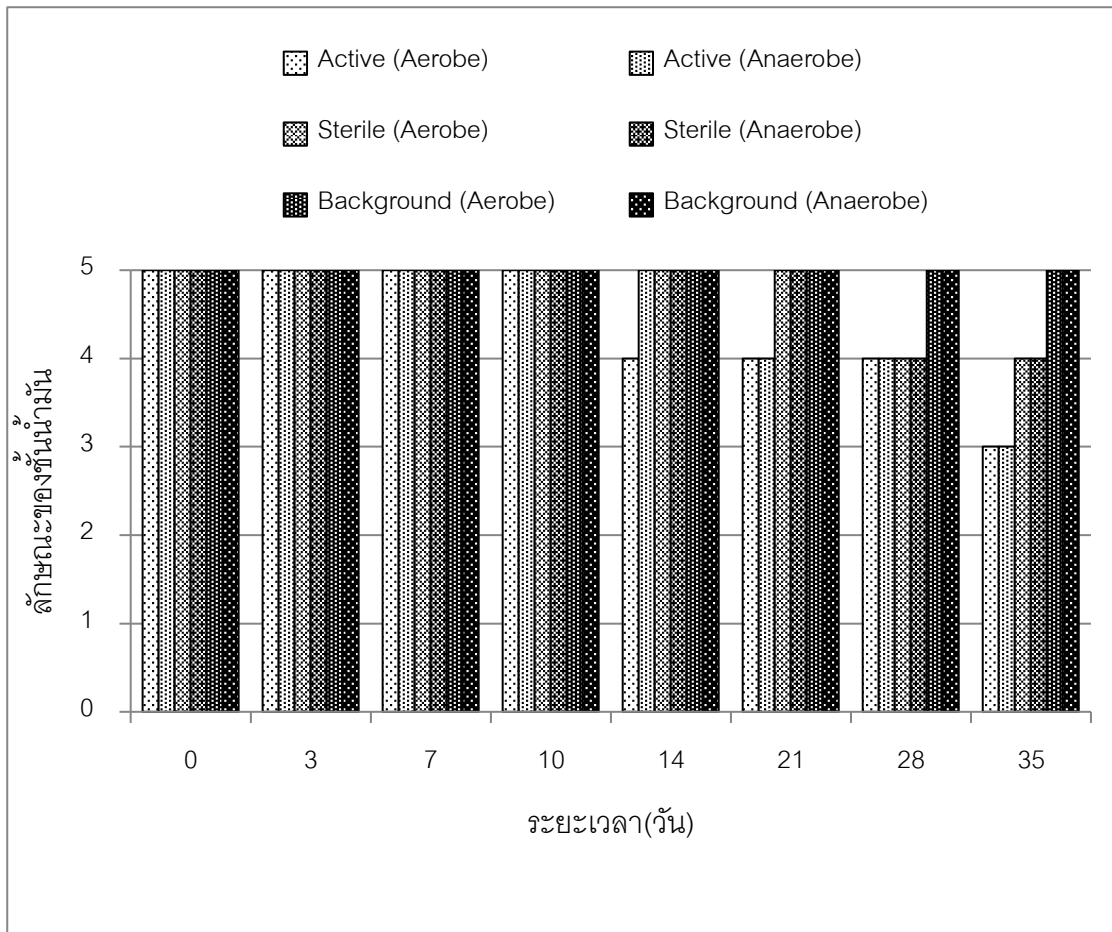
12.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงเรื่อย ๆ ตั้งแต่วันที่ 14 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยในทั้ง 2 สภาวะ ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร (ตารางที่ 4-40, ภาพที่ 4-49 และภาพที่ 4-50)

ตารางที่ 4-40 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	5+	5+	5+	5+	5+	5+
10	5+	5+	5+	5+	5+	5+
14	4+	5+	5+	4+	5+	5+
21	4+	5+	5+	4+	5+	5+
28	4+	4+	5+	4+	4+	5+
35	3+	4+	5+	3+	4+	5+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันเบนซินจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันเบนซิน



ภาพที่ 4-49 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน



ภาพที่ 4-50 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

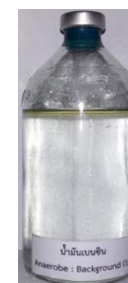
ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 10



Day 14



Day 21

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 28

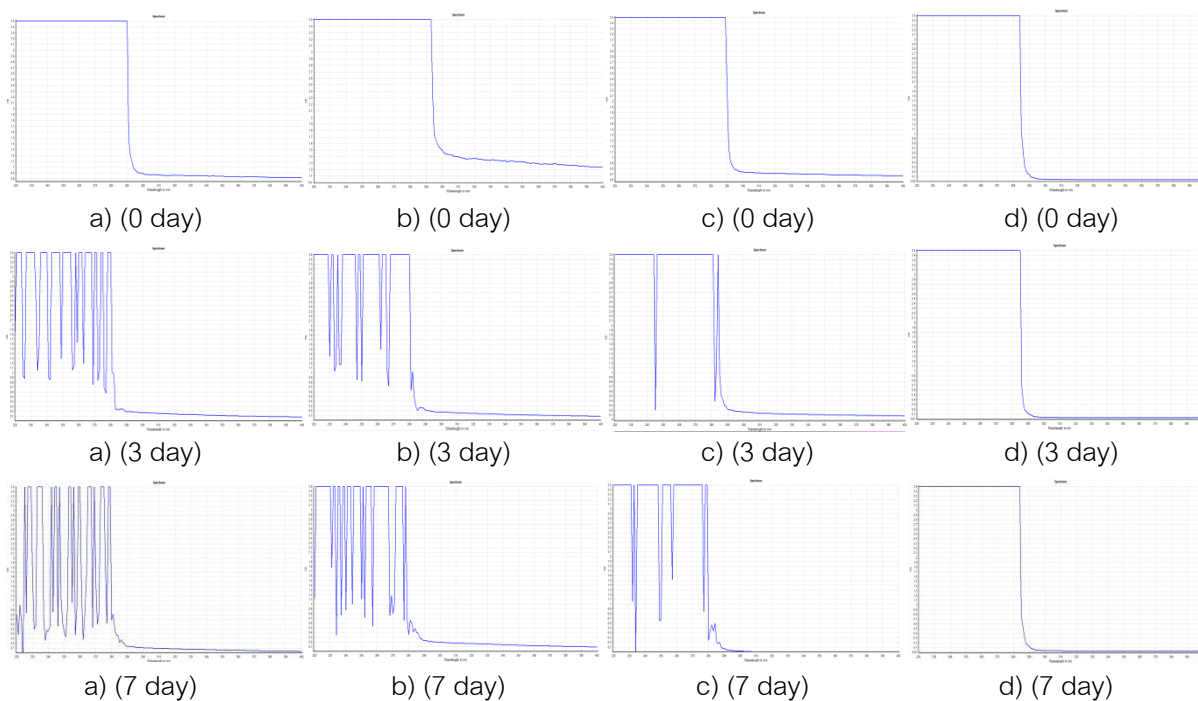


Day 35

ภาพที่ 4-50 (ต่อ)

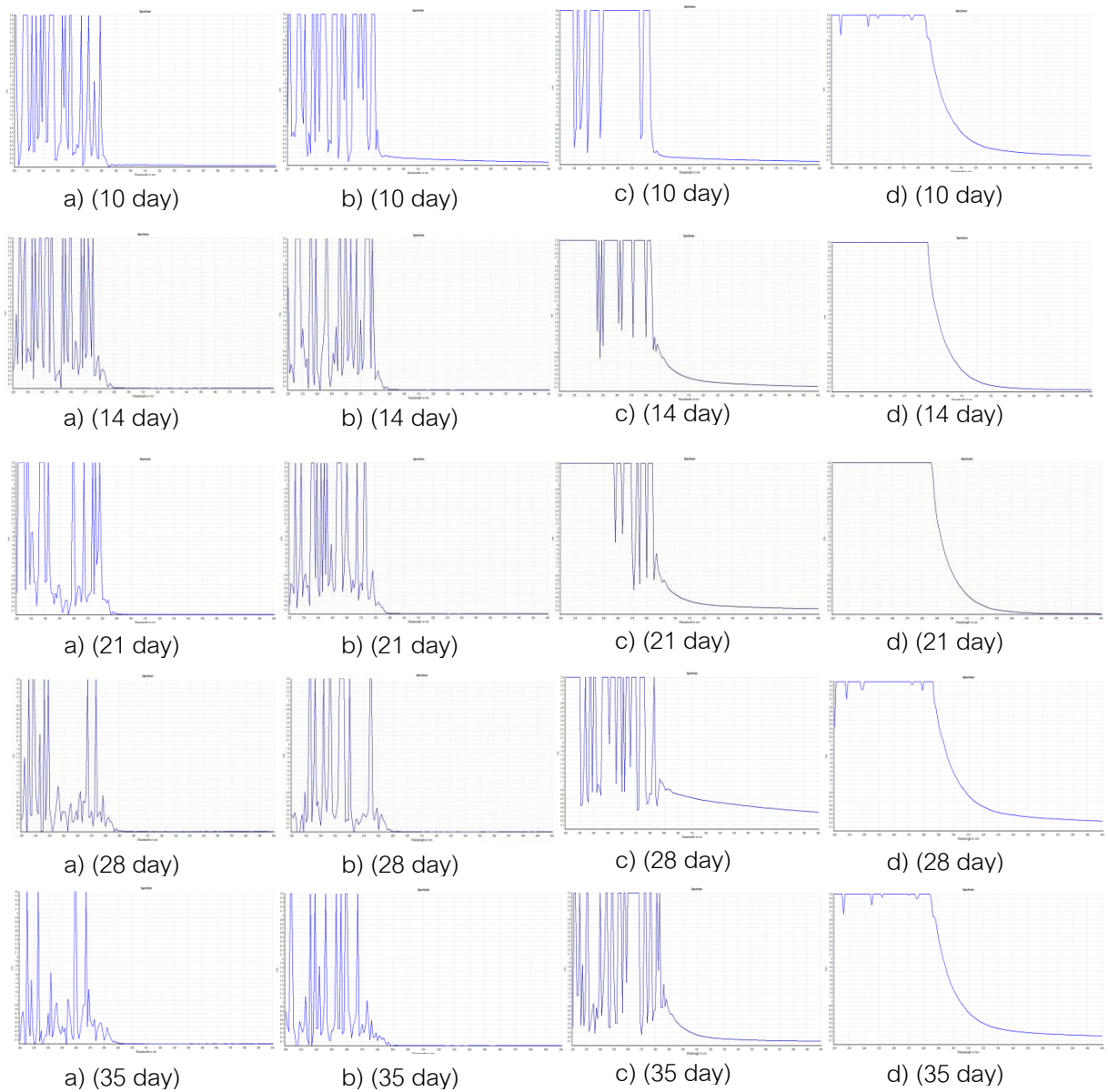
12.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนโดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันเบนซินมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันเบนซินภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และพบว่าน้ำมันเบนซินถูกย่อยสลายจนสามารถตรวจพบได้เพียง 5 พีค ที่ค่าความยาวคลื่น 226, 233, 242, 260 และ 268 นาโนเมตร ในวันสุดท้ายของการทดลอง ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันเบนซินตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลอง และในวันที่ 35 ของการทดลอง สามารถตรวจพบพีคได้จำนวน 8 พีค ที่ค่าความยาวคลื่น 224, 236, 238, 246, 254, 256, 260 และ 266 นาโนเมตร (ภาพที่ 4-51)



ภาพที่ 4-51 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

- หมายเหตุ a) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน
 b) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน
 c) หมายถึง ชุด Sterile
 d) หมายถึง ชุด Background



ภาพที่ 4-51 (ต่อ)

12.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นมีปริมาณเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อย
 ตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลองในชุด Active ทั้ง 2 สภาวะ (ตารางที่ 4-41)

ตารางที่ 4-41 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะที่มีออกซิเจน			สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
7	3±2	0±0	0±0	2±1	0±0	0±0
10	3±2	0±0	0±0	2±2	0±0	0±0
14	3±1	0±0	0±0	2±1	0±0	0±0
21	3±2	0±0	0±0	3±1	0±0	0±0
28	1±1	0±0	0±0	2±0	0±0	0±0
35	2±1	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0

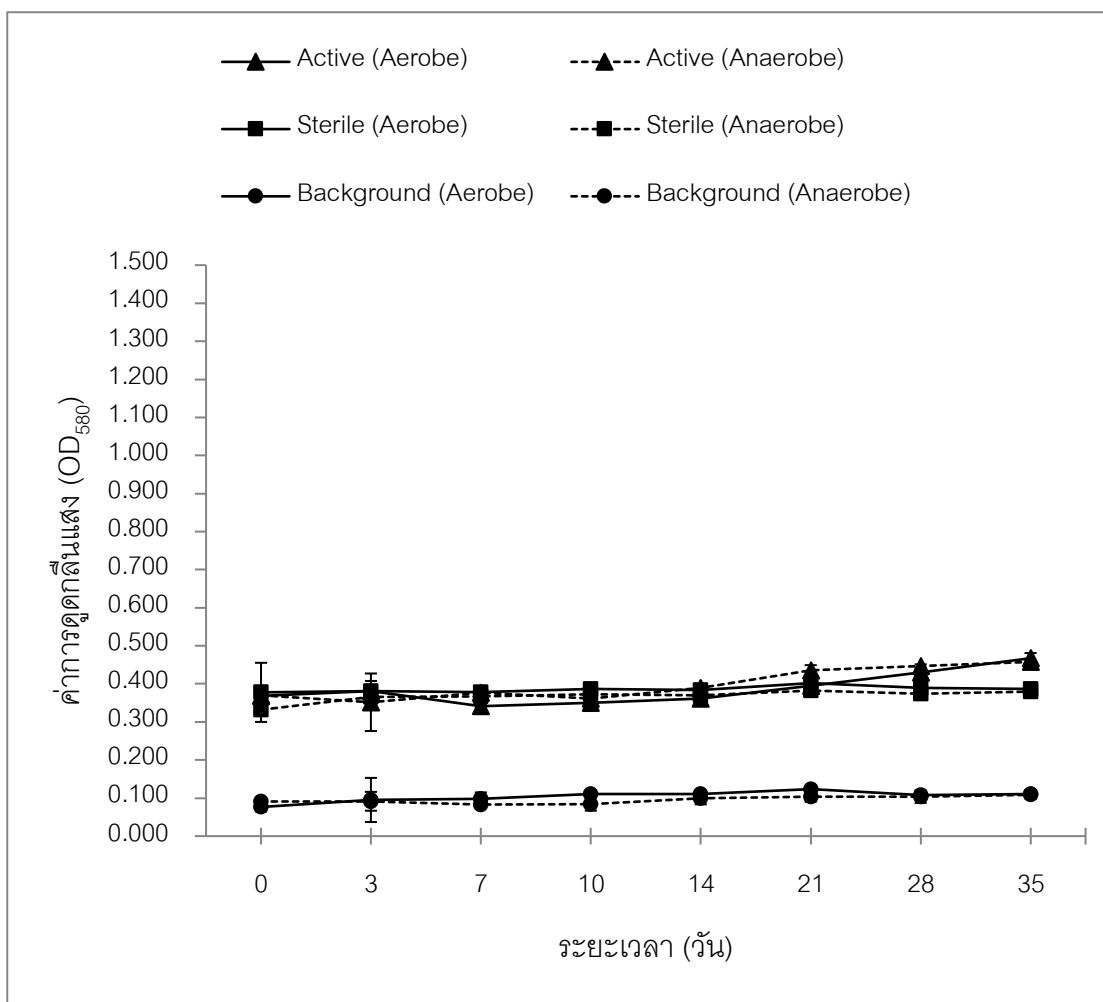
13. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

13.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรีย SJ1#1 ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรีย SJ1#1 มีการเจริญโดยใช้น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วเป็นแหล่งคาร์บอนลดลงเล็กน้อยในวันที่ 0-3 ของการทดลอง และเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 10 ไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ในทั้ง 2 สภาวะ แต่แบคทีเรีย SJ1#1 สามารถเจริญภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-42 และภาพที่ 4-52)

ตารางที่ 4-42 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มี
ออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลาย
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.368±0.016	0.378±0.078	0.077±0.012	0.370±0.025	0.332±0.004	0.092±0.004
3	0.381±0.016	0.382±0.026	0.095±0.058	0.352±0.076	0.365±0.020	0.092±0.025
7	0.341±0.003	0.379±0.013	0.099±0.016	0.377±0.018	0.367±0.019	0.083±0.001
10	0.350±0.006	0.387±0.011	0.110±0.004	0.361±0.006	0.372±0.017	0.085±0.018
14	0.362±0.007	0.384±0.009	0.110±0.001	0.390±0.006	0.370±0.004	0.099±0.016
21	0.395±0.023	0.402±0.017	0.124±0.002	0.435±0.014	0.382±0.009	0.103±0.013
28	0.430±0.008	0.390±0.020	0.108±0.011	0.477±0.004	0.374±0.007	0.104±0.016
35	0.467±0.014	0.386±0.015	0.111±0.001	0.458±0.003	0.380±0.012	0.109±0.011



ภาพที่ 4-52 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

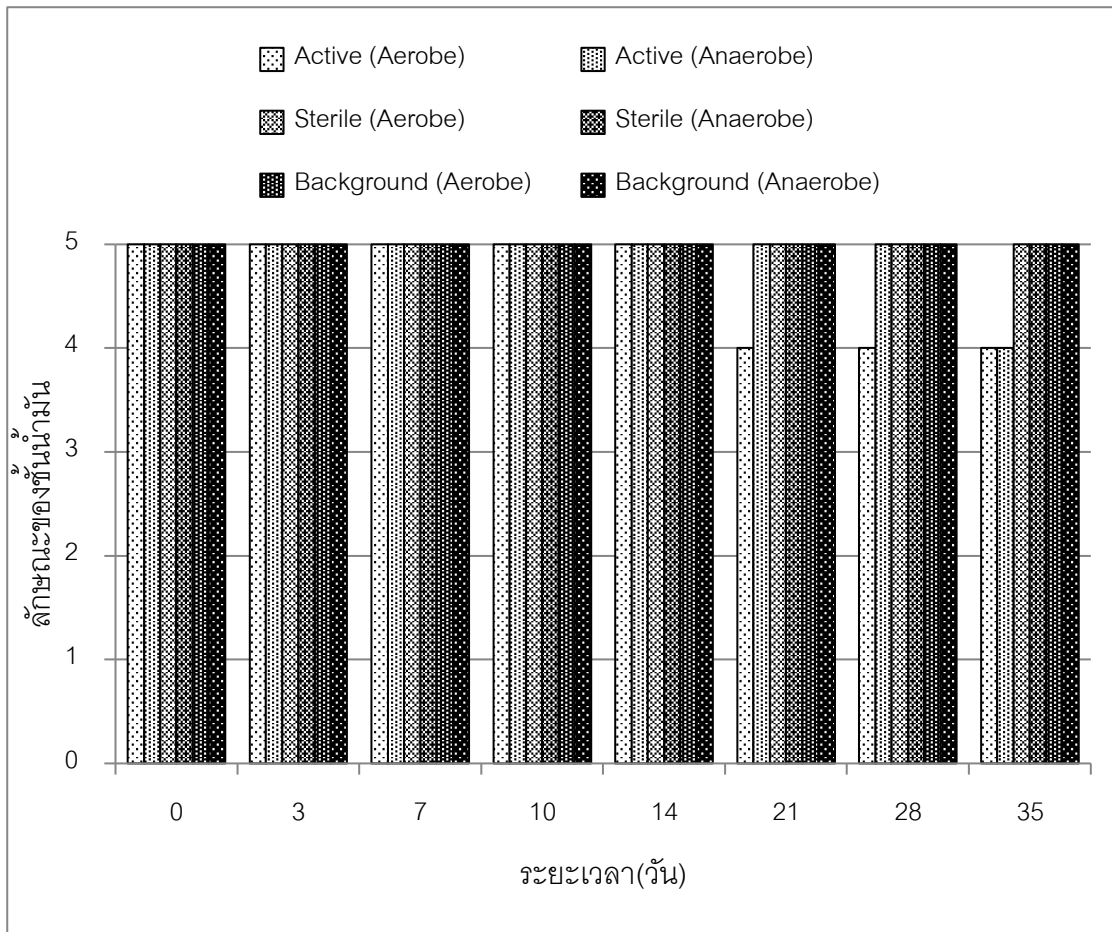
13.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน ตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลอง แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนไม่สามารถสังเกตเห็นการลดลงของชั้นน้ำมันได้ (ตารางที่ 4-43, ภาพที่ 4-53 และภาพที่ 4-54)

ตารางที่ 4-43 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ในการย่อยสลายของแบคทีเรีย สายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว					
	สถานะมีออกซิเจน			สถานะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	5+	5+	5+	5+	5+	5+
10	5+	5+	5+	5+	5+	5+
14	5+	5+	5+	5+	5+	5+
21	4+	5+	5+	5+	5+	5+
28	4+	5+	5+	5+	5+	5+
35	4+	5+	5+	4+	5+	5+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว จาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว



ภาพที่ 4-53 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 0



Day 3



Day 7

ภาพที่ 4-54 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 10



Day 14



Day 21

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 28

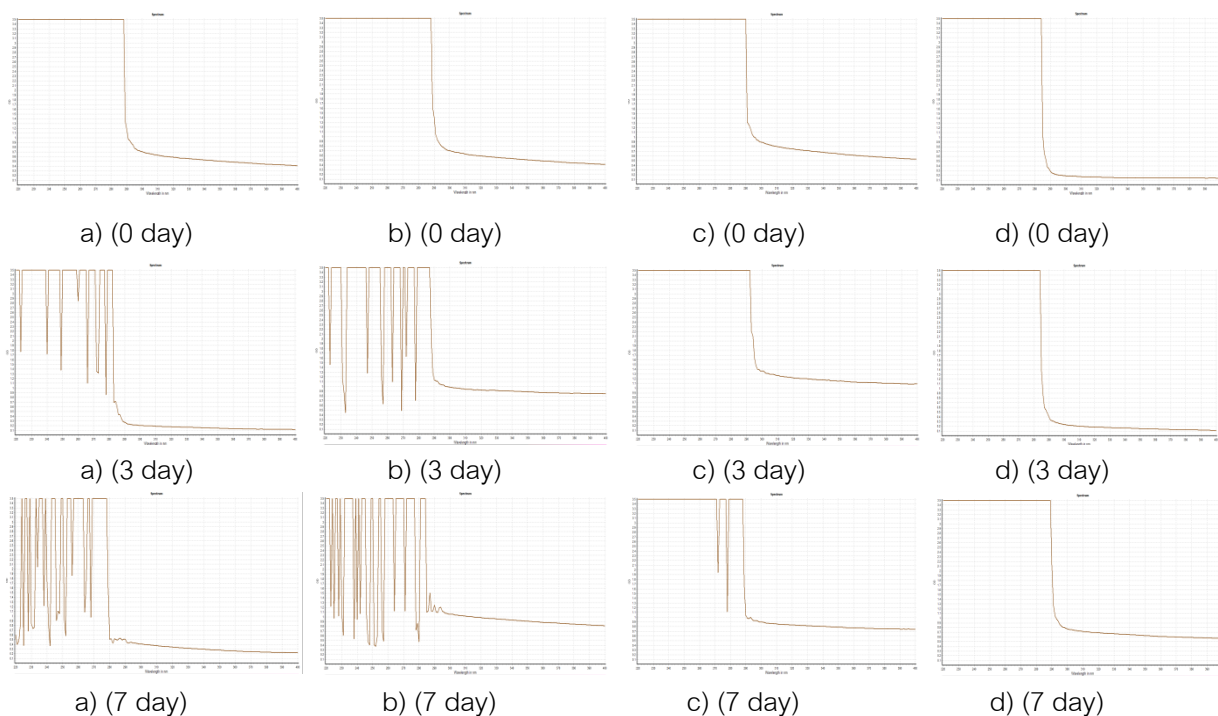


Day 35

ภาพที่ 4-54 (ต่อ)

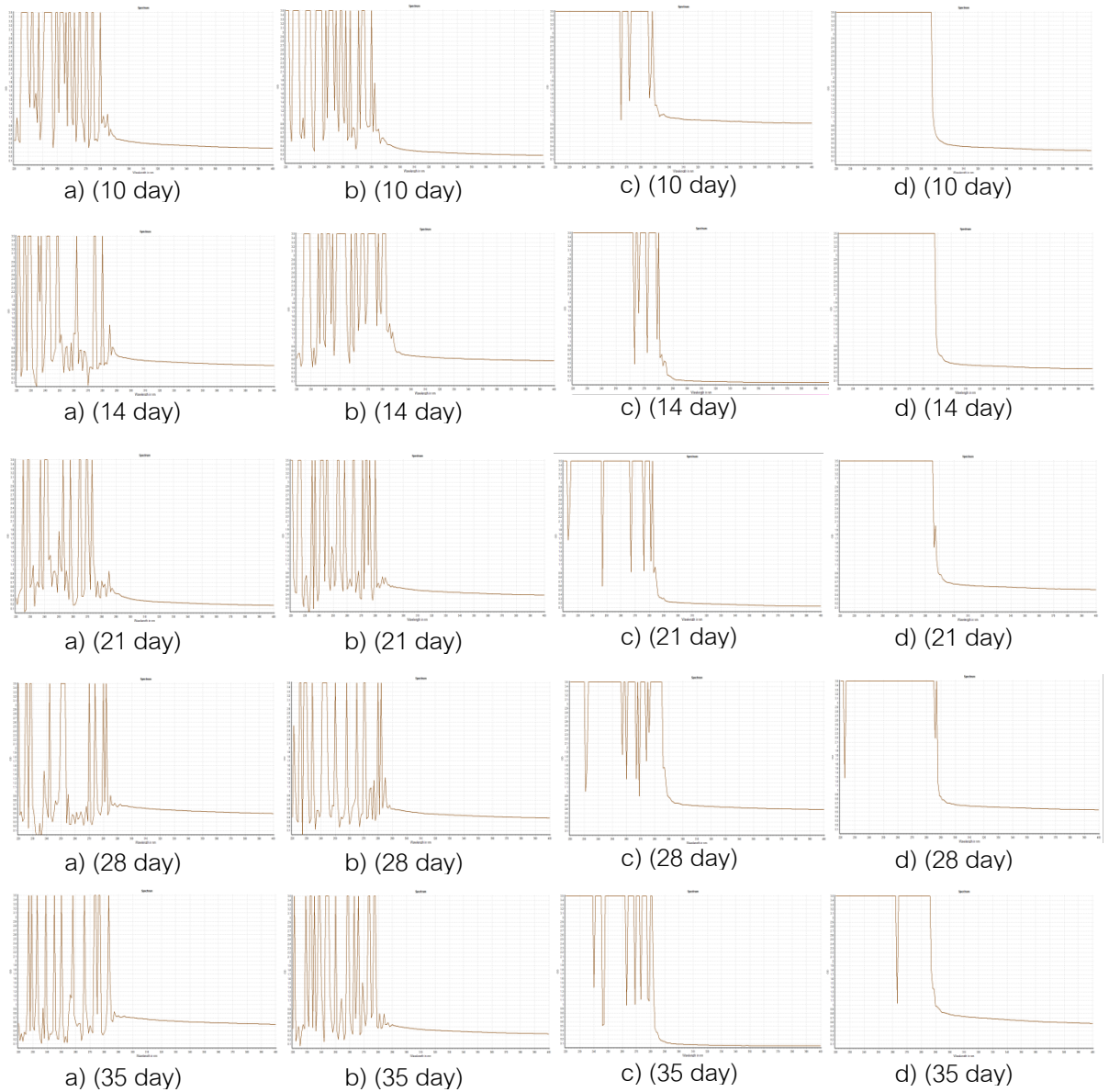
13.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนโดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง (ภาพที่ 4-55)



ภาพที่ 4-55 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

- หมายเหตุ a) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน
 b) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน
 c) หมายถึง ชุด Sterile
 d) หมายถึง ชุด Background



ภาพที่ 4-55 (ต่อ)

13.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นมีปริมาณเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อยตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลองในชุด Active ทั้ง 2 สภาวะ (ตารางที่ 4-44)

ตารางที่ 4-44 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะที่มีออกซิเจน			สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
7	2±1	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0
10	1±0	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0
14	2±0	0±0	0±0	2±0	0±0	0±0
21	1±1	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0
28	1±0	0±0	0±0	1±1	0±0	0±0
35	1±0	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0

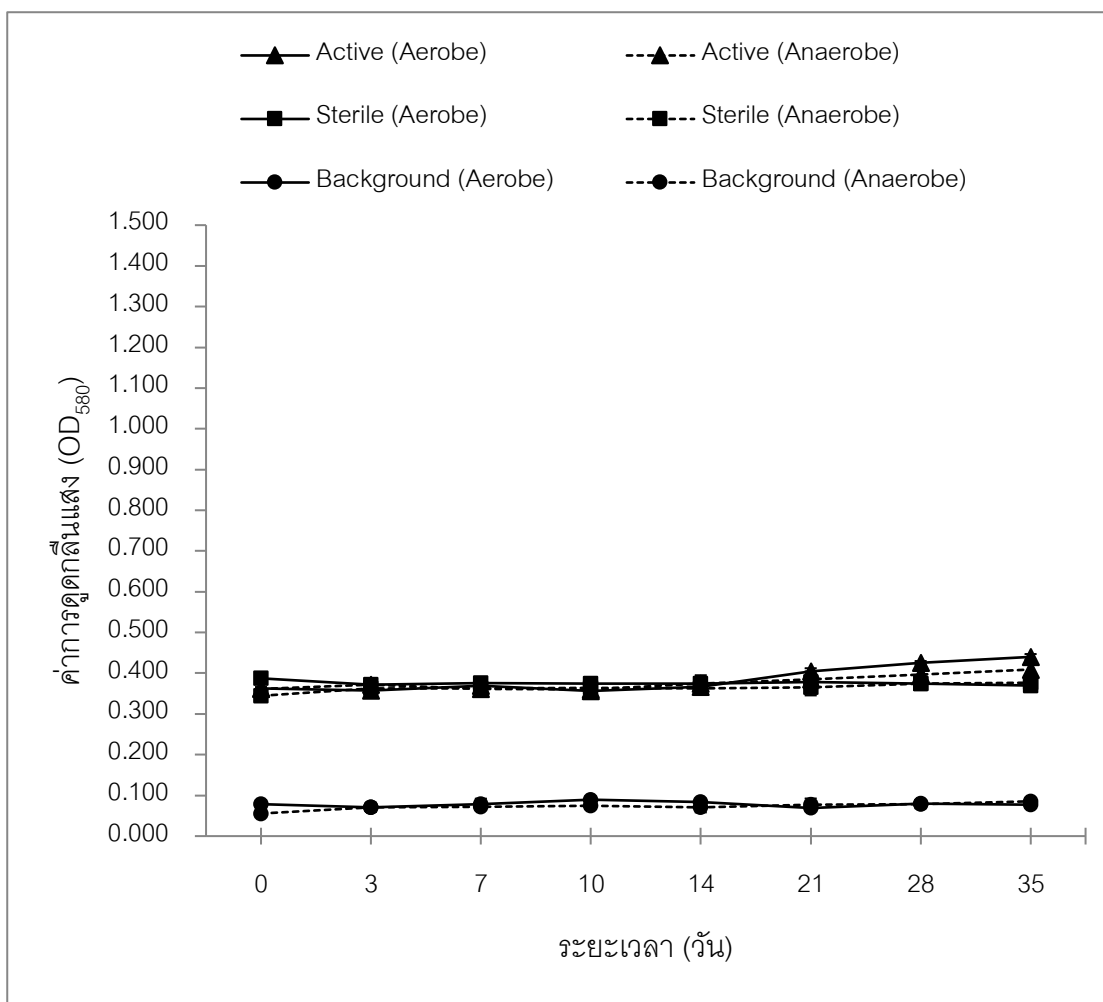
14. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในการย่อยสลายน้ำมันดิบภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

14.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันดิบภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการวัดปริมาณแบคทีเรีย SJ1#1 ในการย่อยสลายน้ำมันดิบทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ด้วยการวัดความขุ่นที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรีย SJ1#1 มีการเจริญโดยใช้น้ำมันดิบเป็นแหล่งคาร์บอนลดลงเล็กน้อยในวันที่ 0-7 ของการทดลอง และเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 10 ไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ในทั้ง 2 สภาวะ แต่แบคทีเรีย SJ1#1 สามารถเจริญภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-45 และภาพที่ 4-56)

ตารางที่ 4-45 ปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 (OD_{580}) ที่มีภายใต้สภาวะที่มี
ออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลองในการย่อยสลาย
น้ำมันดิบ

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0.362±0.004	0.387±0.009	0.079±0.009	0.361±0.017	0.345±0.013	0.056±0.002
3	0.357±0.003	0.372±0.014	0.071±0.011	0.372±0.014	0.363±0.016	0.071±0.010
7	0.369±0.007	0.376±0.008	0.079±0.013	0.361±0.009	0.363±0.011	0.072±0.004
10	0.356±0.012	0.375±0.010	0.090±0.001	0.360±0.007	0.363±0.003	0.074±0.003
14	0.367±0.009	0.374±0.014	0.084±0.001	0.375±0.020	0.363±0.009	0.071±0.013
21	0.404±0.008	0.378±0.017	0.069±0.004	0.385±0.020	0.365±0.019	0.078±0.015
28	0.425±0.005	0.374±0.008	0.080±0.004	0.397±0.011	0.375±0.007	0.078±0.010
35	0.440±0.007	0.370±0.008	0.078±0.002	0.409±0.017	0.377±0.015	0.086±0.004



ภาพที่ 4-56 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในแต่ละชุดการทดลอง ในการย่อยสลายน้ำมันดิบ

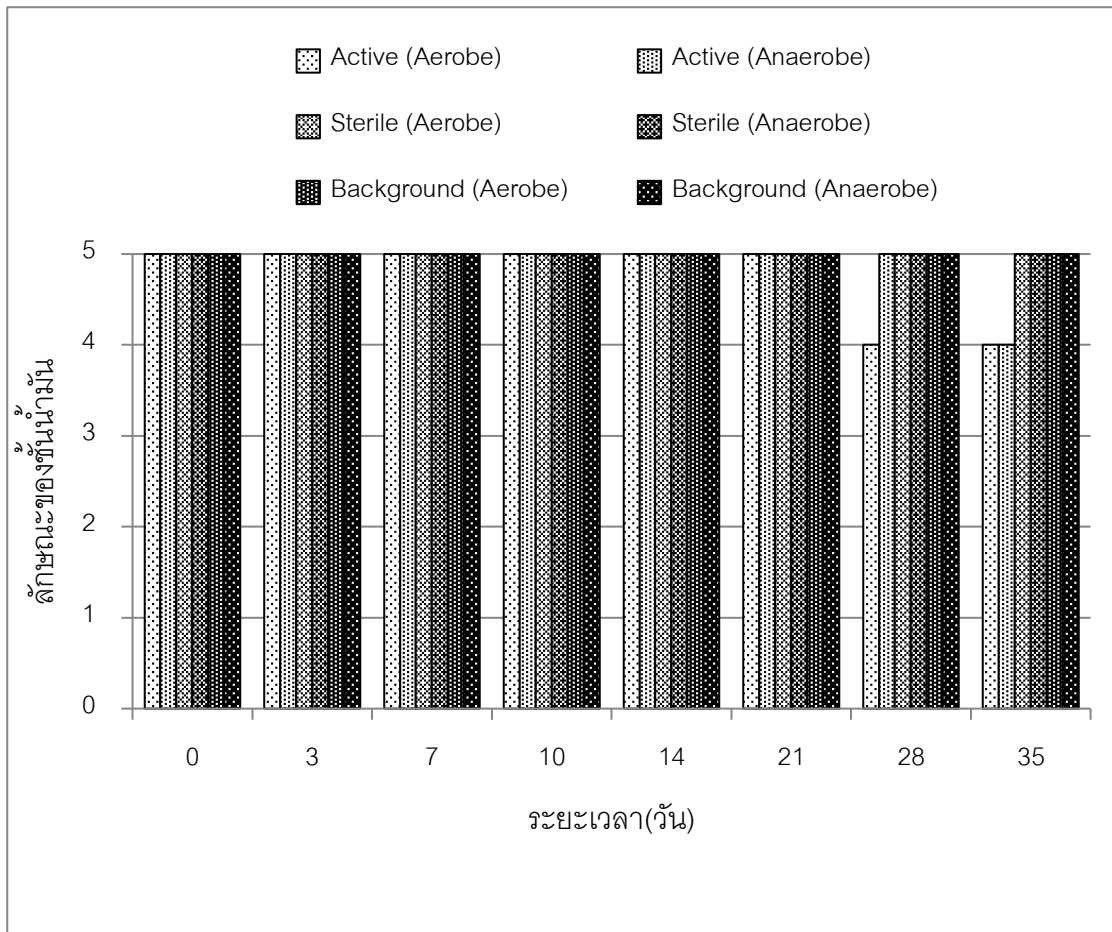
14.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการสังเกตลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าลักษณะของชั้นน้ำมันดิบภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน ตั้งแต่วันที่ 28 และ 35 ของการทดลอง ตามลำดับ (ตารางที่ 4-46, ภาพที่ 4-57 และภาพที่ 4-58)

ตารางที่ 4-46 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1
ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	5+	5+	5+	5+	5+	5+
10	5+	5+	5+	5+	5+	5+
14	5+	5+	5+	5+	5+	5+
21	5+	5+	5+	5+	5+	5+
28	4+	5+	5+	5+	5+	5+
35	4+	5+	5+	4+	5+	5+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันดิบบาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันดิบ



ภาพที่ 4-57 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแต่ละชุดการทดลอง ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 0



Day 3



Day 7

ภาพที่ 4-58 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 10



Day 14



Day 21

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background

ชุด Active

ชุด Sterile

ชุด Background



Day 28

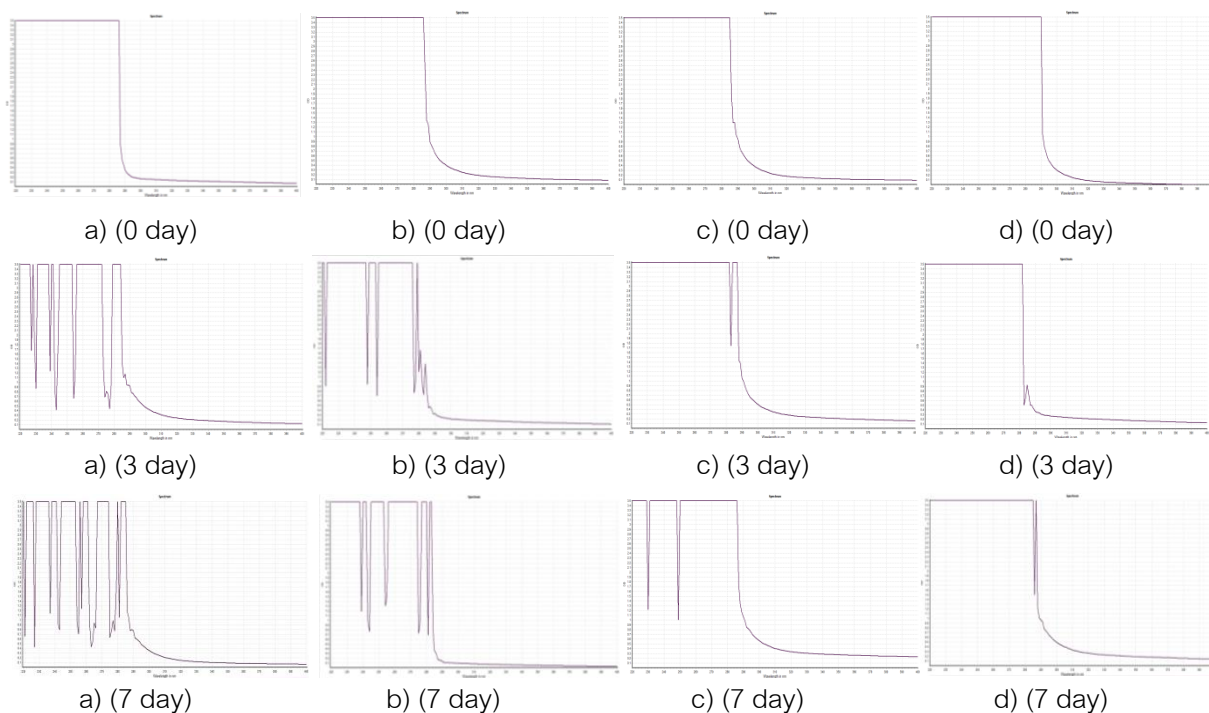


Day 35

ภาพที่ 4-58 (ต่อ)

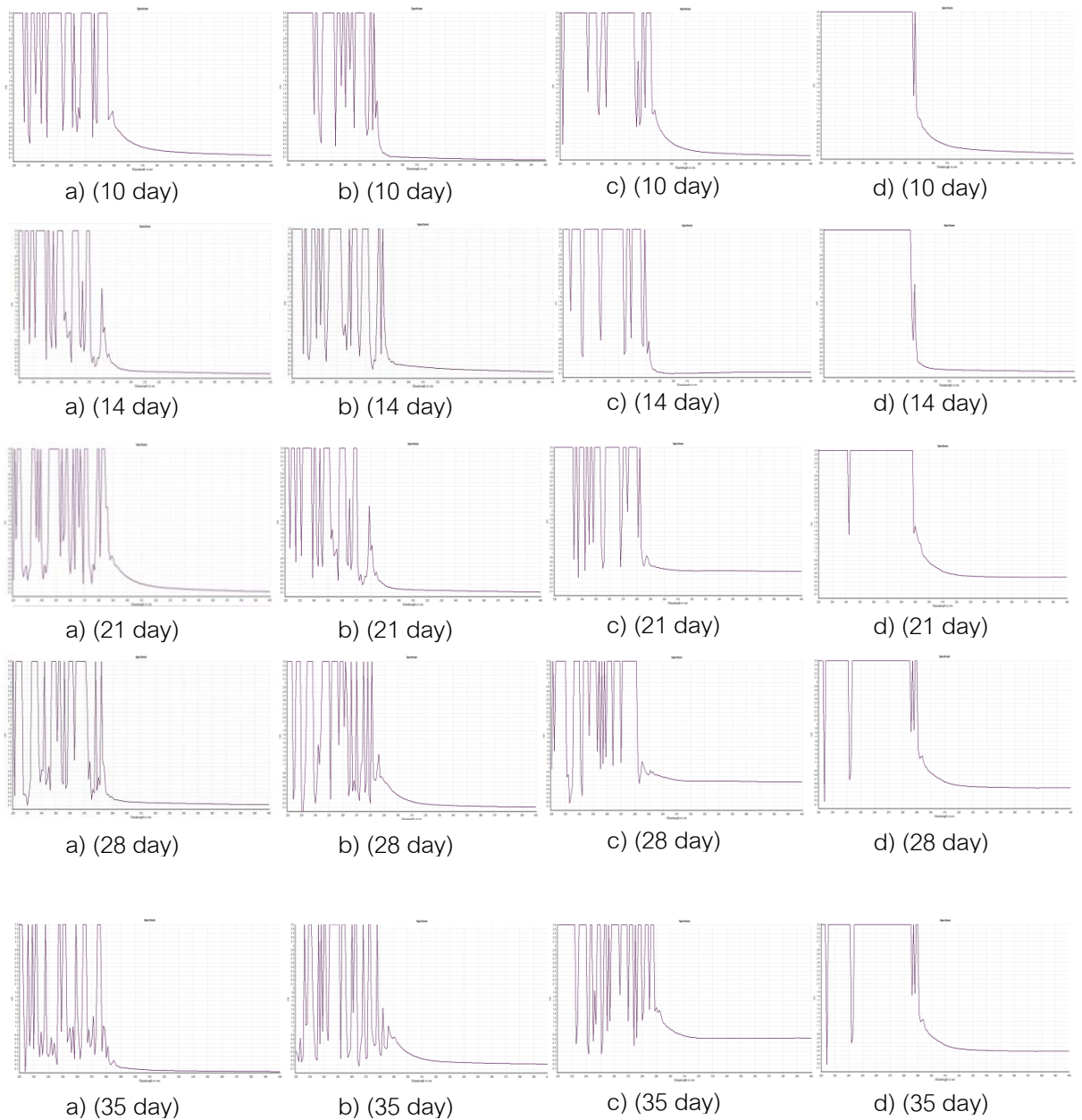
13.3 การศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายดิบแล้วของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนโดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันดิบมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และเริ่มพบการย่อยสลายน้ำมันดิบภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบการย่อยสลายน้ำมันดิบตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลอง และทั้ง 2 สภาวะ พบการย่อยสลายเล็กน้อยไปเรื่อย ๆ จนวันสุดท้ายของสุดท้าย (ภาพที่ 4-59)



ภาพที่ 4-59 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

- หมายเหตุ a) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน
 b) หมายถึง ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน
 c) หมายถึง ชุด Sterile
 d) หมายถึง ชุด Background



ภาพที่ 4-59 (ต่อ)

14.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของ
 แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นมีปริมาณเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อย
 ตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลองในชุด Active ทั้ง 2 สภาวะ (ตารางที่ 4-47)

ตารางที่ 4-47 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในแต่ละชุดการทดลอง

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	Active	Sterile	Background	Active	Sterile	Background
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
7	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
10	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
14	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
21	1±0	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0
28	1±1	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0
35	1±0	0±0	0±0	1±0	0±0	0±0

15. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

15.1 การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

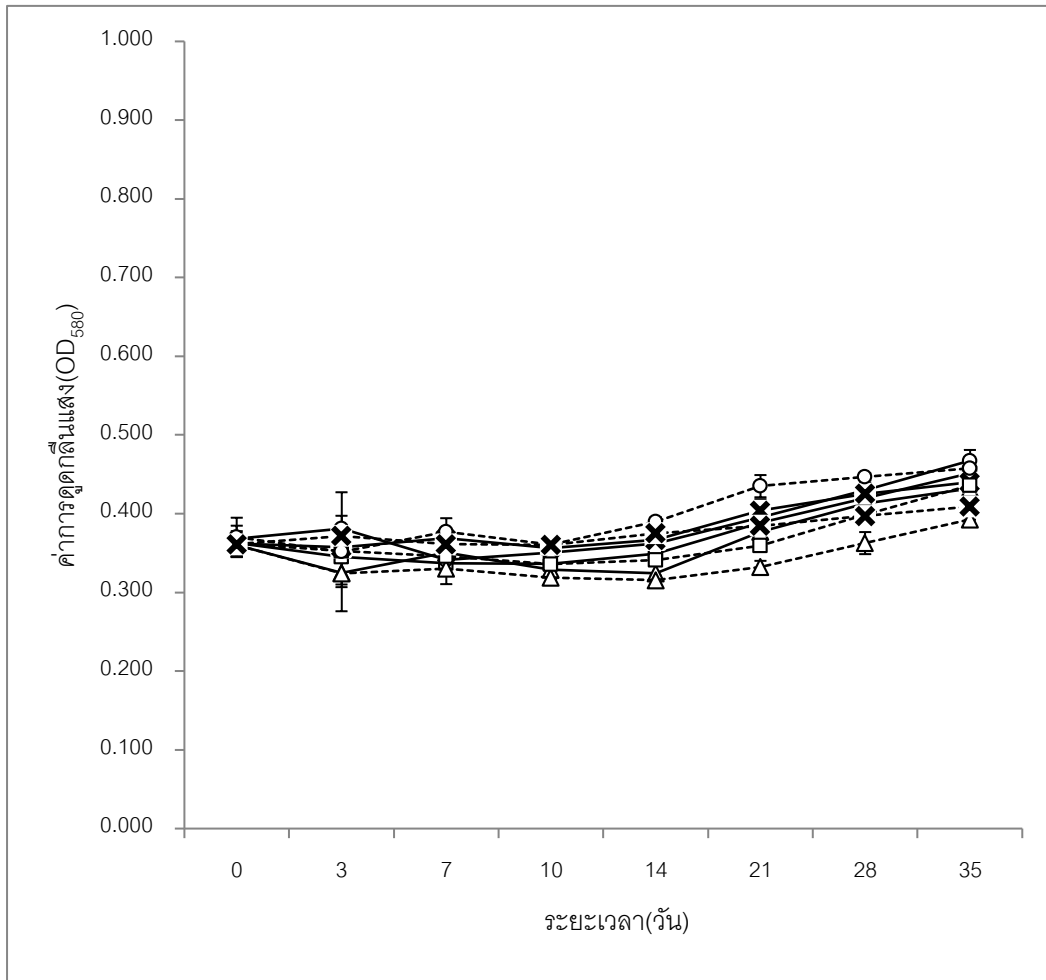
จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 สามารถเจริญเพิ่มจำนวนโดยใช้ไขมันดีเซลเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว น้ำมันเบนซินและน้ำมันดิบ ตามลำดับในทั้ง 2 สภาวะ โดยสามารถเจริญในแหล่งของคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันทั้ง 4 ชนิดได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-48, ตารางที่ 4-49 และภาพที่ 4-60)

ตารางที่ 4-48 ปริมาณของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD.$)							
	สภาวะมีออกซิเจน				สภาวะไม่มีออกซิเจน			
	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมัน ดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมัน ดิบ
0	0.360 ± 0.015	0.362 ± 0.002	0.368 ± 0.016	0.362 ± 0.004	0.360 ± 0.014	0.362 ± 0.002	0.370 ± 0.025	0.361 ± 0.017
3	0.325 ± 0.015	0.345 ± 0.004	0.381 ± 0.016	0.357 ± 0.003	0.324 ± 0.018	0.352 ± 0.003	0.352 ± 0.076	0.372 ± 0.014
7	0.350 ± 0.020	0.337 ± 0.003	0.341 ± 0.003	0.369 ± 0.007	0.330 ± 0.019	0.346 ± 0.004	0.377 ± 0.018	0.361 ± 0.009
10	0.329 ± 0.012	0.336 ± 0.003	0.350 ± 0.006	0.356 ± 0.012	0.319 ± 0.006	0.336 ± 0.005	0.361 ± 0.006	0.360 ± 0.007
14	0.324 ± 0.013	0.349 ± 0.003	0.362 ± 0.007	0.367 ± 0.009	0.316 ± 0.006	0.341 ± 0.004	0.390 ± 0.006	0.375 ± 0.020
21	0.377 ± 0.014	0.388 ± 0.014	0.395 ± 0.023	0.404 ± 0.008	0.332 ± 0.008	0.360 ± 0.007	0.435 ± 0.014	0.385 ± 0.020
28	0.413 ± 0.022	0.420 ± 0.020	0.430 ± 0.008	0.425 ± 0.005	0.363 ± 0.014	0.399 ± 0.011	0.447 ± 0.004	0.397 ± 0.011

ตารางที่ 4-48 (ต่อ)

		ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)						
ระยะเวลา (วัน)	สภาวะมีออกซิเจน				สภาวะไม่มีออกซิเจน			
	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
35	0.432	0.451	0.467	0.440	0.393	0.436	0.458	0.409
	± 0.011	± 0.008	± 0.014	± 0.005	± 0.009	± 0.013	± 0.003	± 0.017



ภาพที่ 4-60 ผลปริมาณแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มี

ออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน: (-▲-) น้ำมันดีเซล, (-□-) น้ำมันเบนซิน, (-○-) น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว,

(-×-) น้ำมันดิบ, สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน: (-▲-) น้ำมันดีเซล, (-□-) น้ำมันเบนซิน,

(-○-) น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและ (-×-) น้ำมันดิบ

ตารางที่ 4-49 อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด

ชนิดของน้ำมัน	สภาวะมีออกซิเจน		สภาวะไม่มีออกซิเจน	
	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)
น้ำมันดีเซล	0.002048	14	0.000933	14
น้ำมันเบนซิน	0.002533	14	0.002105	10
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว	0.002829	10	0.002505	10
น้ำมันดิบ	0.002229	14	0.001362	28

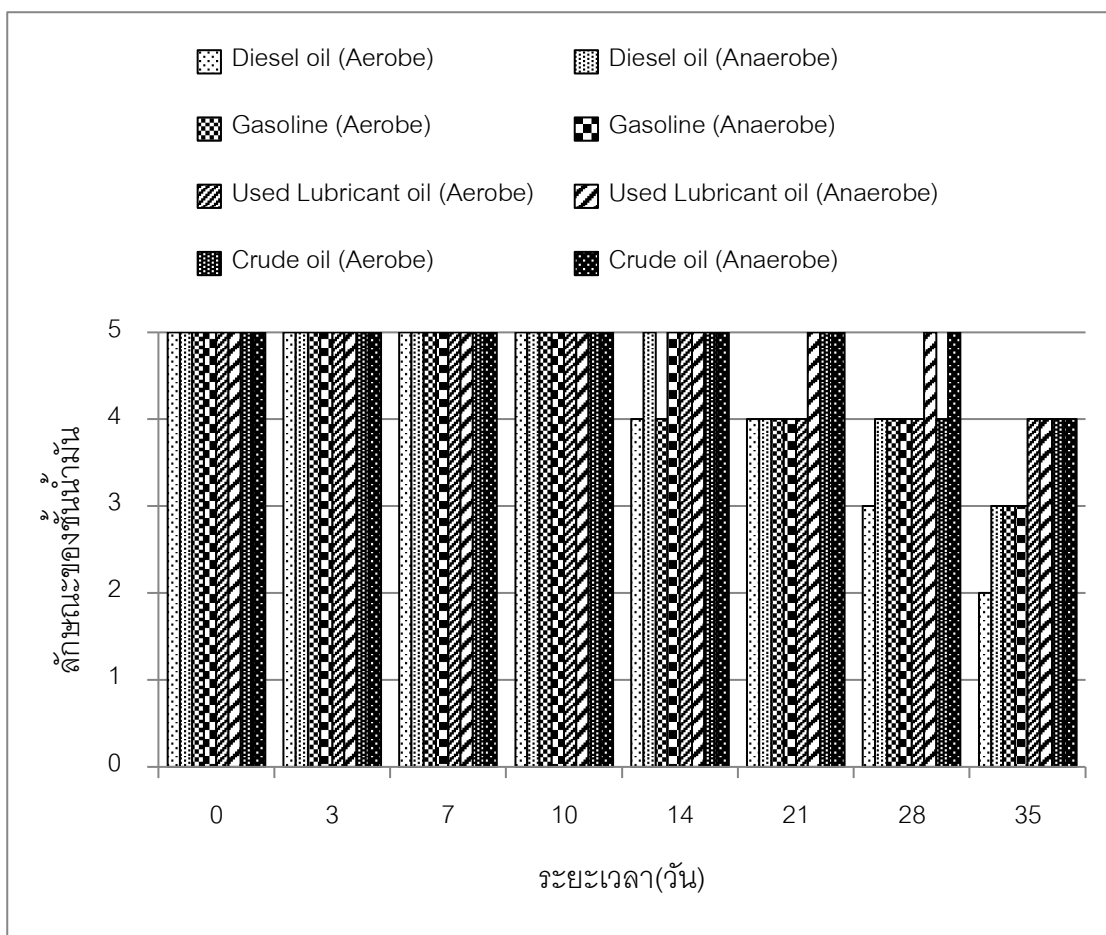
15.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลพบการลดลงของชั้นน้ำมันรวดเร็วมากที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและน้ำมันดิบ โดยสภาวะที่มีออกซิเจนในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างเห็นได้ชัดเหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลอง ส่วนการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างเห็นได้ชัดเหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารตั้งแต่วันที่ 28 ของการทดลอง ส่วนน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและน้ำมันดิบ ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน ตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลอง แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนลักษณะของชั้นน้ำมันในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลและน้ำมันเบนซินมีการลดลงอย่างเห็นได้ชัดเหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหารในวันสุดท้ายของการทดลองพร้อมกัน และการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและน้ำมันดิบพบลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนในวันที่ 28 ของการทดลอง และจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ยังพบว่าการลดลงของชั้นน้ำมันภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเกิดขึ้นได้เร็วกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนอีกด้วย (ตารางที่ 4-50 และภาพที่ 4-61, ภาพที่ 4-62)

ตารางที่ 4-50 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายของแบคทีเรีย
สายพันธุ์ SJ1#1 ในชุด Active ทั้งสถานะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน							
	สถานะมีออกซิเจน				สถานะไม่มีออกซิเจน			
	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
10	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
14	4+	4+	5+	5+	5+	5+	5+	5+
21	4+	4+	4+	5+	4+	4+	5+	5+
28	3+	4+	4+	4+	4+	4+	5+	5+
35	2+	3+	4+	4+	3+	3+	4+	4+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมัน



ภาพที่ 4-61 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน



Day 0

Day 3

Day 7

ภาพที่ 4-62 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิดในชุด Active ในการย่อยสลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

สภาวะที่มีออกซิเจน

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

น้ำมันดีเซล

น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

น้ำมันดิบ

น้ำมันดีเซล

น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

น้ำมันดิบ



Day 10



Day 14



Day 21



Day 28

Day 35

ภาพที่ 4-62 (ต่อ)

15.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

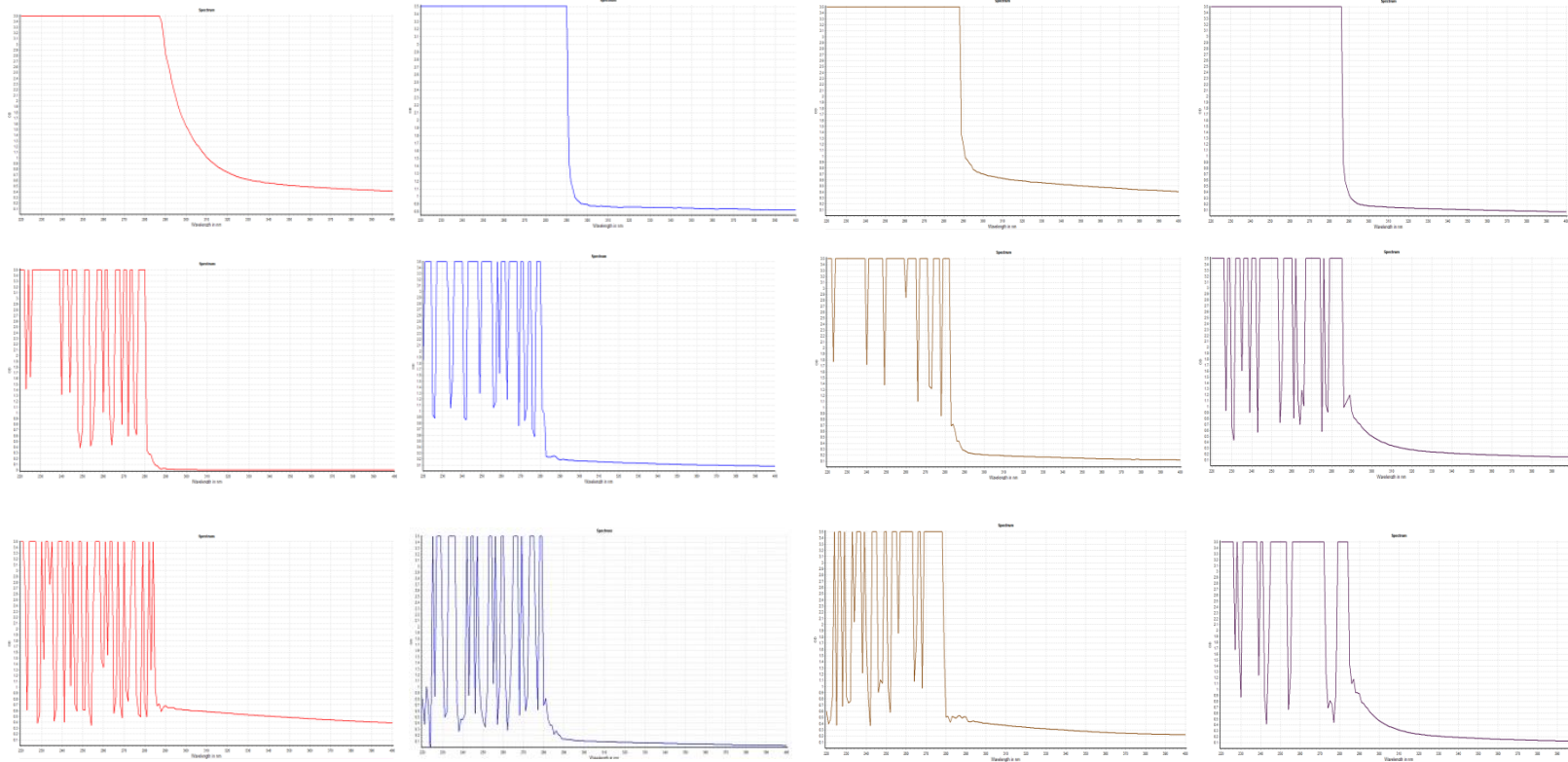
จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 สามารถย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดได้ในทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน และสามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบตามลำดับ โดยในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลสามารถเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง โดยในวันสุดท้ายของการทดลองเกิดการย่อยสลายจนไม่สามารถตรวจพบพิกัดได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และตรวจพบเพียง 1 พิกัดที่ค่าความยาวคลื่น 245 นาโนเมตรภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ส่วนการย่อยสลายน้ำมันเบนซินเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 7 ของการทดลองเช่นกัน แต่เกิดการย่อยสลายที่ช้ากว่า ในวันสุดท้ายของการทดลองจึงยังคงสามารถตรวจพบพิกัดได้จำนวน 1 พิกัดที่ค่าความยาวคลื่น 275 นาโนเมตรภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนสามารถตรวจพบทั้งหมด 2 พิกัดที่ค่าความยาวคลื่น 250 และ 255 นาโนเมตร ในส่วนของการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 10 ของการทดลองไปเรื่อย ๆ จนวันสุดท้ายของการทดลองสามารถตรวจพบพิกัดจำนวน 5 พิกัดที่ค่าความยาวคลื่น 234, 238, 258, 263 และ 273 นาโนเมตรภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนสามารถตรวจพบพิกัดจำนวน 7 พิกัดที่ค่าความยาวคลื่น 222, 224, 245, 247, 250, 256, 260 และ 262 นาโนเมตร และส่วนการย่อยสลายน้ำมันดิบเริ่มพบการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลองไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลองก็ยังสามารถตรวจพบพิกัดจำนวนมากอยู่ในทั้ง 2 สภาวะ (ภาพที่ 4-63 และภาพที่ 4-64)

น้ำมันดีเซล

น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

น้ำมันดิบ



Day 0

Day 3

Day 7

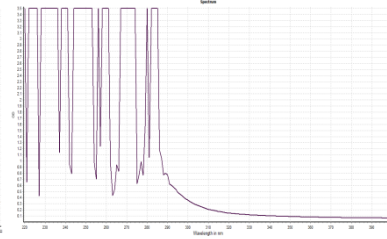
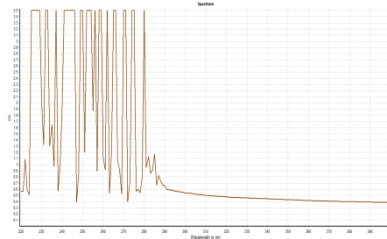
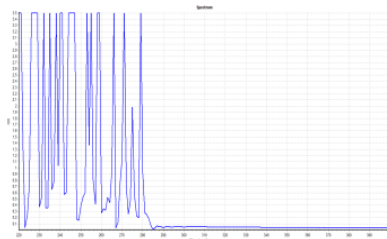
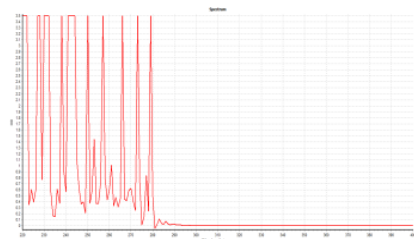
ภาพที่ 4-63 กราฟการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ชูด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน

น้ำมันดีเซล

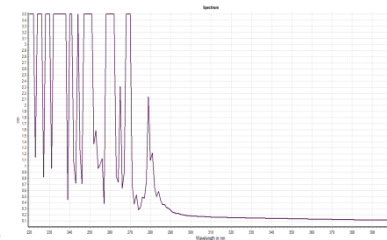
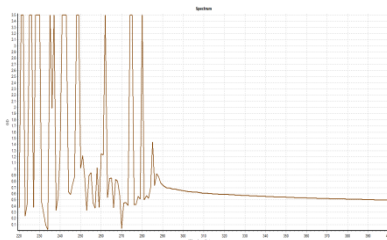
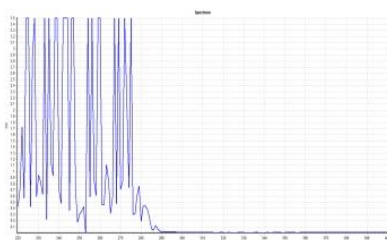
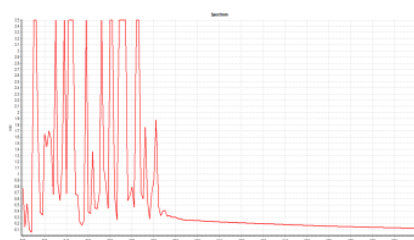
น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

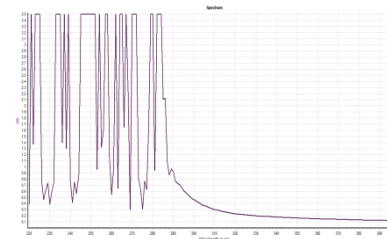
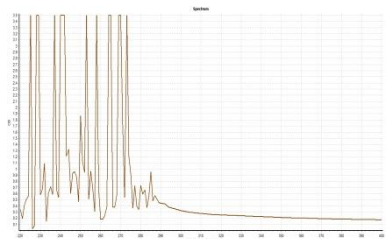
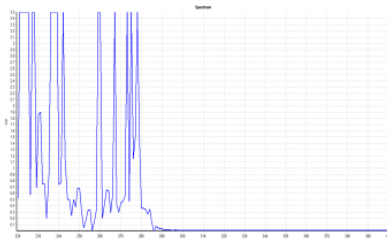
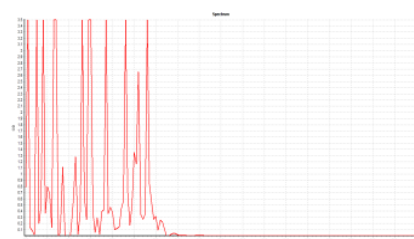
น้ำมันดิบ



Day
10



Day
14



Day
21

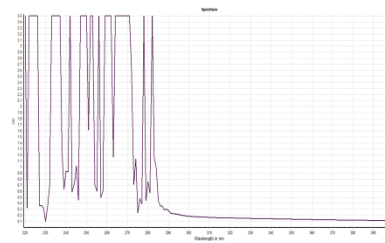
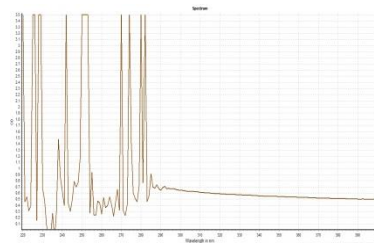
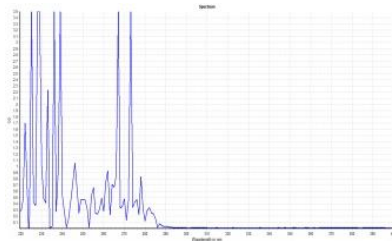
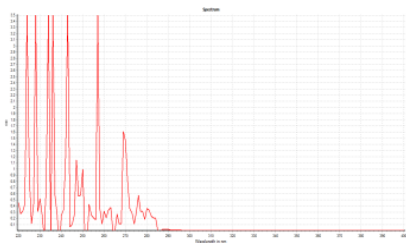
ภาพที่ 4-63 (ต่อ)

น้ำมันดีเซล

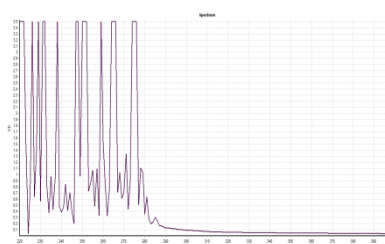
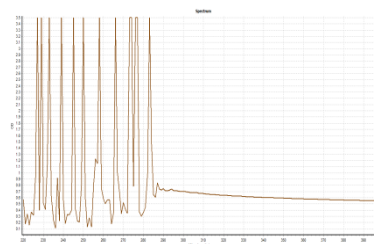
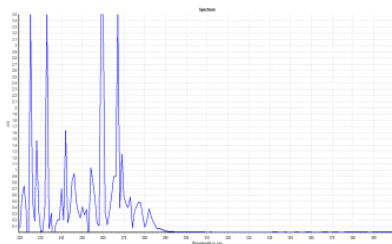
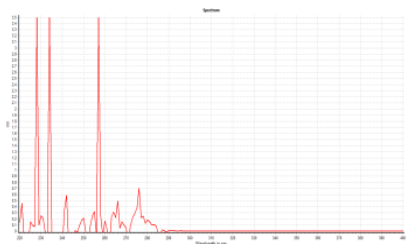
น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

น้ำมันดิบ



Day
28



Day
35

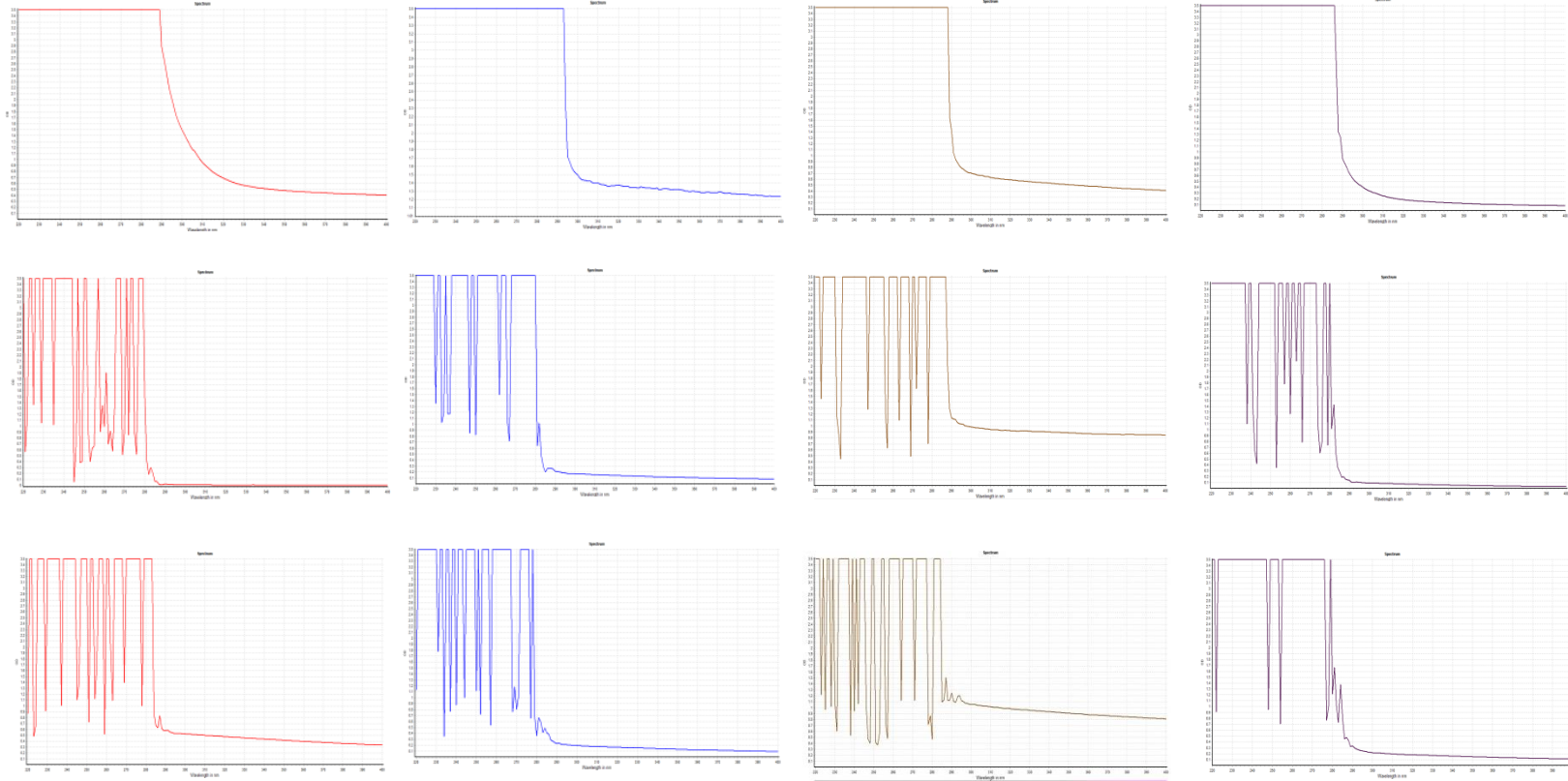
ภาพที่ 4-63 (ต่อ)

น้ำมันดีเซล

น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

น้ำมันดิบ



Day 0

Day 3

Day 7

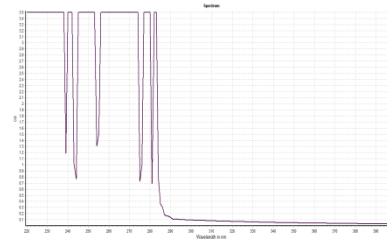
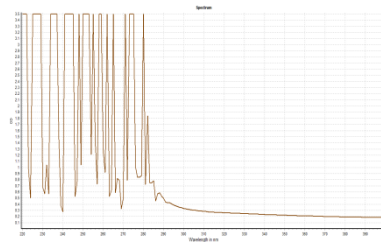
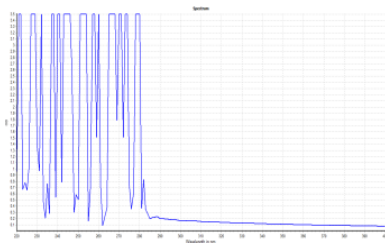
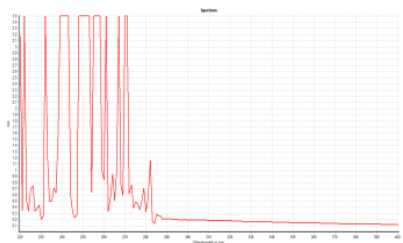
ภาพที่ 4-64 กราฟการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ชุด Active ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

น้ำมันดีเซล

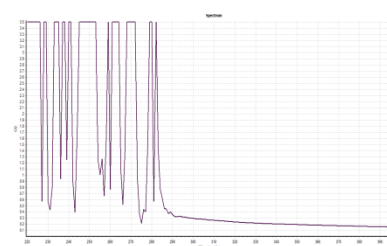
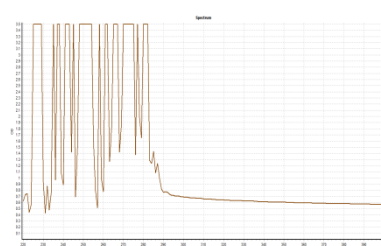
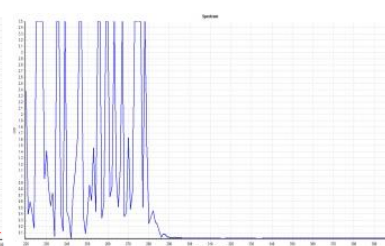
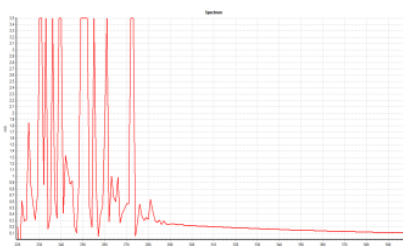
น้ำมันเบนซิน

น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

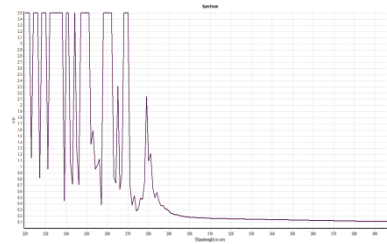
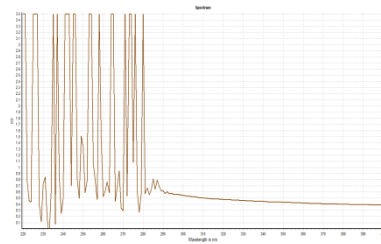
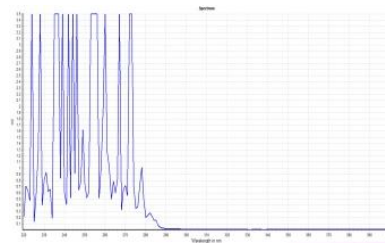
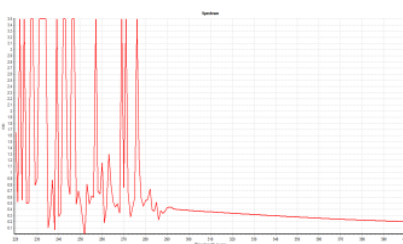
น้ำมันดิบ



Day
10



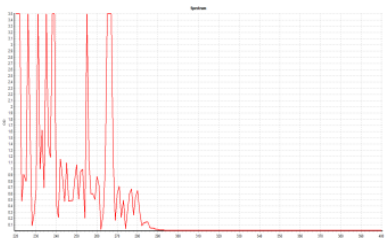
Day
14



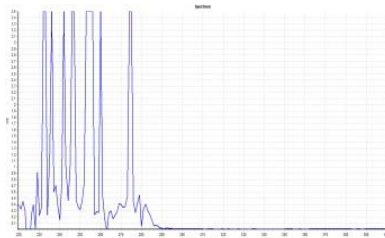
Day
21

ภาพที่ 4-64 (ต่อ)

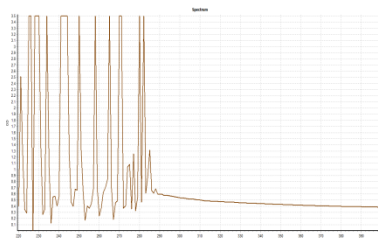
น้ำมันดีเซล



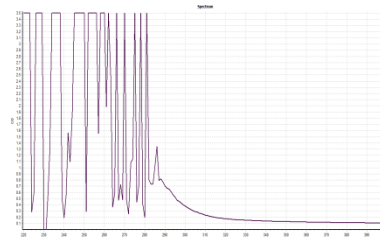
น้ำมันเบนซิน



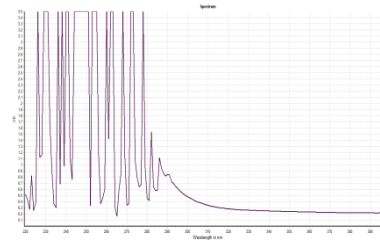
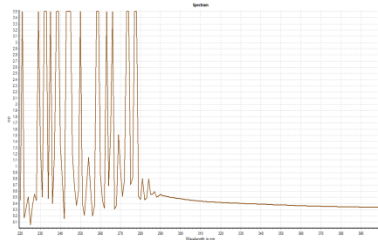
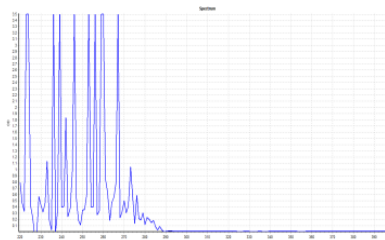
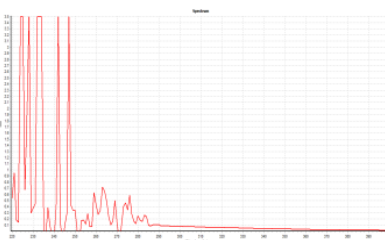
น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว



น้ำมันดิบ



Day
28



Day
35

ภาพที่ 4-65 (ต่อ)

15.4 การศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเกิดก๊าซทั้งหมดในปริมาณที่มากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน แต่พบการเพิ่มขึ้นและลดลงของก๊าซทั้งหมดใกล้เคียงกันในทุก 4 น้ำมัน (ตารางที่ 4-51)

ตารางที่ 4-51 ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 ชุด Active ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในชุด Active

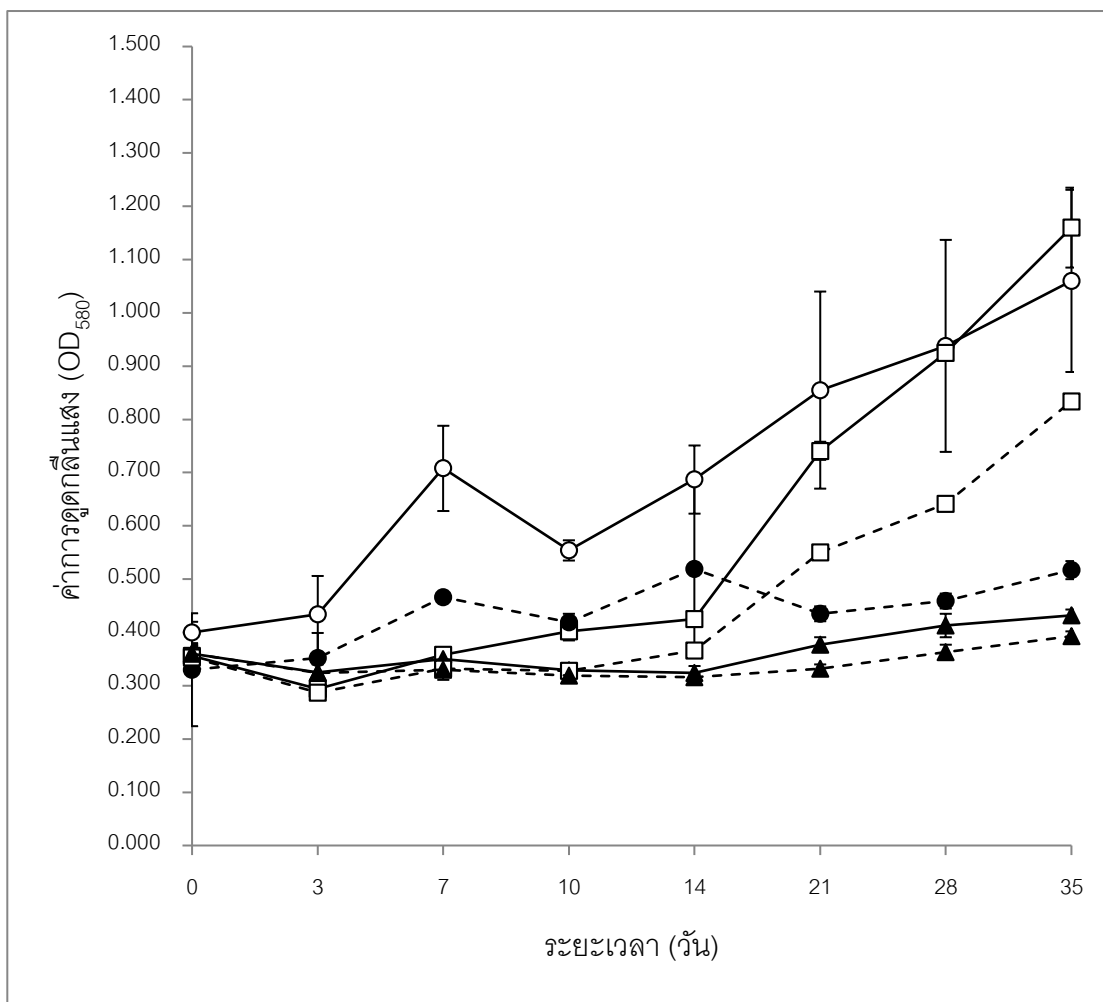
ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิลิตร) ($\bar{X} \pm SD$)							
	สภาวะมีออกซิเจน				สภาวะไม่มีออกซิเจน			
	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ	น้ำมัน ดีเซล	น้ำมัน เบนซิน	น้ำมัน เครื่องที่ ใช้แล้ว	น้ำมันดิบ
0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
3	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
7	2±1	3±2	2±1	0±0	1±1	2±1	1±0	0±0
10	2±1	3±2	1±0	0±0	1±0	2±2	1±1	0±0
14	3±1	3±1	2±0	0±0	1±0	2±1	2±0	0±0
21	2±2	3±2	1±1	1±0	1±1	3±1	1±0	1±0
28	1±1	1±1	1±0	1±1	1±0	2±0	1±1	1±0
35	1±1	2±1	1±0	1±0	1±0	1±1	1±0	1±0

การเปรียบเทียบการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

1. การเปรียบเทียบการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

1.1 การเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันดีเซล ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลทในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันดีเซล พบว่าภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 และสายพันธุ์ SD4 เจริญและมีอัตราการเจริญใกล้เคียงกันและมากกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 แต่แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 มีระยะเวลาในการปรับตัวน้อยที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 กับสายพันธุ์ SJ1#1 ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 เจริญและมีอัตราการเจริญมากที่สุด รองลงมาคือ แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 และสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ และแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และสายพันธุ์ SJ1#1 มีระยะเวลาในการปรับตัวใกล้เคียงกันและมากกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 (ภาพที่ 4-65 และตารางที่ 4-52, ตารางที่ 4-53)



ภาพที่ 4-65 ผลปริมาณแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน: (—○—) สายพันธุ์ SE1, (—□—) สายพันธุ์ SD4, (—▲—) สายพันธุ์ SJ1#1

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน: (—●—) สายพันธุ์ SE1, (—■—) สายพันธุ์ SD4, (—▲—) สายพันธุ์ SJ1#1

ตารางที่ 4-52 ปริมาณของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	SE1	SD4	SJ1#1	SE1	SD4	SJ1#1
0	0.400	0.356	0.360	0.330	0.353	0.360
	± 0.020	± 0.021	± 0.015	± 0.106	± 0.018	± 0.014
3	0.434	0.294	0.325	0.352	0.287	0.324
	± 0.072	± 0.007	± 0.015	± 0.047	± 0.023	± 0.018
7	0.708	0.358	0.350	0.466	0.332	0.330
	± 0.080	± 0.009	± 0.020	± 0.005	± 0.018	± 0.019
10	0.554	0.402	0.329	0.419	0.328	0.319
	± 0.019	± 0.017	± 0.012	± 0.016	± 0.008	± 0.006
14	0.687	0.425	0.324	0.519	0.366	0.316
	± 0.064	± 0.008	± 0.013	± 0.162	± 0.008	± 0.006
21	0.855	0.741	0.377	0.435	0.550	0.332
	± 0.185	± 0.017	± 0.014	± 0.014	± 0.031	± 0.008
28	0.938 \pm	0.925	0.413	0.459	0.641	0.363
	0.199	± 0.008	± 0.022	± 0.014	± 0.018	± 0.014
35	1.060	1.160	0.432	0.517	0.834	0.393
	± 0.171	± 0.075	± 0.011	± 0.017	± 0.025	± 0.009

ตารางที่ 4-53 อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล

ไอโซเลท	สภาวะมีออกซิเจน		สภาวะไม่มีออกซิเจน	
	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)
SE1	0.017162	10	0.005352	21
SD4	0.022962	14	0.013743	14
SJ1#1	0.002048	14	0.000933	14

1.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล ของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่า ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายจนลักษณะทางกายภาพเปลี่ยนแปลงไปได้มากที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ดังแสดงในตารางที่ 4-54 และภาพที่ 4-66, ภาพที่ 4-67

ตารางที่ 4-54 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล จากการย่อยสลายของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในชุด Active ทั้งสถานะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน					
	สถานะมีออกซิเจน			สถานะไม่มีออกซิเจน		
	SE1	SD4	SJ1#1	SE1	SD4	SJ1#1
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	4+	5+	5+	4+	5+	5+
7	3+	4+	5+	3+	5+	5+
10	3+	4+	5+	3+	5+	5+
14	2+	3+	4+	3+	4+	5+
21	2+	2+	4+	2+	3+	4+
28	2+	2+	3+	2+	3+	4+
35	1+	2+	2+	2+	2+	3+

หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

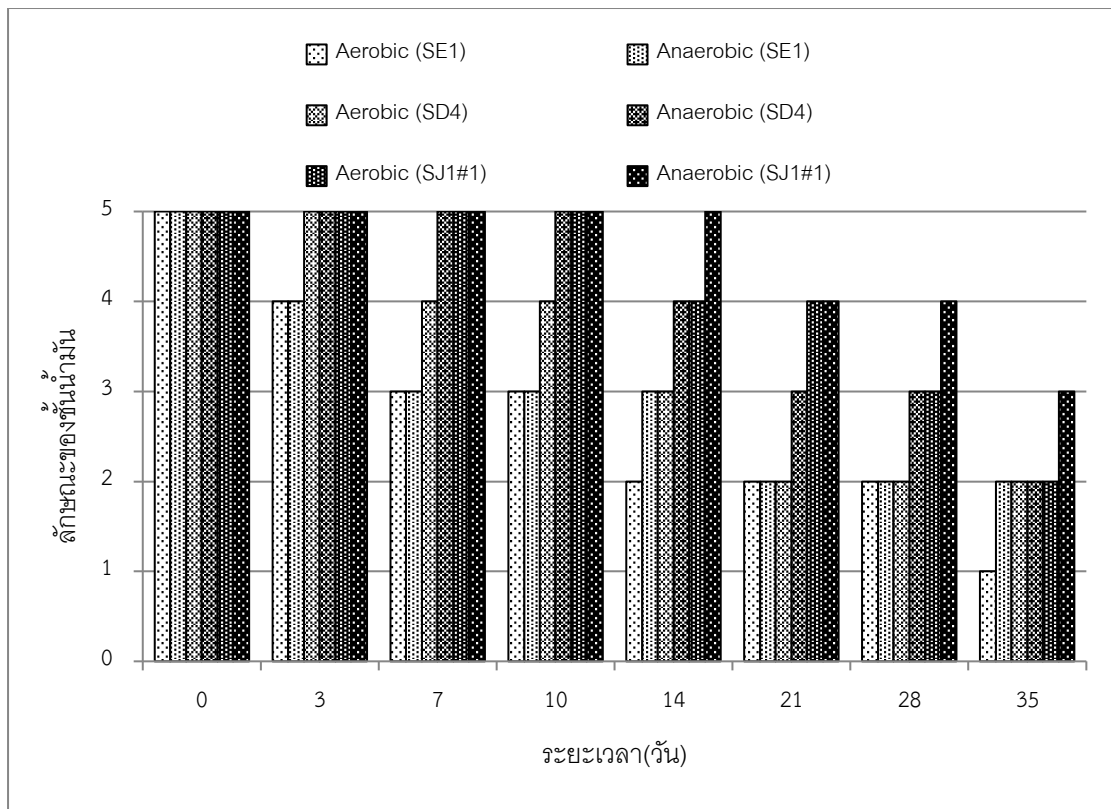
4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดีเซลลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันดีเซลนจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม

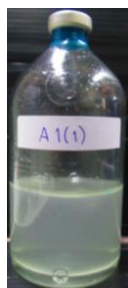
0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันดีเซล



ภาพที่ 4-66 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซล จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน



ภาพที่ 4-67 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลในชุด Active ในการย่อยสลายของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน
 หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน :A1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C1 หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน : A2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C2 หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1



A1) (14 day)



B1) (14 day)



C1) (14 day)



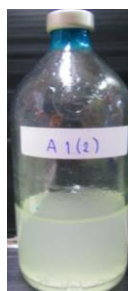
A2) (14 day)



B2) (14 day)



C2) (14 day)



A1) (21 day)



B1) (21 day)



C1) (21 day)



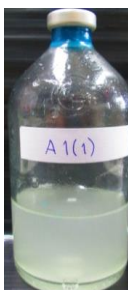
A2) (21 day)



B2) (21 day)



C2) (21 day)



A1) (28 day)



B1) (28 day)



C1) (28 day)



A2) (28 day)



B2) (28 day)



C2) (28 day)



A1) (35 day)



B1) (35 day)



C1) (35 day)



A2) (35 day)



B2) (35 day)

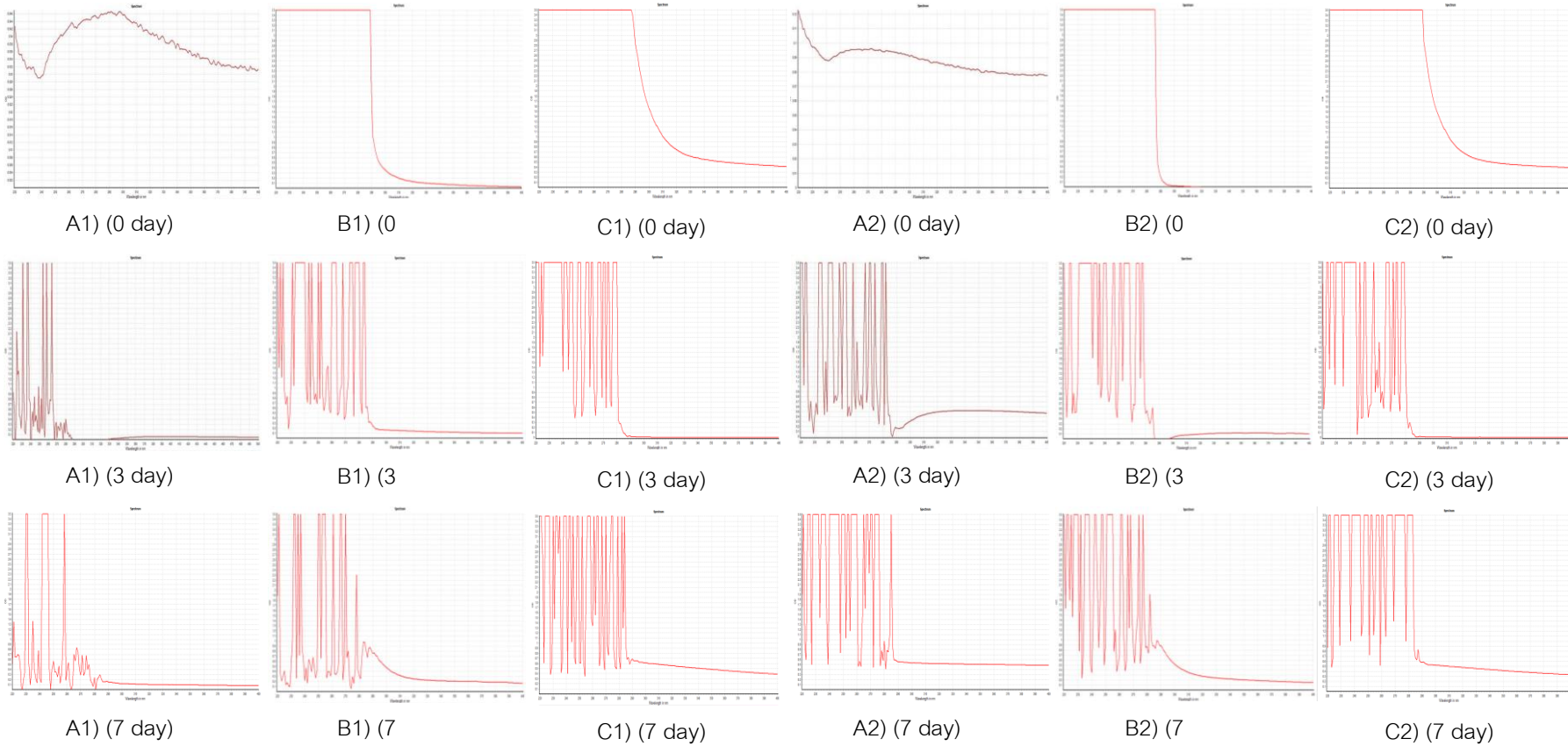


C2) (35 day)

ภาพที่ 4-67 (ต่อ)

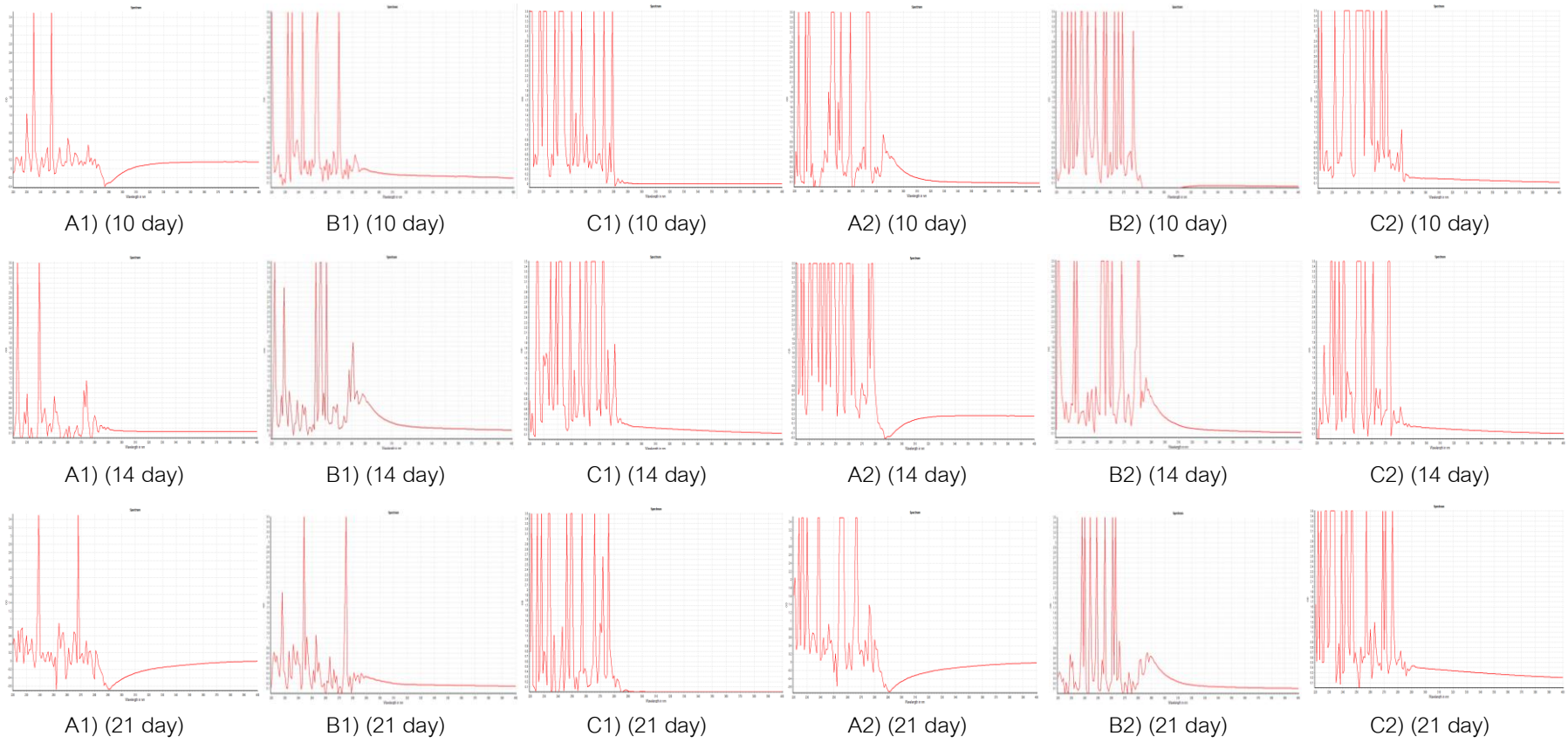
1.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่าภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 สามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 และสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4-68

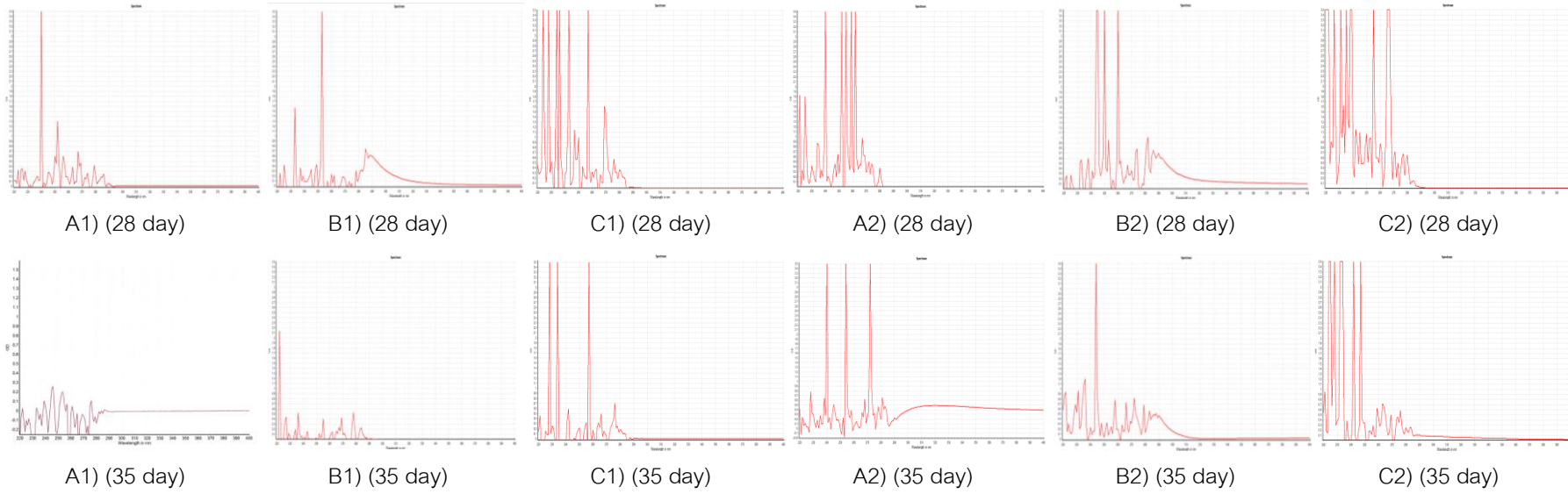


ภาพที่ 4-68 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน : A1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1
 สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน : A2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1



ภาพที่ 4-68 (ต่อ)



ภาพที่ 4-68 (ต่อ)

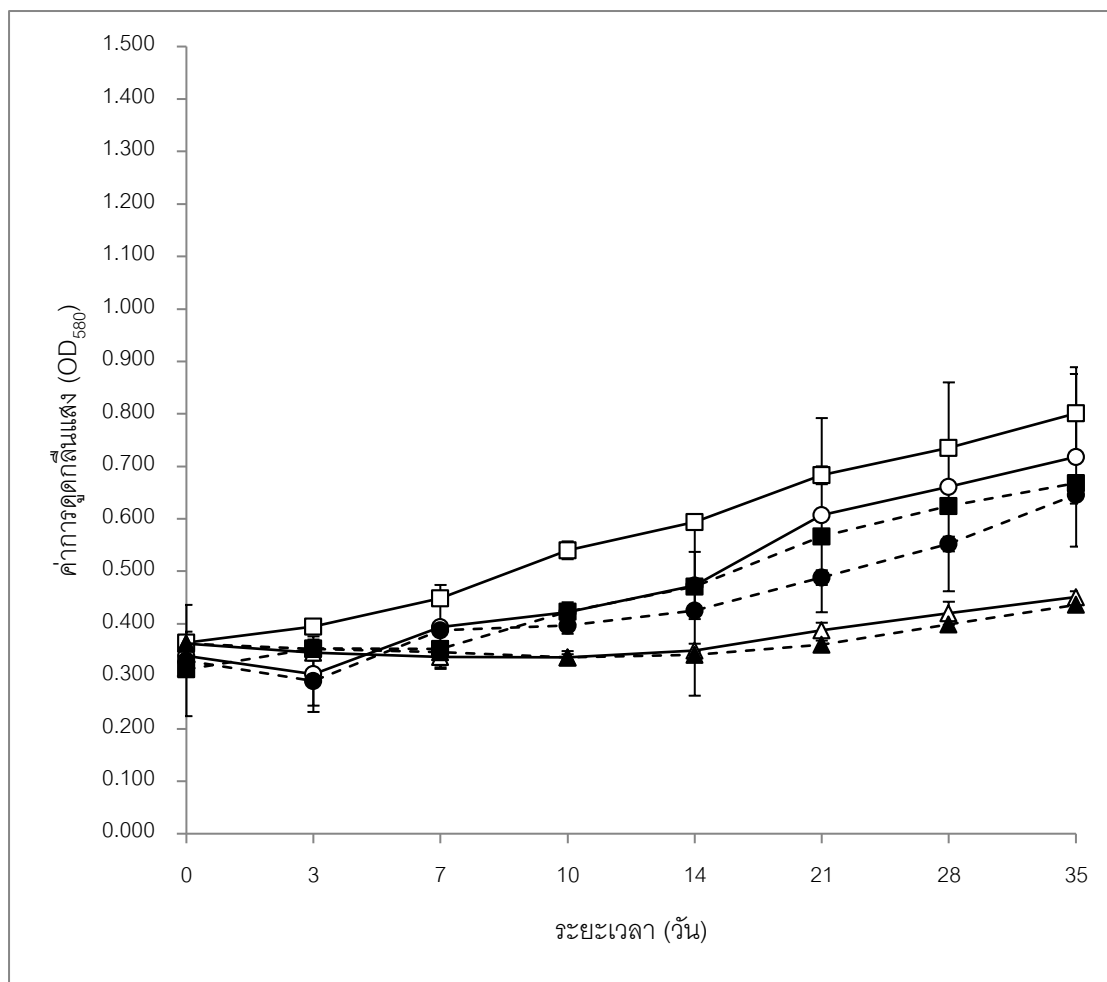
2. การศึกษาการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

2.1 การเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันเบนซิน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลทในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันเบนซิน พบว่าในทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 และสายพันธุ์ SD4 เจริญและมีอัตราการเจริญใกล้เคียงกันและมากกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 แต่แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 มีระยะเวลาในการปรับตัวน้อยที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 และสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ (ตารางที่ 4-55, ตารางที่ 4-56 และภาพที่ 4-69)

ตารางที่ 4-55 ปริมาณของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะที่มีออกซิเจน			สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน		
	SE1	SD4	SJ1#1	SE1	SD4	SJ1#1
0	0.339	0.364	0.362	0.330	0.313	0.362
	± 0.011	± 0.011	± 0.002	± 0.002	± 0.028	± 0.002
3	0.304	0.395	0.345	0.291	0.353	0.352
	± 0.009	± 0.008	± 0.004	± 0.005	± 0.006	± 0.003
7	0.394	0.449	0.337	0.388	0.352	0.346
	± 0.006	± 0.028	± 0.003	± 0.004	± 0.008	± 0.004
10	0.422	0.540	0.336	0.397	0.423	0.336
	± 0.007	± 0.003	± 0.003	± 0.003	± 0.006	± 0.005
14	0.473	0.594	0.349	0.425	0.471	0.341
	± 0.006	± 0.009	± 0.003	± 0.009	± 0.013	± 0.004
21	0.607	0.683	0.388	0.488	0.567	0.360
	± 0.018	± 0.008	± 0.014	± 0.014	± 0.018	± 0.007
28	0.661	0.735	0.420	0.553	0.624	0.399
	± 0.020	± 0.009	± 0.020	± 0.018	± 0.036	± 0.011
35	0.718	0.801	0.451	0.646	0.668	0.436
	± 0.015	± 0.018	± 0.008	± 0.022	± 0.003	± 0.013



ภาพที่ 4-69 ผลปริมาณแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน: (○) สายพันธุ์SE1, (□) สายพันธุ์SD4, (△) สายพันธุ์SJ1#1
 สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน: (●) สายพันธุ์SE1, (■) สายพันธุ์SD4, (▲) สายพันธุ์SJ1#1

ตารางที่ 4-56 อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน

ไอโซเลท	สภาวะมีออกซิเจน		สภาวะไม่มีออกซิเจน	
	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)
SE1	0.010848	7	0.009029	10
SD4	0.012467	3	0.010133	7
SJ1#1	0.002533	14	0.002105	10

2.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน ของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่า ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายจนลักษณะทางกายภาพเปลี่ยนแปลงไปได้มากที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-57 และภาพที่ 4-69, ภาพที่ 4-70)

ตารางที่ 4-57 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน จากการย่อยสลายของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในชุด Active ทั้งสถานะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน					
	สถานะมีออกซิเจน			สถานะไม่มีออกซิเจน		
	SE1	SD4	SJ1#1	SE1	SD4	SJ1#1
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	4+	5+	5+	4+	5+	5+
7	4+	5+	5+	4+	5+	5+
10	3+	4+	5+	4+	5+	5+
14	2+	4+	4+	3+	4+	5+
21	1+	3+	4+	2+	3+	4+
28	1+	2+	4+	2+	3+	4+
35	1+	2+	3+	2+	2+	3+

หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

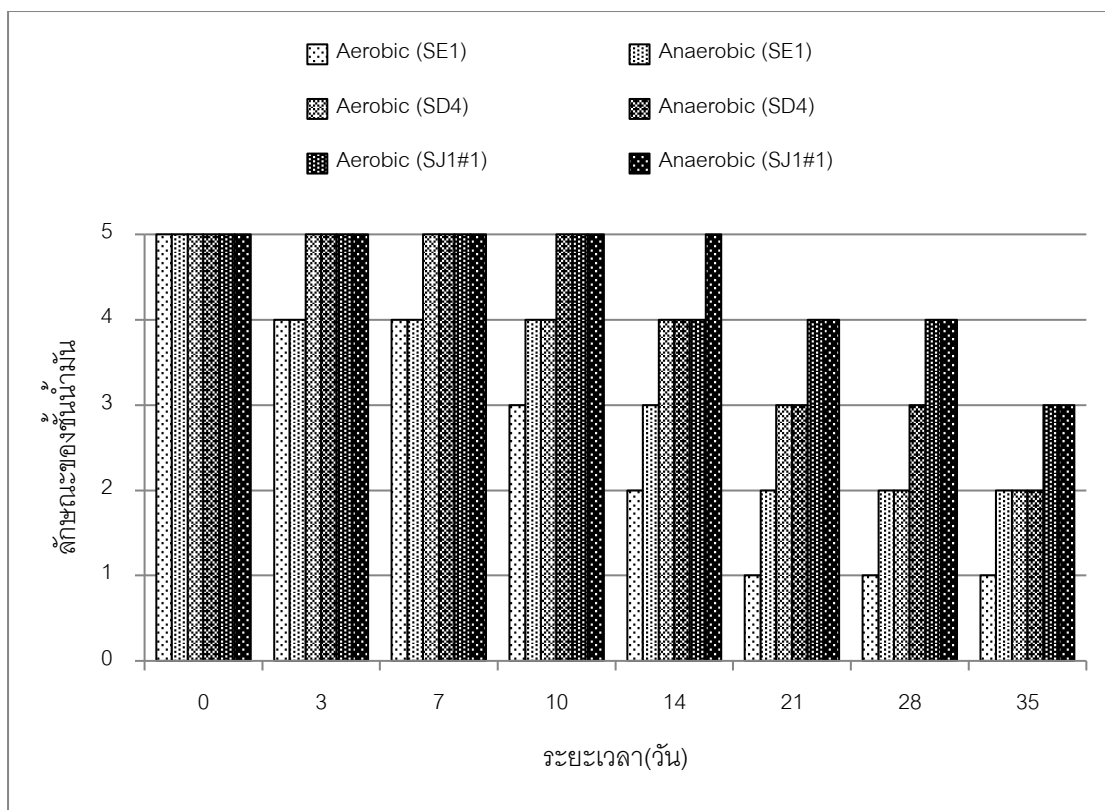
4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน

3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

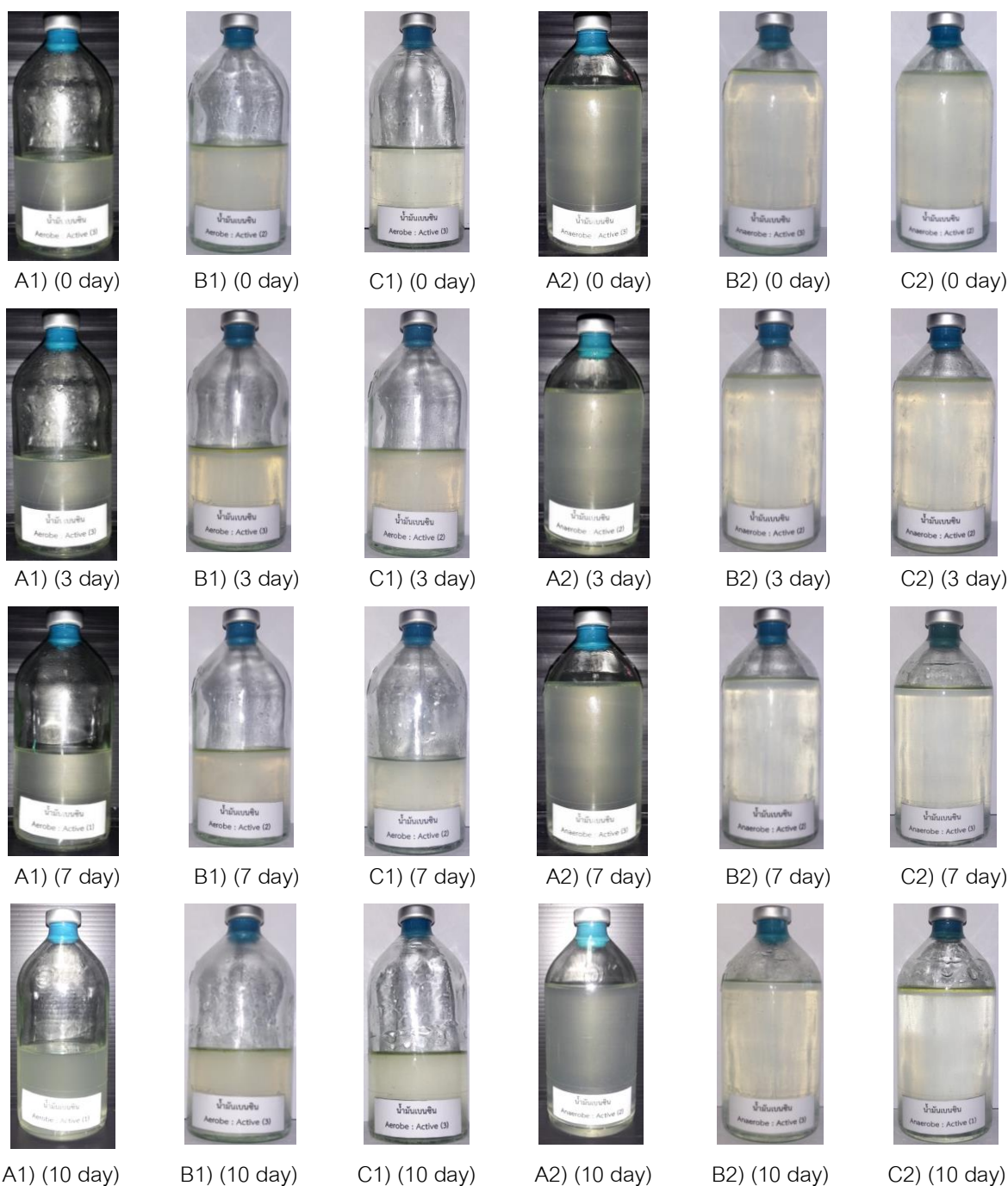
2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเบนซินลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร

1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันเบนซินจาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม

0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันเบนซิน



ภาพที่ 4-70 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซิน จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรีย ทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน



ภาพที่ 4-71 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเบนซินในชุด Active ในการย่อยสลายของแบคทีเรีย ทั้ง 3 โยสเลทภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน
 หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน : A1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C1 หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน : A2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C2 หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1



A1) (14 day)



B1) (14 day)



C1) (14 day)



A2) (14 day)



B2) (14 day)



C2) (14 day)



A1) (21 day)



B1) (21 day)



C1) (21 day)



A2) (21 day)



B2) (21 day)



C2) (21 day)



A1) (28 day)



B1) (28 day)



C1) (28 day)



A2) (28 day)



B2) (28 day)



C2) (28 day)



A1) (35 day)



B1) (35 day)



C1) (35 day)



A2) (35 day)



B2) (35 day)

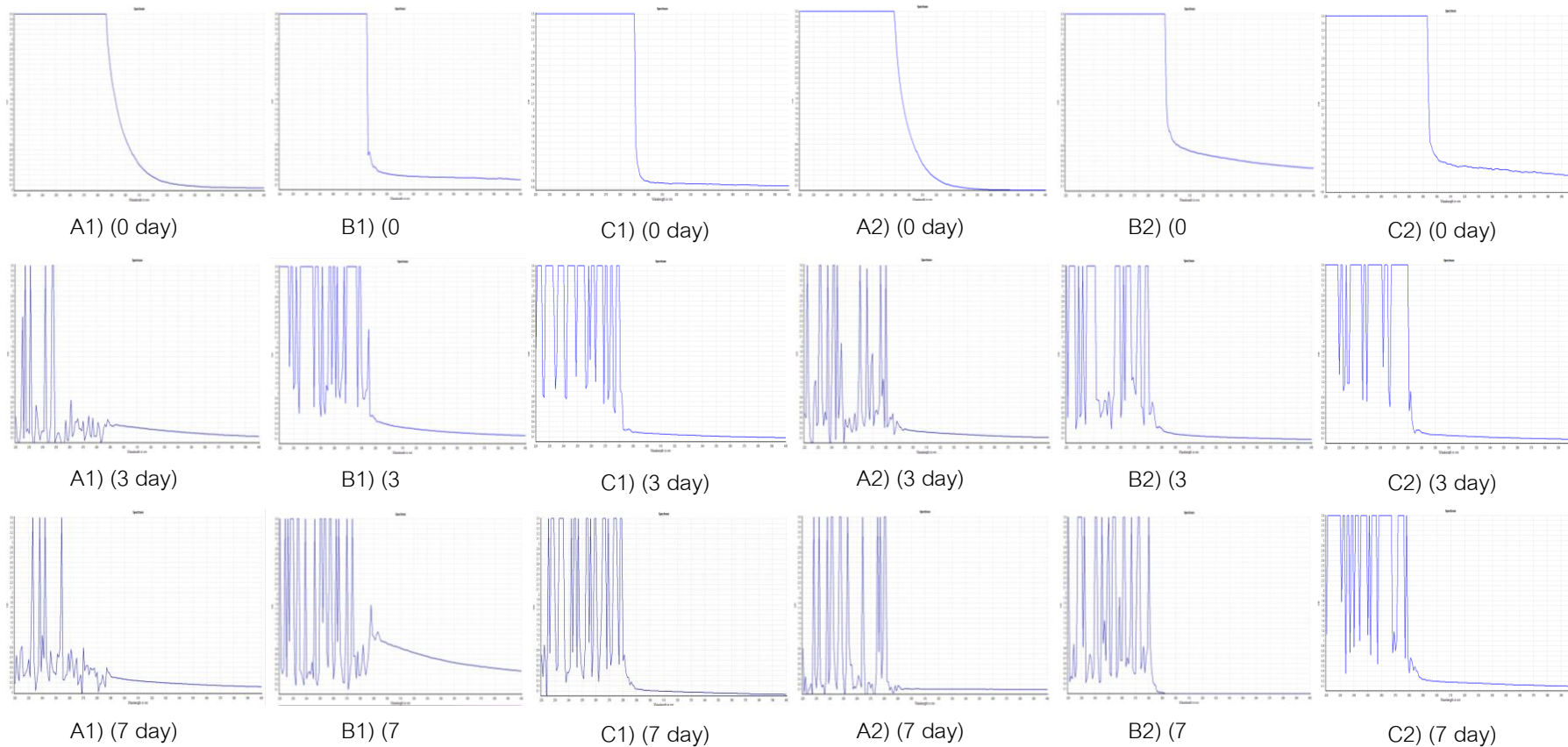


C2) (35 day)

ภาพที่ 4-71 (ต่อ)

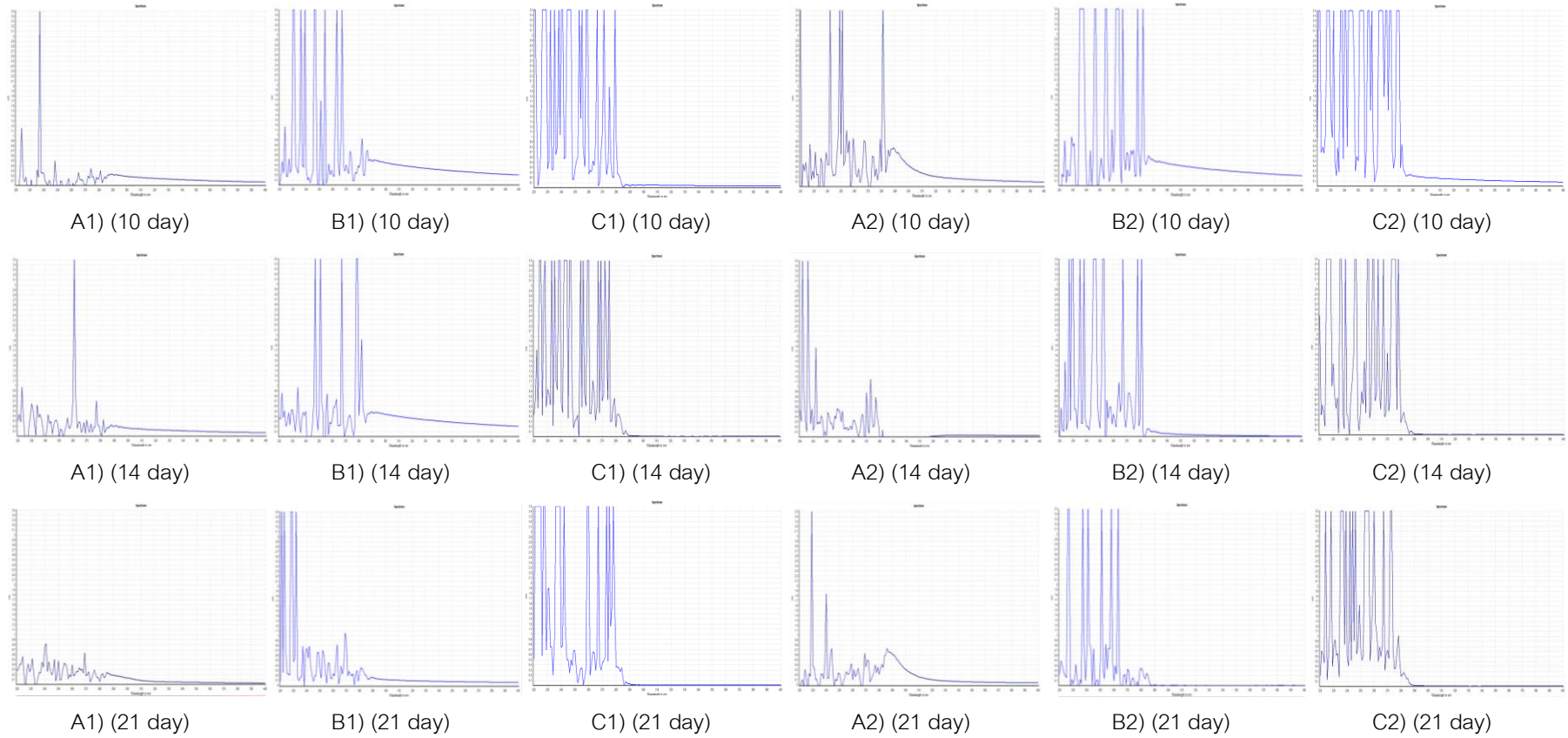
2.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่าในทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายน้ำมันเบนซินได้ดีที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ และเริ่มเกิดการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และ แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายน้ำมันเบนซินภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนจนไม่สามารถตรวจพื้คตั้งแต่วันที่ 21 ของการทดลอง ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนไม่สามารถตรวจพบพื้คในวันสุดท้ายของการทดลอง (ภาพที่ 4-72)

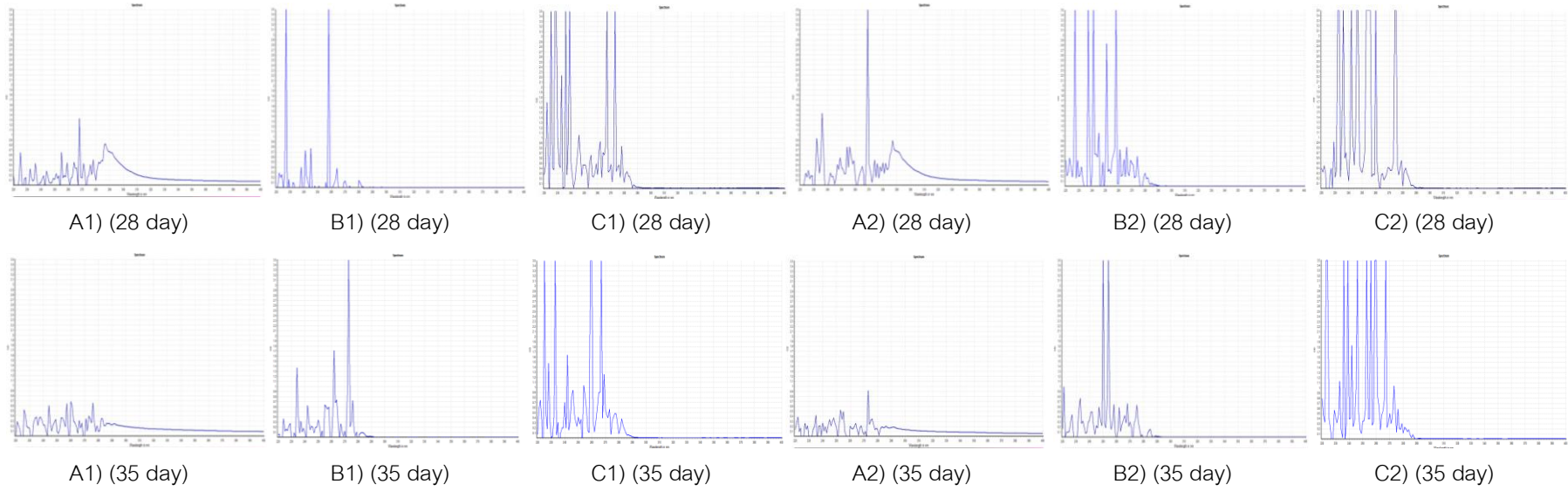


ภาพที่ 4-72 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน : A1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1
 สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน : A2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1



ภาพที่ 4-72 (ต่อ)



ภาพที่ 4-73 (ต่อ)

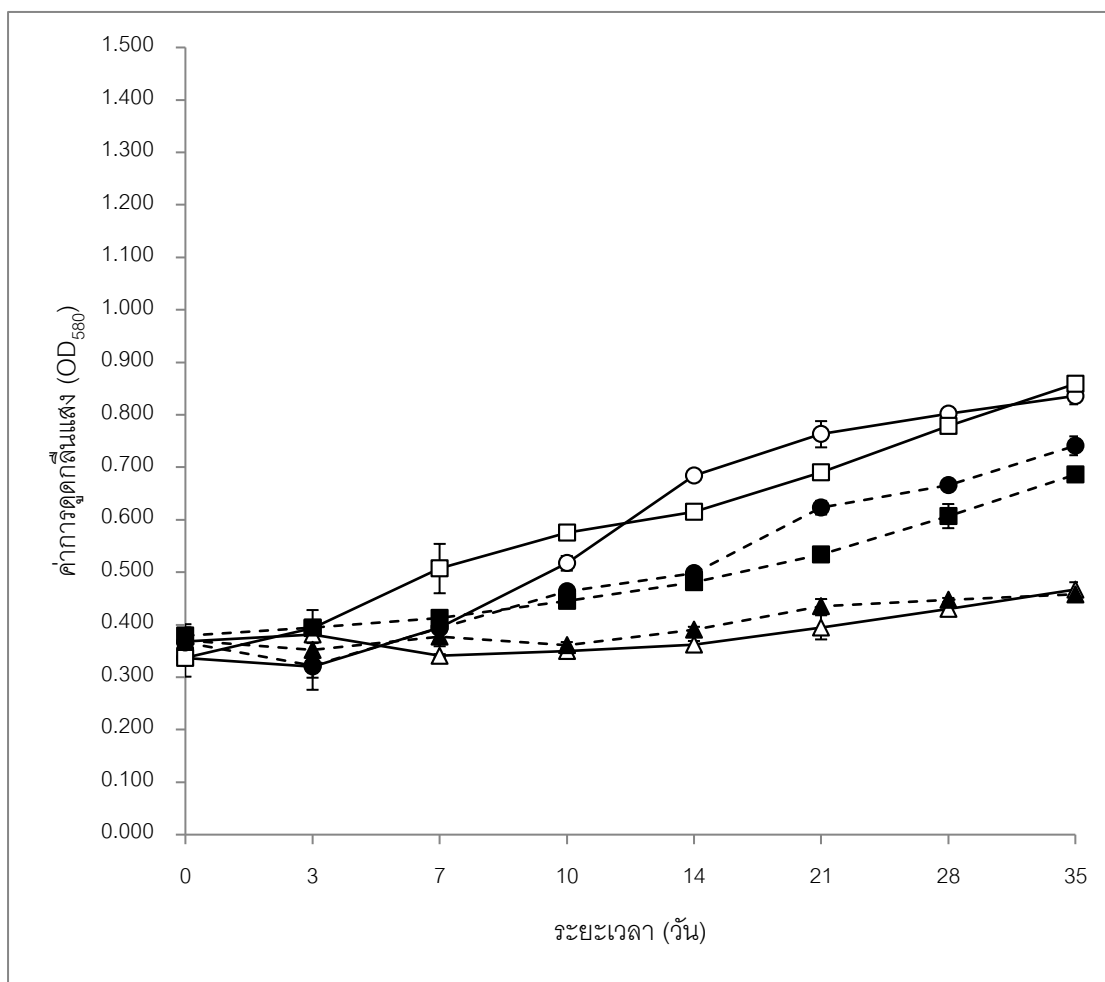
3. การศึกษาการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

3.1 การเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลทในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว พบว่าในทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 และสายพันธุ์ SD4 เจริญและมีอัตราการเจริญใกล้เคียงกันและมากกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 แต่แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 มีระยะเวลาในการปรับตัวน้อยที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 และสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4-58 และตารางที่ 4-59 และภาพที่ 4-73

ตารางที่ 4-58 ปริมาณของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะมีออกซิเจน			สภาวะไม่มีออกซิเจน		
	SE1	SD4	SJ1#1	SE1	SD4	SJ1#1
0	0.337	0.337	0.368	0.366	0.379	0.370
	± 0.036	± 0.006	± 0.016	± 0.035	± 0.005	± 0.025
3	0.320	0.393	0.381	0.322	0.395	0.352
	± 0.001	± 0.004	± 0.016	± 0.023	± 0.005	± 0.076
7	0.394	0.507	0.341	0.393	0.413	0.377
	± 0.005	± 0.047	± 0.003	± 0.006	± 0.009	± 0.018
10	0.517	0.575	0.350	0.464	0.445	0.361
	± 0.014	± 0.008	± 0.006	± 0.008	± 0.011	± 0.006
14	0.684	0.615	0.362	0.498	0.481	0.390
	± 0.007	± 0.010	± 0.007	± 0.004	± 0.014	± 0.006
21	0.763	0.690	0.395	0.623	0.534	0.435
	± 0.025	± 0.009	± 0.023	± 0.013	± 0.011	± 0.014
28	0.802	0.779	0.430	0.666	0.607	0.447
	± 0.009	± 0.008	± 0.008	± 0.009	± 0.023	± 0.004
35	0.836	0.859	0.467	0.741	0.686	0.458
	± 0.016	± 0.024	± 0.014	± 0.018	± 0.010	± 0.003



ภาพที่ 4-73 ผลปริมาณแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน: (○) สายพันธุ์SE1, (□) สายพันธุ์SD4, (△) สายพันธุ์SJ1#1
 สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน: (●) สายพันธุ์SE1, (■) สายพันธุ์SD4, (▲) สายพันธุ์SJ1#1

ตารางที่ 4-59 อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว

สายพันธุ์	สภาวะมีออกซิเจน		สภาวะไม่มีออกซิเจน	
	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)
SE1	0.014248	7	0.010724	14
SD4	0.013771	3	0.008771	7
SJ1#1	0.002829	10	0.002505	10

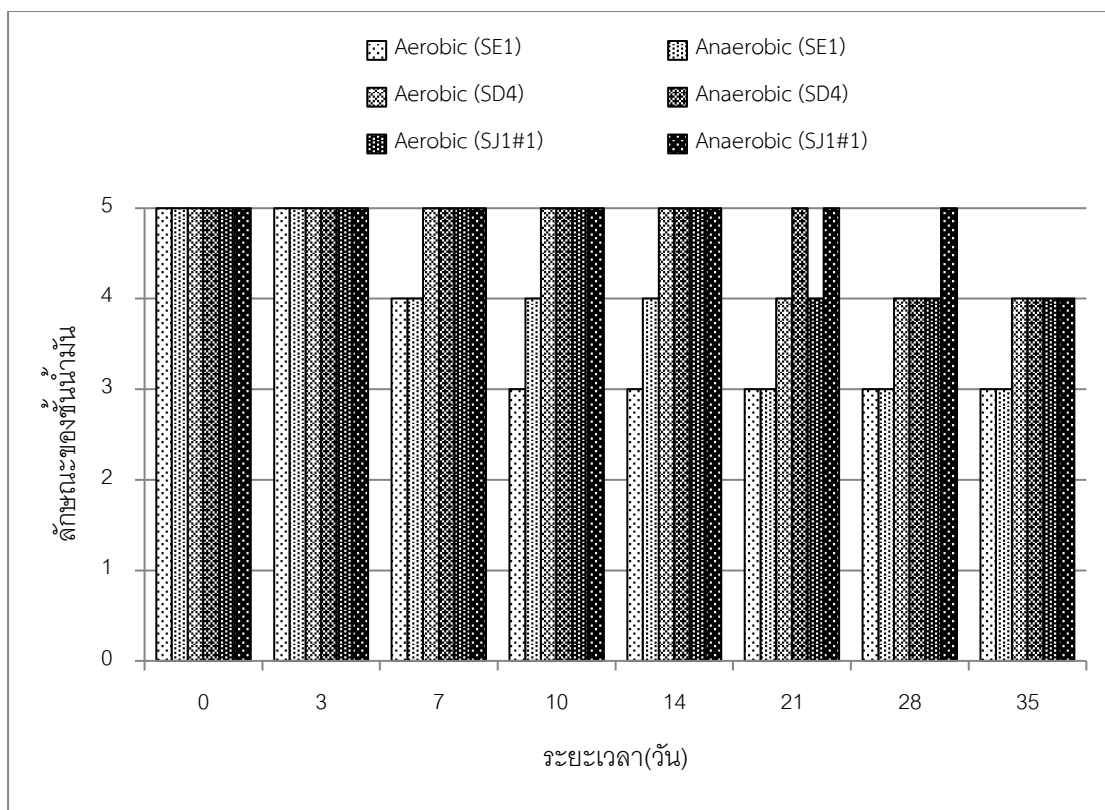
3.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายจนลักษณะทางกายภาพเปลี่ยนแปลงไปได้มากที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 กับสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-60 และภาพที่ 4-74 และภาพที่ 4-75)

ตารางที่ 4-60 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว จากการย่อยสลายของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสถานะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน					
	สถานะมีออกซิเจน			สถานะไม่มีออกซิเจน		
	SE1	SD4	SJ1#1	SE1	SD4	SJ1#1
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	4+	5+	5+	4+	5+	5+
10	3+	5+	5+	4+	5+	5+
14	3+	5+	5+	4+	5+	5+
21	3+	4+	4+	3+	5+	5+
28	3+	4+	4+	3+	4+	5+
35	3+	4+	4+	3+	4+	4+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้ อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว จาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว



ภาพที่ 4-74 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว จากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน



ภาพที่ 4-75 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วในชุด Active ในการย่อยสลายของ
 แบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลทภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน
 หมายถึง สภาวะที่มีออกซิเจน :A1 หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4
 และ C1 หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน : A2) หมายถึง แบคทีเรียสาย
 พันธุ์ SE1, B2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C2 หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1



A1) (14 day)



B1) (14 day)



C1) (14 day)



A2) (14 day)



B2) (14 day)



C2) (14 day)



A1) (21 day)



B1) (21 day)



C1) (21 day)



A2) (21 day)



B2) (21 day)



C2) (21 day)



A1) (28 day)



B1) (28 day)



C1) (28 day)



A2) (28 day)



B2) (28 day)



C2) (28 day)



A1) (35 day)



B1) (35 day)



C1) (35 day)



A2) (35 day)



B2) (35 day)



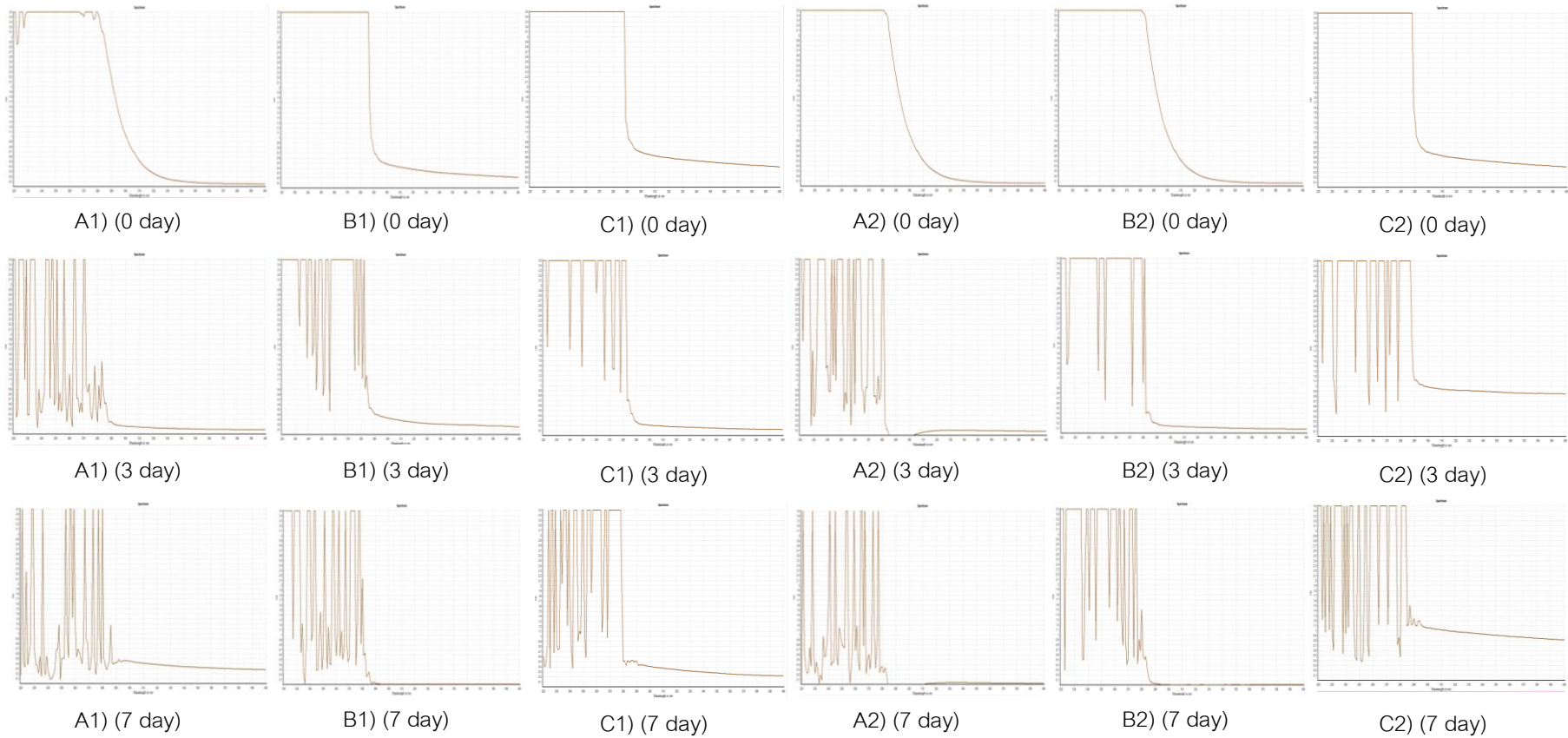
C2) (35 day)

ภาพที่ 4-75 (ต่อ)

3.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียทั้ง 3

สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

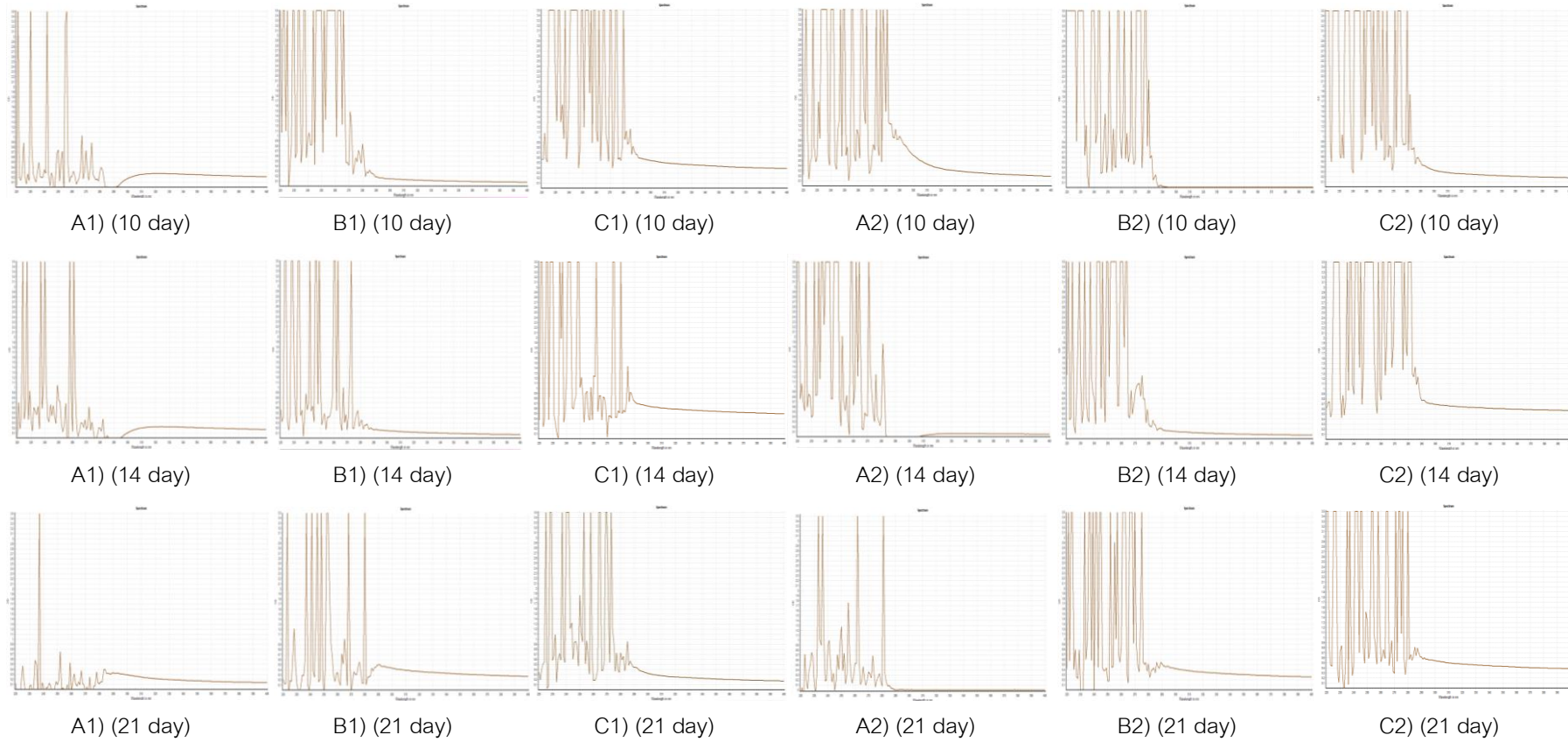
จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่าในทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วได้ดีที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ และเริ่มเกิดการย่อยสลายตั้งแต่วันที่ 3 ของการทดลอง และ แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนจนไม่สามารถตรวจพืคตั้งแต่วันที่ 28 ของการทดลอง ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนยังสามารถตรวจพืคได้ในวันสุดท้ายของการทดลองดังแสดงในภาพที่ 4-76



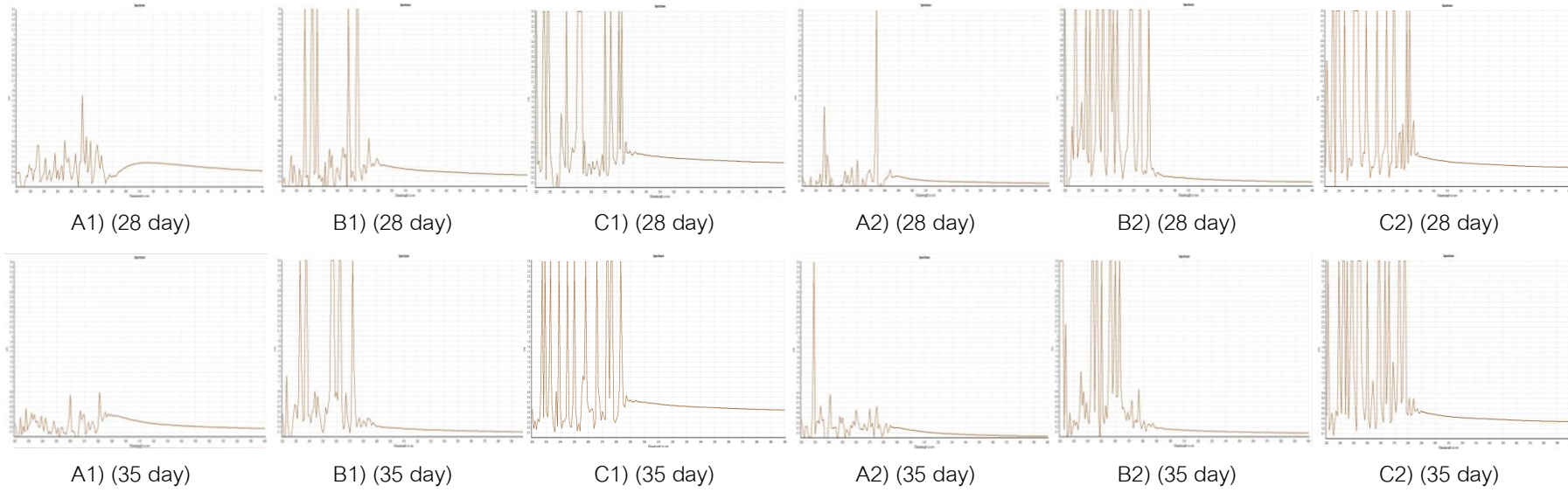
ภาพที่ 4-76 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน : A1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน : A2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1



ภาพที่ 4-76 (ต่อ)



ภาพที่ 4-76 (ต่อ)

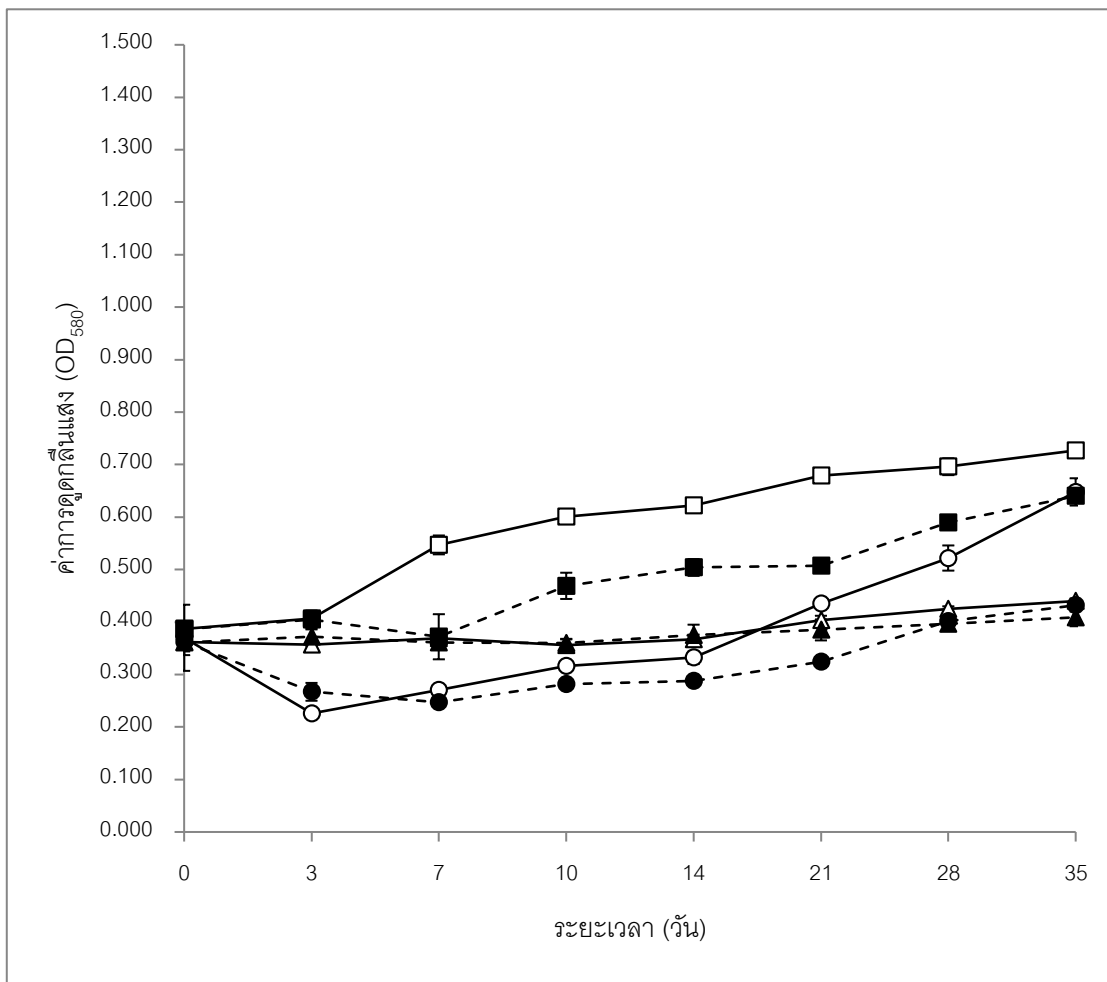
4. การศึกษาการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

4.1 การเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันดิบ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำมันดิบ พบว่าในทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 เจริญและมีอัตราการเจริญสูงที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 และสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ แต่แบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ มีระยะเวลาในการปรับตัวใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 4-61, ตารางที่ 4-62 และภาพที่ 4-76)

ตารางที่ 4-61 ปริมาณของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ (OD_{580}) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดิบ

ระยะเวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD_{580}) ($\bar{X} \pm SD$)					
	สภาวะที่มีออกซิเจน			สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน		
	SE1	SD4	SJ1#1	SE1	SD4	SJ1#1
0	0.370	0.387	0.362	0.362	0.386	0.361
	± 0.063	± 0.009	± 0.004	± 0.025	± 0.012	± 0.017
3	0.226	0.407	0.357	0.267	0.405	0.372
	± 0.008	± 0.013	± 0.003	± 0.017	± 0.017	± 0.014
7	0.270	0.547	0.369	0.247	0.372	0.361
	± 0.007	± 0.018	± 0.007	± 0.008	± 0.043	± 0.009
10	0.316	0.601	0.356	0.282	0.469	0.360
	± 0.007	± 0.011	± 0.012	± 0.006	± 0.025	± 0.007
14	0.332	0.622	0.367	0.288	0.504	0.375
	± 0.012	± 0.003	± 0.009	± 0.006	± 0.016	± 0.020
21	0.435	0.679	0.404	0.324	0.507	0.385
	± 0.005	± 0.009	± 0.008	± 0.007	± 0.004	± 0.020
28	0.522	0.696	0.425	0.402	0.590	0.397
	± 0.024	± 0.016	± 0.005	± 0.017	± 0.011	± 0.011
35	0.648	0.727	0.440	0.432	0.640	0.409
	± 0.026	± 0.013	± 0.005	± 0.012	± 0.006	± 0.017



ภาพที่ 4-77 ผลปริมาณแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดิบ

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน: (○) สายพันธุ์SE1, (□) สายพันธุ์SD4, (△) สายพันธุ์SJ1#1
 สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน: (●) สายพันธุ์SE1, (■) สายพันธุ์SD4, (▲) สายพันธุ์SJ1#1

ตารางที่ 4-62 อัตราการเจริญ (Growth rate) และระยะเวลาการปรับตัว (Acclimation time) ของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในชุด Active ในการย่อยสลายน้ำมันดิบ

ไอโซเลท	สภาวะมีออกซิเจน		สภาวะไม่มีออกซิเจน	
	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)	อัตราการเจริญ (OD ₅₈₀ /วัน)	ระยะเวลาการปรับตัว (วัน)
SE1	0.007943	14	0.002229	21
SD4	0.009705	14	0.00719	28
SJ1#1	0.002229	14	0.001362	28

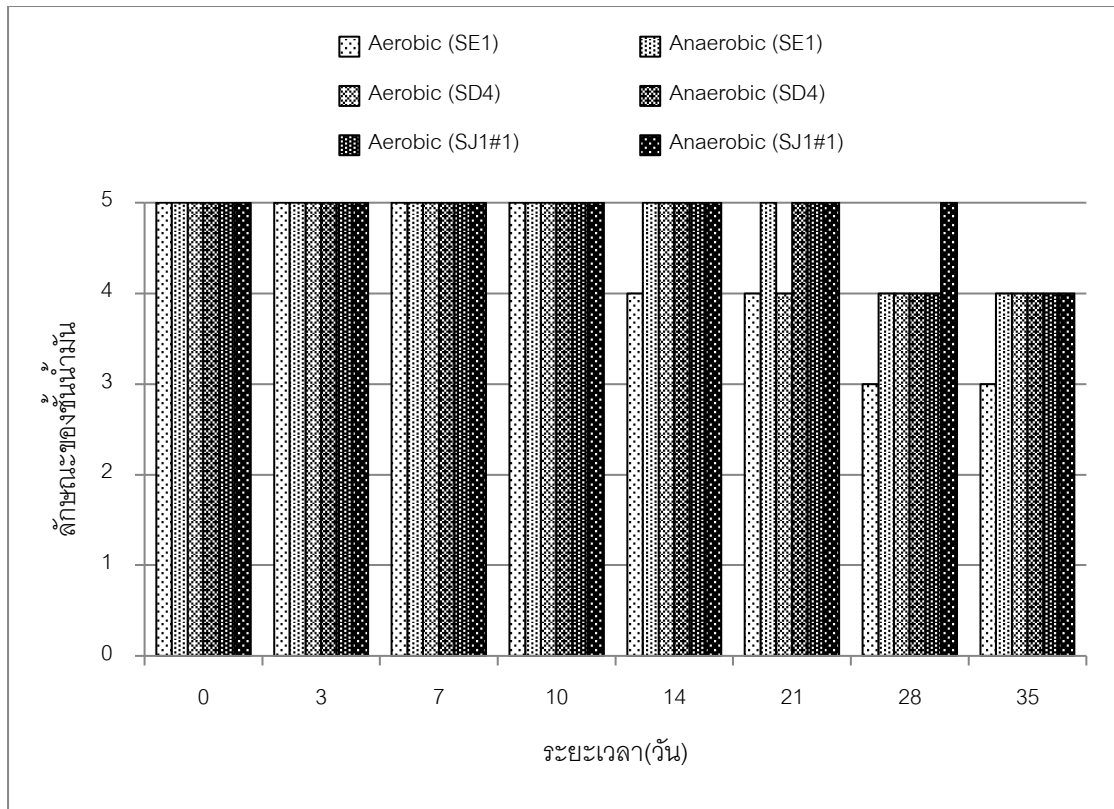
4.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ ในการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายจนลักษณะทางกายภาพเปลี่ยนแปลงไปได้มากที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และสายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (ตารางที่ 4-63 และภาพที่ 4-78 และภาพที่ 4-79)

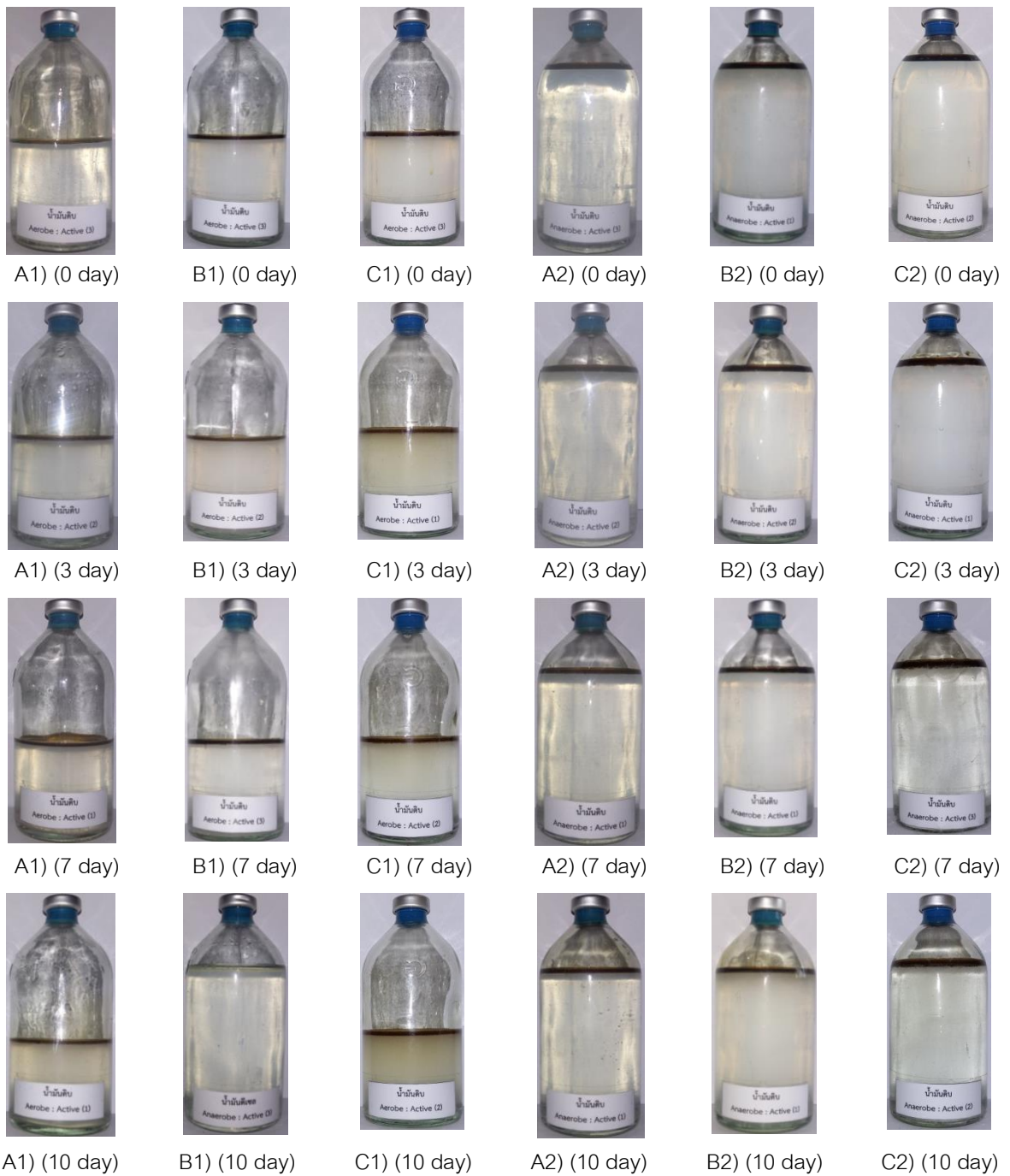
ตารางที่ 4-63 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบ จากการย่อยสลายของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์
ในชุด Active ทั้งสถานะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน					
	สถานะมีออกซิเจน			สถานะไม่มีออกซิเจน		
	SE1	SD4	SJ1#1	SE1	SD4	SJ1#1
0	5+	5+	5+	5+	5+	5+
3	5+	5+	5+	5+	5+	5+
7	5+	5+	5+	5+	5+	5+
10	5+	5+	5+	5+	5+	5+
14	4+	5+	5+	5+	5+	5+
21	4+	4+	5+	5+	5+	5+
28	3+	4+	4+	4+	4+	5+
35	3+	4+	4+	4+	4+	4+

- หมายเหตุ 5+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบไม่รวมตัวกับน้ำ สังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 4+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจน
- 3+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบลดลงอย่างมาก เหลือเป็นชั้นบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 2+ หมายถึง ลักษณะของชั้นน้ำมันดิบลดลงอย่างเห็นได้ชัด เหลือเป็นคราบฟิล์มบาง ๆ ที่ผิวหน้าอาหาร
- 1+ หมายถึง สังเกตพบเพียงคราบน้ำมันดิบบาง ๆ บริเวณขอบขวดซีรัม
- 0 หมายถึง ไม่พบน้ำมันดิบ



ภาพที่ 4-78 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบจากการย่อยสลายทางชีวภาพของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ในชุด Active ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน



ภาพที่ 4-79 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดิบในชุด Active ในการย่อยสลายของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน :A1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C1 หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1 สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน : A2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C2 หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1



A1) (14 day)



B1) (14 day)



C1) (14 day)



A2) (14 day)



B2) (14 day)



C2) (14 day)



A1) (21 day)



B1) (21 day)



C1) (21 day)



A2) (21 day)



B2) (21 day)



C2) (21 day)



A1) (28 day)



B1) (28 day)



C1) (28 day)



A2) (28 day)



B2) (28 day)



C2) (28 day)



A1) (35 day)



B1) (35 day)



C1) (35 day)



A2) (35 day)



B2) (35 day)

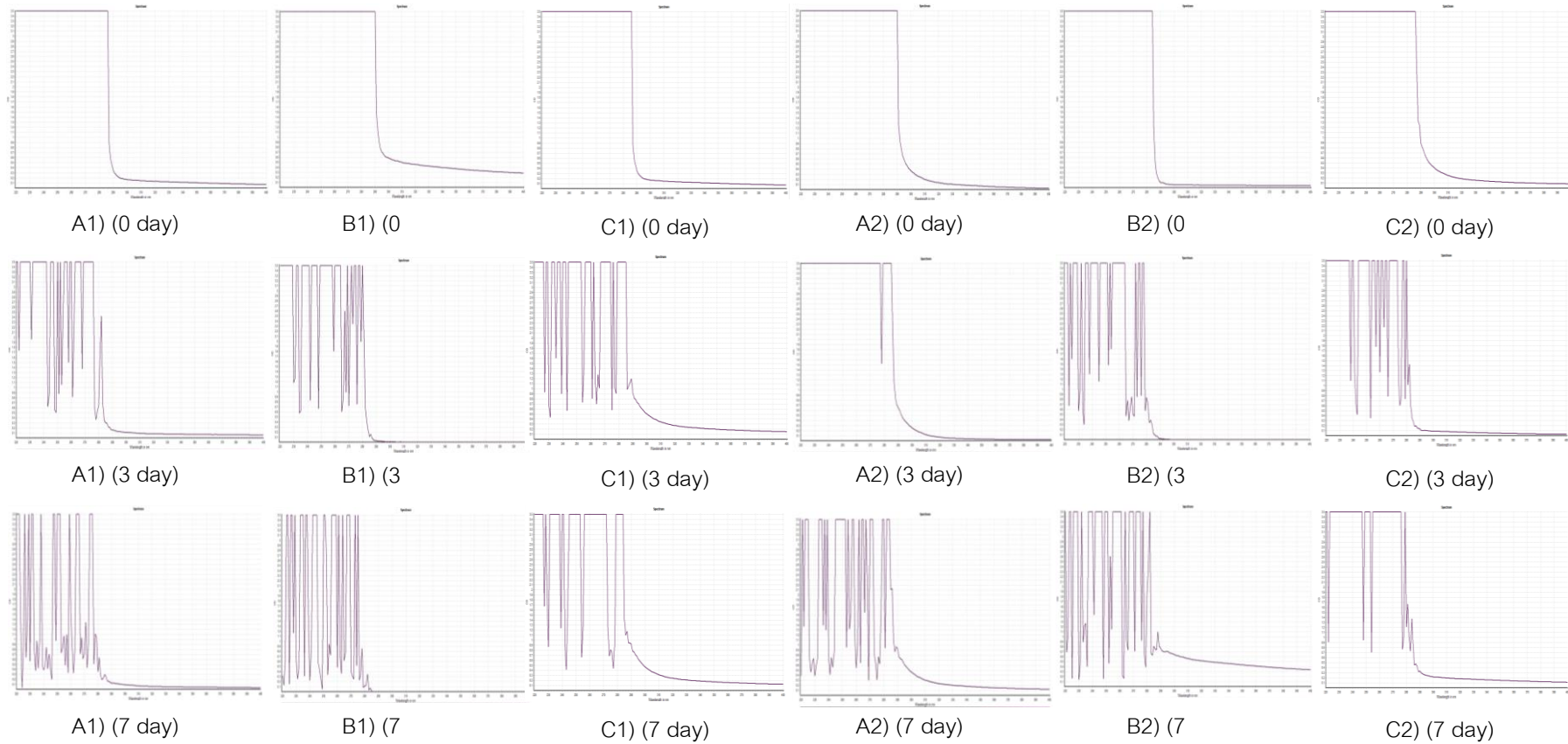


C2) (35 day)

ภาพที่ 4-80 (ต่อ)

4.3 การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

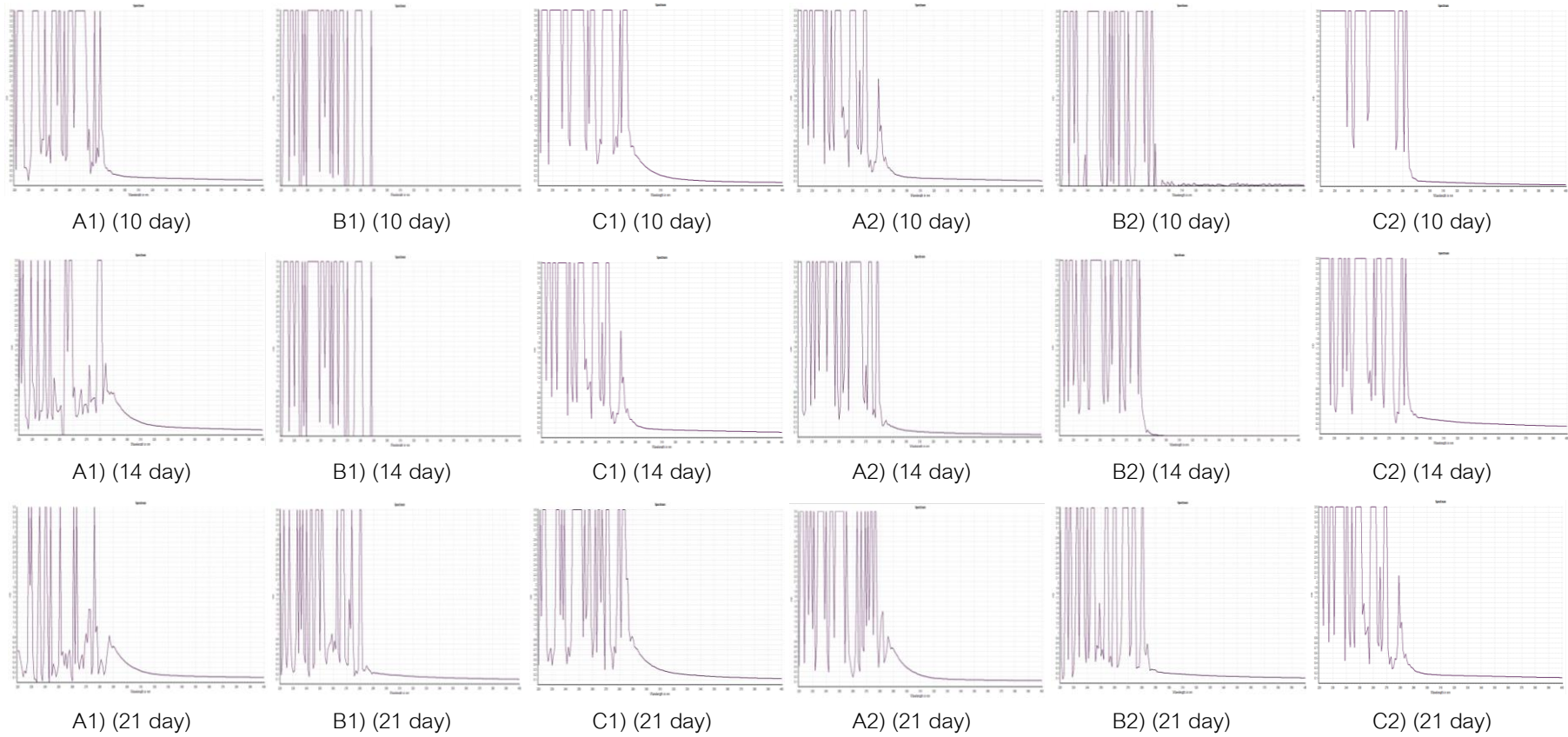
จากการศึกษาประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่า ในทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายดิบได้ใกล้เคียงกัน แต่ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีกว่าภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนดังแสดงในภาพที่ 4-80



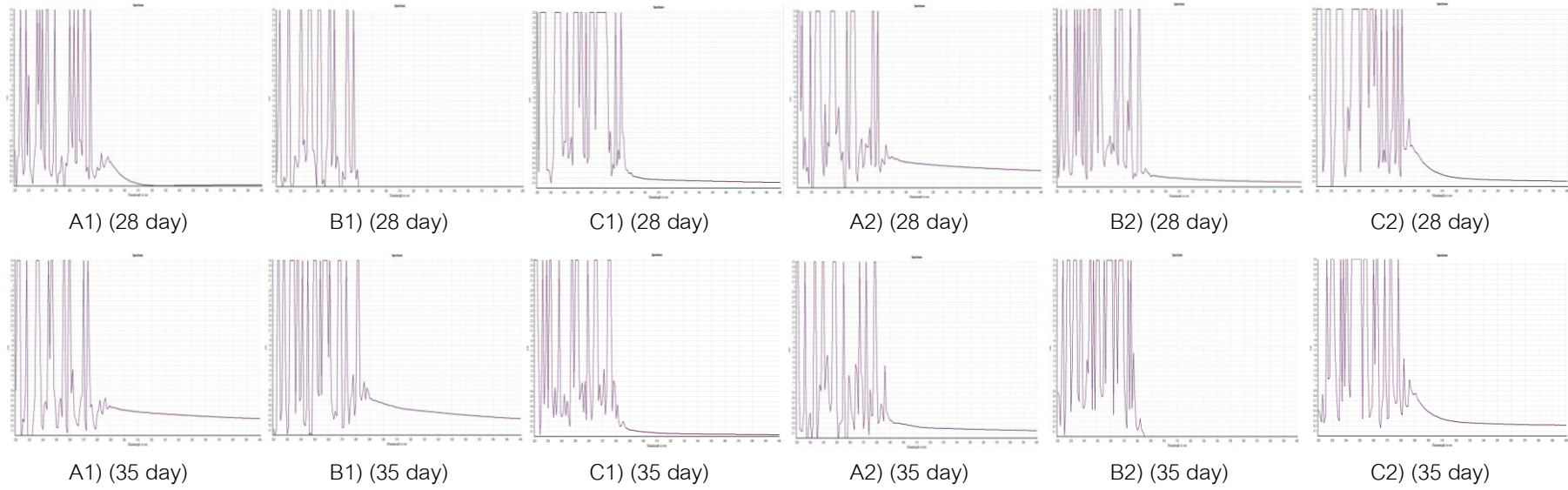
ภาพที่ 4-80 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

หมายเหตุ สภาวะที่มีออกซิเจน : A1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C1) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1

สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน : A2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1, B2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ C2) หมายถึง แบคทีเรียสายพันธุ์ SJ1#1



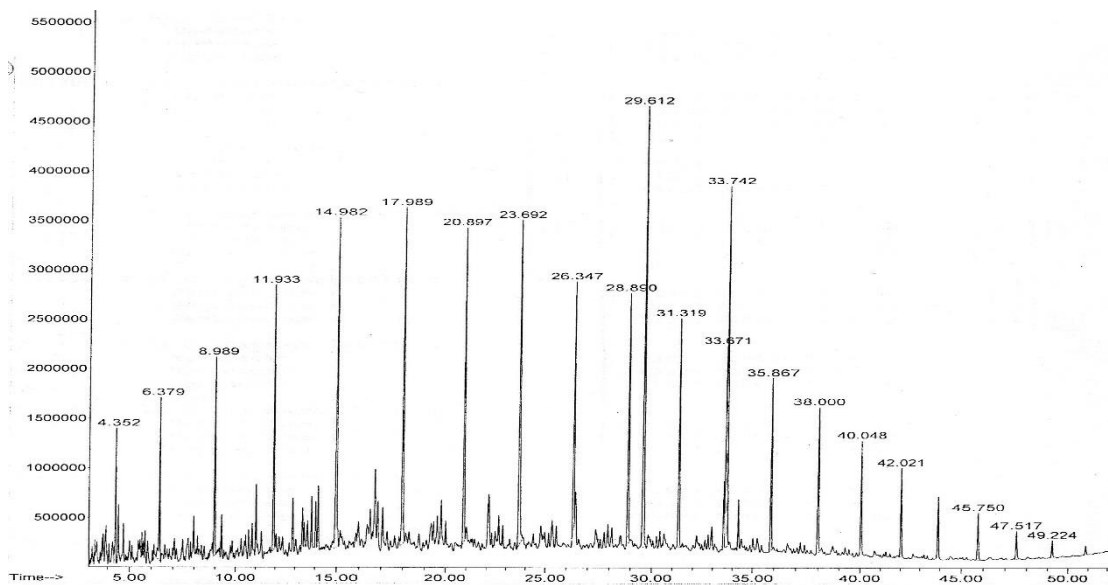
ภาพที่ 4-80 (ต่อ)



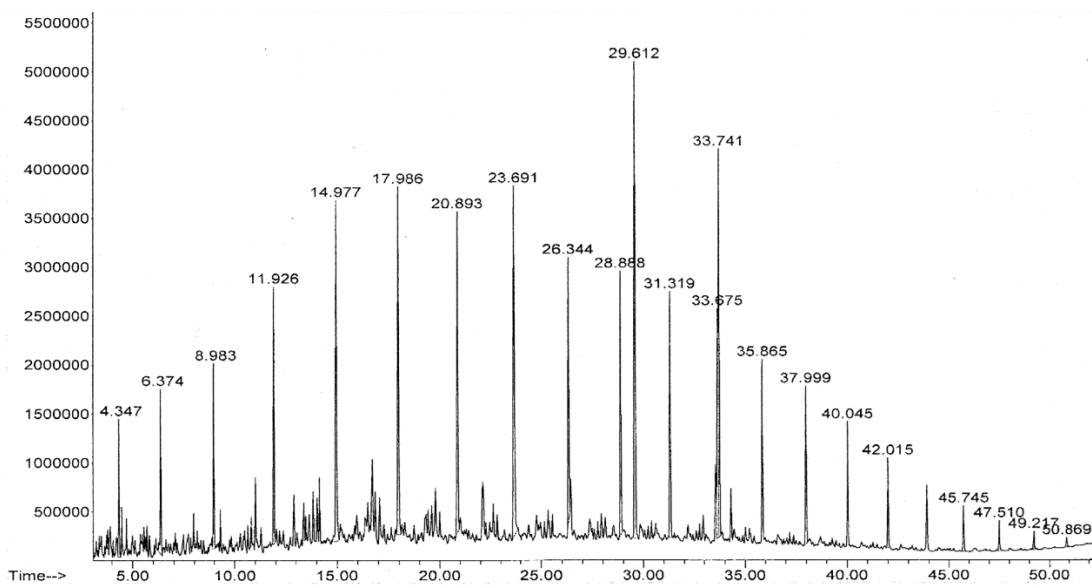
ภาพที่ 4-80 (ต่อ)

20. การศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ของแบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 โดยวิธีการวิเคราะห์ GC-MS

จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารอิมัลซิไฟเออร์มากที่สุด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ได้ดีที่สุดในสภาวะที่มีออกซิเจน จึงทำการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ในสภาวะที่มีออกซิเจน โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ GC-MS เพื่อวิเคราะห์สารที่คงเหลือและประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันแต่ละชนิดของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 ผลการศึกษาพบว่า ภายใน 35 วัน มีการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน โดยสามารถย่อยสลายทั้งสารตั้งต้นและสารตัวกลางได้ค่อนข้างสมบูรณ์ ส่วนน้ำมันอีก 3 ชนิด แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายสารตั้งต้นและเปลี่ยนเป็นสารตัวกลางเพียงบางส่วน โดยน้ำมันเบนซินมีการย่อยสลายจนไม่สามารถตรวจพบได้ด้วยวิธี GC-MS ส่วนน้ำมันดีเซลมีสารตั้งต้นที่หายไปได้แก่ 11-Octadecenoic acid, methyl ester, 7-Octadecenoic acid, methyl ester, 10-Octadecenoic acid, methyl ester, 3-Eicosene, (E)- และ Pentatriacontane และสารตัวกลางที่เกิดขึ้นได้แก่ 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-, 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester, Cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester, Octadecane, 2-methyl-, Tetratetracosane, Cycloicosane และ Docosane, 9-octyl- ส่วนน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วมีสารตั้งต้นที่หายไปได้แก่ Benzene, 1-ethyl-2,3-dimethyl-, Undecane, Benzene, 1,2,3,5-tetramethyl-, Dodecane, Anthracene, 1,2,3,4-tetrahydro-9-propyl-, Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester, Hexacosane, Tetracosane. Pentatriacontane, Nonahexacontanoic acid, trichlorooctadecyl-, Silane, Octatriacontyl pentafluoropropionate, Tetratriacontyl pentafluoropropionate, Pentacosane, 1-Docosene และ Hexacosane สารตัวกลางที่เกิดขึ้นได้แก่ Benzene, (1-methylethyl)-, Naphthalene, 1-methyl-, 1,1'-Biphenyl, 4-methyl-, Docosane, 11-decyl-, 1-Hexacosene, Bitilol, Cyclodocosane, ethyl-, Hetacosane, 1-chloro-, 28-Nor-17 β (H) -hopane และ Triacontane, 1-bromo- และส่วนน้ำมันดิบมีสารตั้งต้นที่หายไปได้แก่ Decane, 2-methyl-, Hexadecane, 1-iodo- และ Octadecane, 1-iodo- สารตัวกลางที่เกิดขึ้นได้แก่ Benzene, 1,2,3-trimethyl-, Mesitylene, Benzene, 1,2,4-trimethyl-, Sulfurous acid, decyl 2-ethylhexyl ester, Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl- และ Octadecane, 2-methyl- (ภาพที่ 4-81)

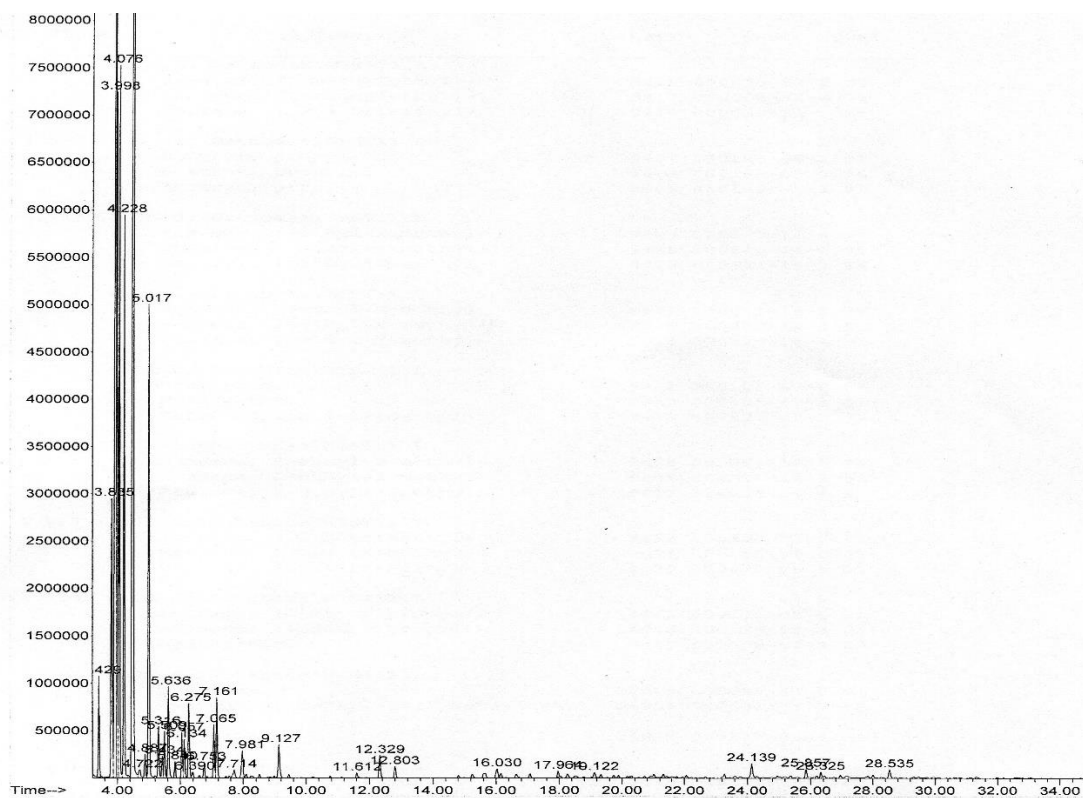


น้ำมันดีเซล (0 day)

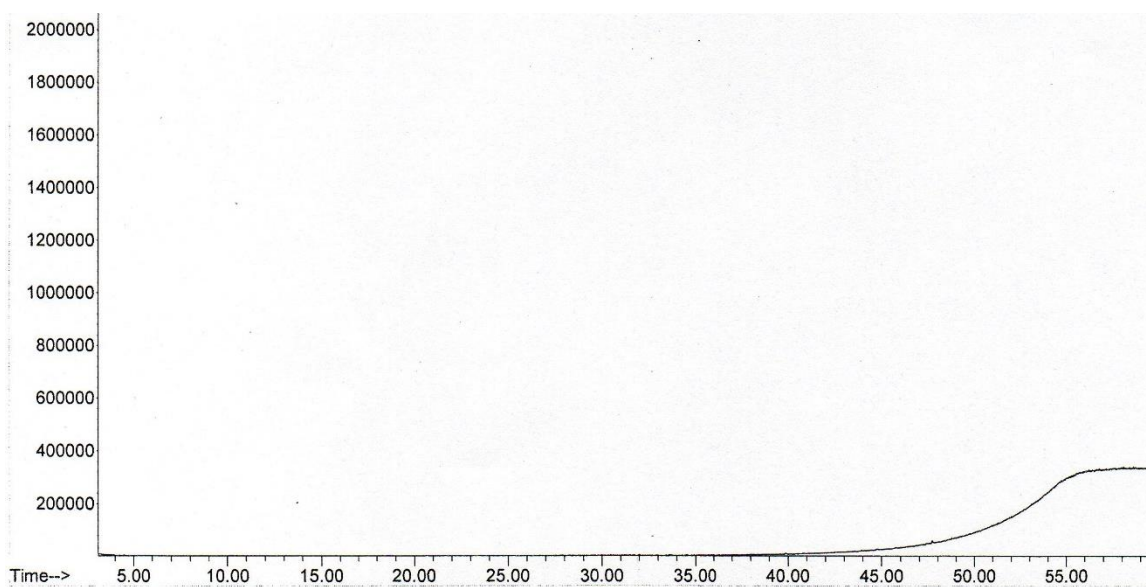


น้ำมันดีเซล (35 days)

ภาพที่ 4-81 ผลการเปรียบเทียบการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ระหว่างวันที่เริ่มต้นการทดลองและวันสุดท้ายของการทดลอง

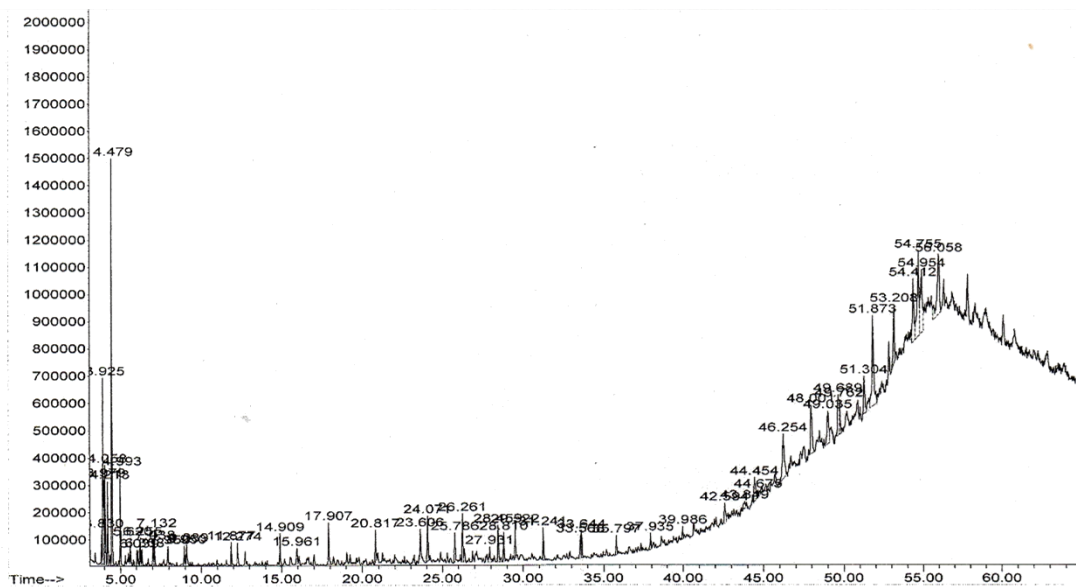


น้ำมันเบนซิน (0 day)

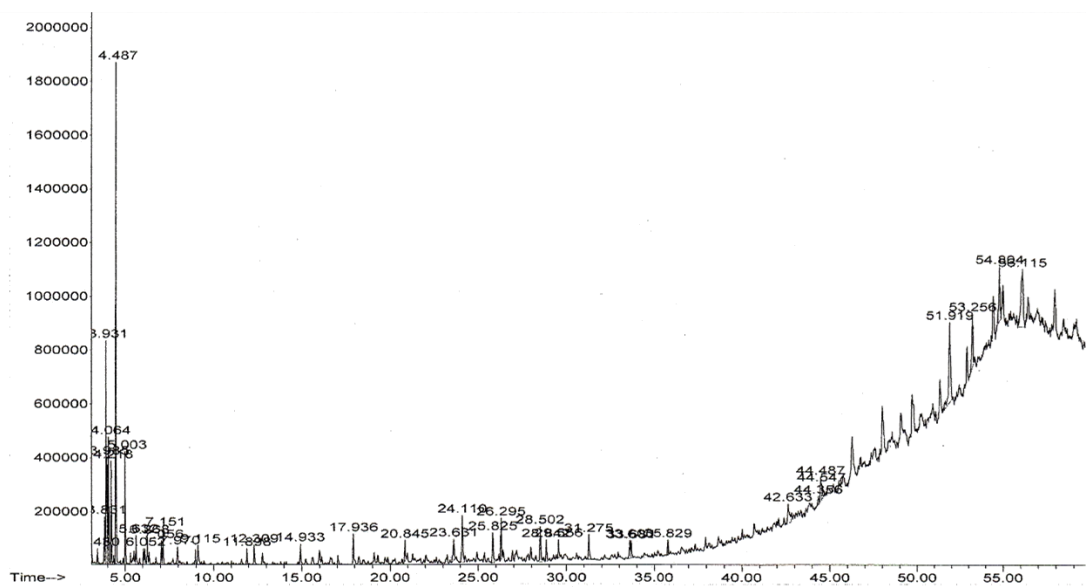


น้ำมันเบนซิน (35 days)

ภาพที่ 4-81 (ต่อ)

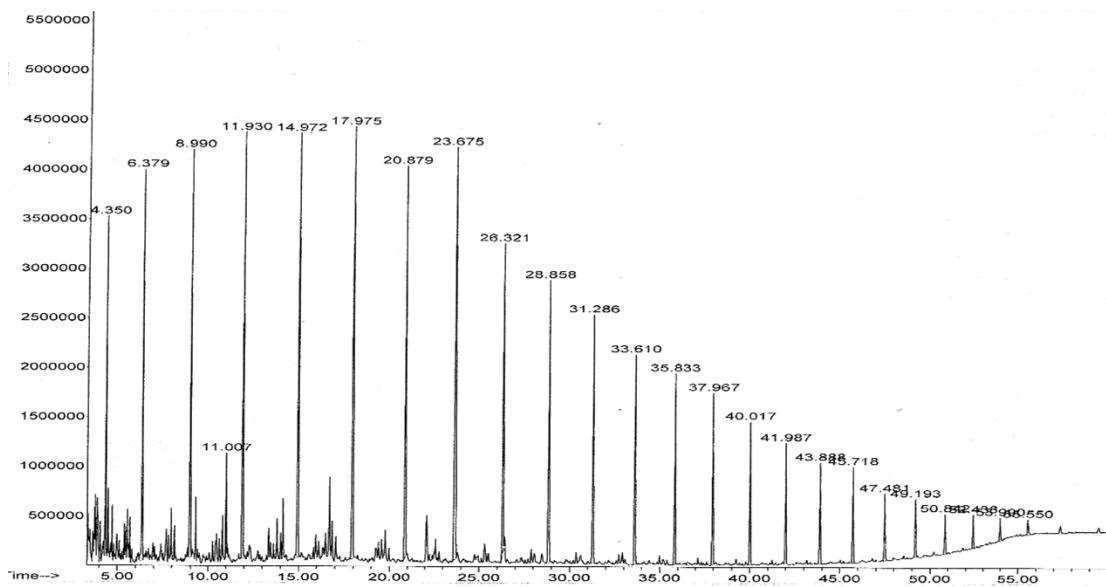


น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว (0 day)

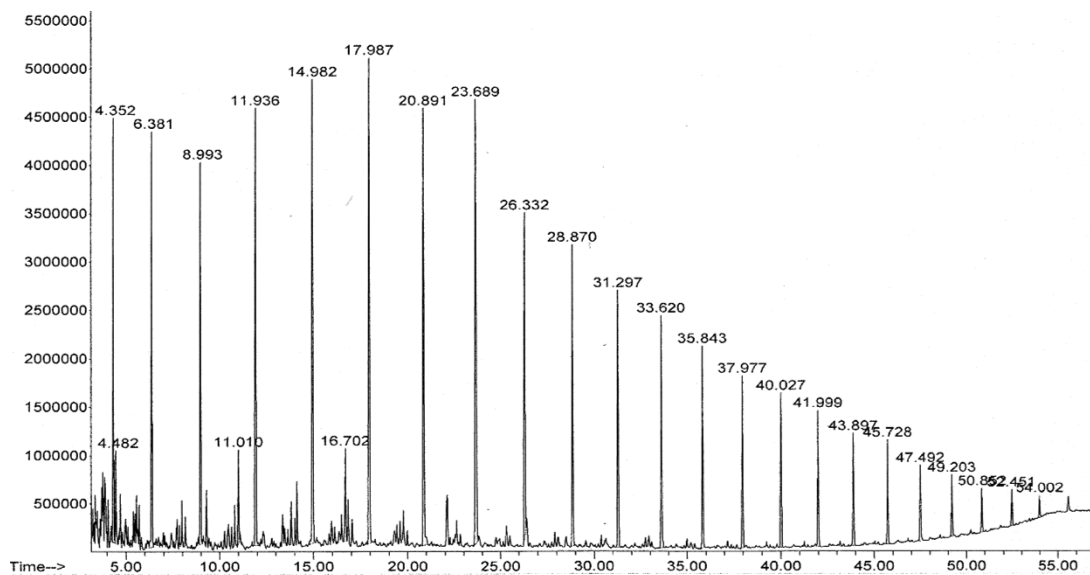


น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว (35 days)

ภาพที่ 4-81 (ต่อ)



น้ำมันดิบ (0 day)



น้ำมันดิบ (35 days)

ภาพที่ 4-81 (ต่อ)

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

จากแบคทีเรียทั้งหมด 30 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนน้ำมัน และ ทำการศึกษาคุณสมบัติในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และสารอิมัลซิไฟเออร์ ของทีมงานของ รศ.ดร.สุภัณฑิต นิมรัตน์ พบว่ามีแบคทีเรียที่มีศักยภาพมากที่สุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และสารอิมัลซิไฟเออร์ คือ *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 รองลงมา คือ *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 และ *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 ทุกชนิดไม่เป็นเชื้อก่อโรคทั้งในมนุษย์ สัตว์ และพืช

1. สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำพวกไลโปเปปไทด์

2. แบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ทั้งในสถานะที่มีออกซิเจนและสถานะที่ไม่มีออกซิเจน โดยสามารถเจริญและย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

3. แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 มีความสามารถในการเจริญโดยใช้ไขมันดีเซล น้ำมันเบนซิน และน้ำมันดิบเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานมากที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 และแบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ

4. แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 และ SD4 มีความสามารถในการเจริญโดยใช้ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วเป็นแหล่งของคาร์บอน และพลังงานใกล้เคียงกัน รองลงมาคือ แบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1

5. แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายน้ำมันเบนซินที่สุด รองลงมา คือ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว น้ำมันดีเซล และน้ำมันดิบ ตามลำดับ ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

6. แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 และ *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 สามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ ตามลำดับ ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

7. ในการย่อยสลายน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายมากที่สุด รองลงมาคือ แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 และ *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ ทั้งภายใต้สภาวะที่ใช้ ออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ยกเว้นในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลในสภาวะที่มี

ออกซิเจน แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายมากที่สุด รองลงมาคือแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 และ *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 ตามลำดับ

8. ในการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ของ *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน โดยวิธีการวิเคราะห์ GC-MS ผลการศึกษาพบว่า ภายใน 35 วันมีการย่อยสลายน้ำมันเบนซิน โดยสามารถย่อยสลายทั้งสารตั้งต้นและสารตัวกลางได้ค่อนข้างสมบูรณ์ ส่วนน้ำมันอีก 3 ชนิด พบว่าสามารถย่อยสลายสารตั้งต้น เปลี่ยนเป็นสารตัวกลางเพียงบางส่วน โดยสามารถย่อยสลายน้ำมันเบนซินได้ดีที่สุด รองลงมาคือน้ำมันดีเซล น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ ตามลำดับ

อภิปรายผลการทดลอง

1. การจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ผลิตได้

จากการคัดเลือกแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารอิมัลซิไฟเออร์ และนำมาจำแนกชนิด พบว่าแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารอิมัลซิไฟเออร์ที่คัดแยกจากตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนน้ำมันดิบ ได้แก่ *Bacillus* ทั้ง 3 สายพันธุ์ ซึ่งจำแนกโดยวิธีทางชีวเคมีและวิธี 16srRNA sequencing ได้เท่ากับ *B. Subtilis* สายพันธุ์ SE1, *B. Subtilis* สายพันธุ์ SD4 และ *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 จากการศึกษาของ Prakash et al. (2014) ได้กล่าวว่า *Bacillus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกและพบเป็นแบคทีเรียกลุ่มเด่นที่คัดแยกได้จากสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนด้วยน้ำมัน เนื่องจากแบคทีเรียแกรมบวกมีผนังเซลล์ที่แข็งแรงมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ สามารถเจริญและแบ่งเซลล์ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบในสิ่งแวดล้อมที่มีสภาวะที่ไม่ค่อยเหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียทั่วไป โดยเมื่อศึกษาถึงชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ผลิตได้ พบว่า เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำพวกไลโปเปปไทด์ ซึ่งผลการทดลองมีความสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาที่พบว่าแบคทีเรียสกุล *Bacillus* มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ชนิดไลโปเปปไทด์ ยกตัวอย่างเช่น *B. subtilis* A1 ที่คัดแยกได้จากแหล่งกักเก็บน้ำมันดิบ (Parthipan et al., 2017) และ *B. siamensis* สายพันธุ์ RT10 ที่คัดแยกมาจากตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนน้ำมัน (Varadavenkatesan & Murt, 2013) และเช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Mnif, Sahnoun, Ellouz-Chaabounia, and Ghribi, (2017) ที่ได้สรุปไว้ว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไลโปเปปไทด์ที่ผลิตโดยแบคทีเรีย *B. subtilis* SPB1 มีความสามารถในการเพิ่มการเคลื่อนที่และละลายน้ำของน้ำมันดีเซล ซึ่งจะช่วยให้เกิดการเกิดการย่อยสลายน้ำมันดีเซลอย่าง

สมบูรณ (Mineralization) โดยขั้นตอนการย่อยสลายทางชีวภาพของโมเลกุลของสารออกฤทธิ์ที่ผิว เมื่อจุลินทรีย์ใช้สารเหล่านี้เป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงาน เกี่ยวข้องกับ 2 ขั้นตอน ขั้นแรก สายของสารไฮโดรคาร์บอนจะแตกหักนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและปลดปล่อย สารตัวกลางโดยกระบวนการ แอมฟิฟิลิกซิตี (Amphiphilicity) ขั้นที่สอง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยสลายในขั้นแรกจะถูกเปลี่ยนรูปเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และแร่ธาตุ (Garcia Campos, Dalmau, Illa'n, & Sa'nchez-Leal, 2006)

2. การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

ต่อมานำแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์มาทำการศึกษาศักยภาพในการย่อยสลาย และใช้น้ำมันทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ น้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ เป็น แหล่งของคาร์บอนและพลังงาน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

2.1 ความสามารถของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากผลการศึกษาถึงความสามารถในการเจริญของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 ในแหล่งคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด (1% v/v) ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน พบว่า แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 สามารถเจริญในแหล่งของคาร์บอน และพลังงานที่เป็นน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยในช่วงแรกของการทดลองในชุดการทดลองอาจมีออกซิเจนหลงเหลือเล็กน้อย แต่ในช่วงเวลา ต่อมา ออกซิเจนถูกแบคทีเรียใช้หมด ทำให้สภาวะเป็นแบบไม่มีออกซิเจนทั้งหมด ซึ่งแบคทีเรีย โดยทั่วไปจะสามารถเกิดกระบวนการย่อยสลายได้ง่ายและรวดเร็วภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนได้ ดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เนื่องจาก เมื่อแบคทีเรียใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน จะให้ พลังงานแก่แบคทีเรียมากกว่าตัวรับอิเล็กตรอนตัวอื่น ๆ จึงเป็นเหตุผลให้แบคทีเรียสามารถเจริญ และย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (Ucar, Zhang, & Angelidaki, 2017) โดยภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 สามารถเจริญโดยใช้น้ำมันดีเซลดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว น้ำมันเบนซิน และ น้ำมันดิบ ตามลำดับ ส่วนในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนสามารถเจริญโดยใช้น้ำมันเบนซินดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว น้ำมันดีเซล และน้ำมันดิบ ตามลำดับ จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า ความสามารถในการย่อยสลายของแบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน อาจจะเป็น เนื่องจากแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความสามารถในการทนต่อความเป็นพิษของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด

ไม่เท่ากัน เนื่องจากในความจริงแล้วพบว่าค่าความเป็นพิษ (LD50) สามารถสรุปได้ว่า น้ำมันเบนซินมีความเป็นพิษ (LD50) น้อยที่สุดรองลงมาคือ น้ำมันดีเซล น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ (BP Products North America Inc., 2011; Tesoro Refining & Marketing Co., 2012; ConocoPhillips, 2009; The American Petroleum Institute Petroleum HPV Testing Group, 2003) นอกจากนั้นน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว ยังเป็นสารอันตรายที่ปนเปื้อนด้วยโลหะหนัก และสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ที่เกิดขึ้นระหว่างการใช้ในการหล่อลื่นเครื่องยนต์ (Yang et al., 2015) ส่วนน้ำมันดิบก็มีส่วนประกอบที่เป็นสารไฮโดรคาร์บอนที่หลากหลายถึง 20,000 ชนิด และมีสารอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่มีความเป็นพิษและคงทนต่อการย่อยสลายด้วย (Wang, Wang, Dong, & Hu, 2016) จึงส่งผลทำให้แบคทีเรียสามารถเจริญในน้ำมันดีเซลและน้ำมันเบนซินได้ดีที่สุด

และเมื่อทำการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 จากลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน ก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น และพีคจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 220 - 400 นาโนเมตร พบว่า ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิดจากการย่อยสลายของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนลดลงมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน สอดคล้องกับความสามารถในการเจริญในน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยที่ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลกับน้ำมันเบนซินลดลงใกล้เคียงกันและลดลงมากกว่า น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วและน้ำมันดิบ ตามลำดับ และจากค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 220 - 400 นาโนเมตร ของชุดการทดลองต่าง ๆ พบว่า แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 ย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งน้ำมันเบนซินถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 ได้เร็วที่สุดภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน รองลงมาคือ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว น้ำมันดีเซล และน้ำมันดิบ ตามลำดับ ภายในระยะเวลาการศึกษา 35 วัน ส่วนปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นสามารถตรวจพบก๊าซทั้งหมดในชุดทดลองที่เป็นน้ำมันดิบ ในช่วงวันที่ 7-14 ของการทดลองเท่านั้น

ดังนั้นจากผลการทดลองในข้อ 2.1 จึงสรุปได้ว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 สามารถเจริญและย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยสามารถย่อยสลายน้ำมันเบนซินได้ดีที่สุด ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* จะผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดลิโปเปปไทด์ และเอนไซม์จำพวกแอลเคน ไฮดรอกซีเลส และแอลกอฮอล์ ดีไฮโดรจีเนส เพื่อช่วยในกระบวนการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนที่มีอยู่ในน้ำมันแต่ละชนิด (Parthipan et al., 2017) ในจำพวกผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารไฮโดรคาร์บอนหลัก

สารเบนซีนก็เป็นสารตัวกลางที่ควรระมัดระวัง เนื่องจากสารเบนซีนมี ความเสถียร สามารถละลาย น้ำได้ เคลื่อนที่ได้ มีความเป็นพิษ และเป็นสารประกอบอะโรมาติกที่ก่อให้เกิดมะเร็ง โดยสาร เบนซีนสามารถเกิดการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์โดยจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีออกซิเจน แต่ภายใต้ สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะมีอัตราการย่อยสลายช้าลงและย่อยสลายได้น้อย (Vogt, Kleinstuber, & Richnow, 2011; Singh, Sar, & Bennet, 2009) โดยสารไฮโดรคาร์บอนที่สามารถย่อยสลายได้ ง่ายเช่น สารไฮโดรคาร์บอนจำพวกแอลเคนสายสั้น ๆ ที่อยู่ในช่วง C1-C13 จะสามารถถูกกลืนแสง ในช่วงค่าความยาวคลื่นที่ 180-200 นาโนเมตร (Costner et al., 2009) ดังนั้นเมื่อ สาร ไฮโดรคาร์บอน กลุ่มนี้เกิดการย่อยสลาย ในการศึกษาครั้งนี้ที่ทำการวิเคราะห์ในช่วงค่าความยาว คลื่นที่ 220-400 นาโนเมตร จึงไม่สามารถตรวจวิเคราะห์สารในกลุ่มดังกล่าวได้ ส่วนก๊าซทั้งหมด ที่สามารถเกิดขึ้นได้ประกอบก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่สามารถเกิดได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน ส่วน ภายใต้อุณหภูมิที่ไม่มีออกซิเจนนอกจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แล้ว ยังสามารถเกิดก๊าซไนโตรเจน ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซมีเทน (Heider, Spormann, Beller, & Widdel, 1999) ได้จากการย่อย สลายสารไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในน้ำมันแต่ละชนิดอย่างสมบูรณ์ หรือที่เรียกว่ากระบวนการ “Minerilization” และจากผลการทดลองพบว่ามีความเฉพาะชุดการทดลองย่อยสลายน้ำมันดิบที่มีการ ตรวจพบก๊าซทั้งหมดเกิดขึ้นในบางช่วงเวลาและเกิดขึ้นในปริมาณน้อยมาก คาดว่ามีส่วนประกอบ ของสารไฮโดรคาร์บอนในน้ำมันดิบมีการย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ ยกตัวอย่างเช่น แอลเคนสาย สั้น ๆ ซึ่งอยู่ในช่วง C8-C26 จะถูกย่อยสลายได้อย่างรวดเร็ว (Norman, Frontera-Suau, & Morris, 2002; Bordoloi & Konwar, 2009; Raju et al., 2017)

นอกจากนี้จากการศึกษาของ Safdari, Kariminia, Nejad, and Fletcher (2017) ที่ได้ ทำการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันดีเซลที่ปนเปื้อนในตัวอย่งน้ำโดยแบคทีเรีย *B. subtilis* DSM10 พบว่า สามารถย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดในน้ำมันดีเซล (2% v/v) ได้ 75% ในระยะเวลา 20 วัน ในสภาวะเขย่า โดยสามารถกำจัดสารไฮโดรคาร์บอนที่มี C10 ได้ 87%, C20 ขึ้นไปได้ 61% และยังสามารถกำจัดสารไฮโดรคาร์บอนกลุ่มอะโรมาติกได้ถึง 38% แต่ในการศึกษาของ Parthipan et al. (2017) ที่ได้ทำการศึกษาดังกล่าวถึงสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและเอนไซม์ของแบคทีเรีย *B. subtilis* A1 ในการย่อยสลายน้ำมันดิบ (1% v/v) ได้อธิบายไว้ว่า แบคทีเรีย *B. subtilis* A1 มี ประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ถึง 87% ภายในระยะเวลาสั้น เพียง 7 วัน โดยสามารถ ย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในช่วง C10-C14 ได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ช่วง C15-C19 สามารถย่อยสลายได้ถึง 97% ของสารไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด

2.2 ความสามารถของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากผลการศึกษาถึงความสามารถในการเจริญของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 ในแหล่งคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน พบว่า แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 สามารถเจริญในแหล่งคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน เช่นเดียวกับกับ *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 โดยในทั้ง 2 สภาวะ แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 สามารถเจริญโดยใช้น้ำมันดีเซลเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานดีที่สุด รองลงมาคือน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว น้ำมันเบนซิน และน้ำมันดิบ ตามลำดับ

และเมื่อทำการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 จากลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน ก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น และพีคจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 220-400 นาโนเมตร พบว่า ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนลดลงมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยลักษณะทางกายภาพของน้ำมันดีเซลกับน้ำมันเบนซินลดลงใกล้เคียงกันและมากที่สุด รองลงมาคือน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 และจากการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 220-400 นาโนเมตร พบว่า แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 สามารถย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และในวันสุดท้ายของการทดลอง (35 วัน) แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 ย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีที่สุดจนไม่สามารถตรวจพบพีคที่เกิดขึ้นได้ แต่ความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 ยังมีความสามารถน้อยกว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 รองลงมาคือน้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ ตามลำดับ และในส่วนของก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น พบว่า สามารถตรวจพบปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นเฉลี่ยในทั้ง 2 สภาวะใกล้เคียงกันในบางช่วงเวลาและในปริมาณน้อยเท่านั้น แต่ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนสามารถตรวจพบปริมาณก๊าซทั้งหมดเฉลี่ยมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ดังนั้นจากผลการทดลองที่กล่าวมาในข้อ 2.2 สามารถสรุปได้ว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 เจริญและย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีที่สุด

2.3 ความสามารถของแบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ในสภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากผลการศึกษาถึงความสามารถในการเจริญของแบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 ในแหล่งคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันทั้งหมด 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน พบว่า แบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 สามารถเจริญในแหล่งของคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันทั้ง 4 ชนิดได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยสามารถเจริญโดยใช้น้ำมันดีเซลเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานที่ดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว น้ำมันเบนซิน และน้ำมันดิบ ตามลำดับในทั้ง 2 สภาวะ เช่นเดียวกันกับ *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4

และเมื่อทำการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ของแบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 จากลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน ก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น และพีคจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 220-400 นาโนเมตร พบว่า ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายด้วยแบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนลดลงมากกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และในวันสุดท้ายของการทดลอง น้ำมันดีเซลมีลักษณะทางกายภาพลดลงมากที่สุด ผลรองลงมาคือ น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ ตามลำดับ และจากการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 220-400 นาโนเมตร พบว่า แบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 สามารถย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีกว่าในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยสามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลจนเหลือพีคที่ตรวจวิเคราะห์ได้น้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 และ SD4 แต่แบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 มีความสามารถในการย่อยสลายน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียอีก 2 ชนิด รองลงมาคือ น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ ตามลำดับ ส่วนปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นเฉลี่ย พบว่า สามารถตรวจพบปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นเฉลี่ยใกล้เคียงกันในทุก 2 สภาวะ และน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว มีปริมาณก๊าซเฉลี่ยใกล้เคียงกัน แต่มีปริมาณมากกว่าในชุดการทดลองที่มีน้ำมันดิบ ดังนั้นจากผลการทดลองข้างต้น สรุปได้ว่า แบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 สามารถเจริญและย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีกว่าในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดยสามารถเจริญและย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีที่สุด เช่นเดียวกันกับแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 แต่แบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 มีความสามารถในการเจริญและย่อยสลายน้อยกว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 ซึ่งมีงานวิจัยของ

Varadavenkatesan and Murty (2013) ที่ได้ศึกษาถึงการสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ชนิด ลิโปเปปไทด์และการนำไปประยุกต์ใช้ในการกักตุน้ำมัน ได้รายงานไว้ว่า แบคทีเรีย *B. siamensis* RT10 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดลิโปเปปไทด์ที่มีประสิทธิภาพและมีความเสถียร ต่อสภาวะที่รุนแรงต่าง ๆ ทั้งอุณหภูมิ ค่า pH และความเค็ม นอกจากนี้ยังสามารถเจริญในแหล่ง คาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันดิบได้

2.4 ความสามารถของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ในการย่อยสลาย น้ำมันทั้ง 4 ชนิด ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

จากผลการศึกษาที่พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 3 สายพันธุ์ที่แยกได้จากการศึกษาครั้งนี้ สามารถเจริญโดยใช้น้ำมันทั้ง 4 ชนิด เป็นของแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ภายใต้สภาวะที่มี ออกซิเจนได้ดีกว่าสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน โดย Leahy and Colwell (1990) ได้อธิบายไว้ว่าขั้นตอน แรกของการสลายสารไฮโดรคาร์บอนเพื่อนำไปใช้สังเคราะห์องค์ประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ของ แบคทีเรีย จะเริ่มต้นด้วยกระบวนการออกซิเดชันสารตั้งต้นโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์กลุ่ม Oxygenase ซึ่งมีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ทำให้สภาวะที่มีออกซิเจนมีความสำคัญต่อการ ย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ส่วนภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนก็ สามารถเกิดกระบวนการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนได้เช่นเดียวกัน โดยอาศัยกระบวนการ 4 กระบวนการ ได้แก่ ดีไนตริฟิเคชัน เพอริกรีดักชัน ซัลเฟตรีดักชัน และเมทาโนเจเนซิส ซึ่ง กระบวนการเหล่านี้จะใช้สารอื่นเป็นตัวรับอิเล็กตรอนแทนออกซิเจนและแบคทีเรียจะใช้เอนไซม์ กลุ่มไกลซิลเรดิคอลลเอนไซม์ ช่วยในการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนเพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งของ คาร์บอนและพลังงาน (Heider et al., 1999) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salt medium ซึ่งมีตัวรับอิเล็กตรอนครบทั้ง 4 ชนิด จึงคาดว่าในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนมี โอกาสเกิดกระบวนการย่อยสลายได้ทั้ง 4 กระบวนการ แต่การที่แบคทีเรียจะเลือกใช้ตัวรับอิเล็กตรอน ตัวใดขึ้นอยู่กับค่าความต่างศักย์ของคู่ปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน (E_0) โดยเมื่อเรียงตามค่า E_0 ตัวรับอิเล็กตรอนที่จะถูกเลือกให้เกิดปฏิกิริยาเป็นอันดับแรกคือ เพอริก รองลงมาคือ ไนเทรต ซัลเฟต และคาร์บอนไดออกไซด์ ตามลำดับ (สุภัณฑิลา นิมรัตน์, 2559) รวมทั้งขึ้นอยู่กับ ความสามารถของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ต่อความเป็นพิษ ความสามารถในการผลิตสารลด แรงตึงผิวทางชีวภาพที่ได้จากน้ำมันทั้ง 4 ชนิด

โดยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 และ SD4 เจริญใกล้เคียงกันและเจริญรวดเร็วกว่า แบคทีเรีย *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มี ออกซิเจน ซึ่งพบว่าแบคทีเรียทุกสายพันธุ์มีปริมาณลดลงในช่วง 3-7 วันแรกของการทดลอง และ

ค่อยมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในทั้ง 2 สภาวะ โดยมีรายงานของ สุภัณฑิต นิมรัตน์, ไตรมาส บุญไทย และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย (2559) ที่ได้กล่าวสนับสนุนไว้ว่า จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมด ในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซล ด้วยแบคทีเรียกลุ่มตรึงไนโตรเจน พบว่าในชุดที่ทำการเติมแบคทีเรียกลุ่มตรึงไนโตรเจนแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดมีปริมาณลดลงภายใน 1 ชั่วโมงแรกของการทดลองและต่อมาเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ ตลอดการทดลอง ซึ่งอาจจะเกิดจากการปรับตัวต่อความเป็นพิษของน้ำมันนั่นเอง

นอกจากนี้แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1, SD4 และ *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 มีประสิทธิภาพในย่อยสลายทั้งน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบได้ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนดีกว่าภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งมีงานวิจัยของ Al-Sayegh et al. (2015) ได้รายงานไว้ว่าภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถเกิดการย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradation) และการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ (Biotransformation) ของน้ำมันดิบที่ชัดเจน แต่ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนพบเพียงการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของสารที่มีมวลโมเลกุลสูงกลายเป็นสารที่มีมวลโมเลกุลต่ำเท่านั้น ซึ่งในการย่อยสลายผลิตภัณฑ์จากปิโตรเลียมเพื่อเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานของแบคทีเรียเฮทเทอโรโทรปสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจน โดยจะใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน และสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะมีการใช้สารตัวอื่นเป็นตัวรับอิเล็กตรอน เช่น ไนเตรต หรือ ซัลเฟต เป็นต้น ดังนั้น ในสภาวะที่มีออกซิเจนการย่อยสลายจึงเกิดขึ้นได้เร็วกว่าและมีประสิทธิภาพมากกว่า สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (Olajire & Essien, 2014)

และเมื่อเปรียบเทียบการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ของ *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1, SD4 และ *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 โดยการศึกษาลักษณะทางกายภาพของน้ำมันและค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 220 - 400 นาโนเมตรพบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดได้ดีที่สุด รองลงมาคือ แบคทีเรียสายพันธุ์ SD4 และ SJ1#1 ตามลำดับ โดยพบว่าส่วนใหญ่สามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลหรือน้ำมันเบนซินได้ดีที่สุด รองลงมาคือ น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ อาจจะเนื่องมาจาก น้ำมันดีเซลและน้ำมันเบนซินมีส่วนประกอบของสารไฮโดรคาร์บอนที่สามารถย่อยสลายได้ง่ายซึ่งอยู่ในช่วง C6-C20 โดยที่น้ำมันดีเซลที่กลั่นจากน้ำมันดิบประกอบด้วยสารไฮโดรคาร์บอนที่มีโครงสร้างซับซ้อน ซึ่งมีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ C9 ถึง C20 เช่นไอโซแอลเคน ไฮโคแอลเคน พาราฟิน โอลิฟิน แนฟทา และสารโพลีอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Adam & Duncan, 1999; Mnif & Ghribi, 2015) ส่วนน้ำมันดิบมีส่วนประกอบของสารไฮโดรคาร์บอนหลากหลายชนิดโดยสารประกอบหลัก ๆ คือ พาราฟิน (30%) แนฟทีน

(49%) อะโรมาติก (15%) และแอสฟาติก (6%) (Hyne, 2001 Refer to in Borah & Yadav, 2014) โดยมีคาร์บอนตั้งแต่ C6-C35 และนอกจากนี้ในน้ำมันดิบยังมีสารที่มีความเป็นพิษ คือ เรซินและแอสฟาทีน (Demirbas & Taylan, 2016) และน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วมีส่วนประกอบของสารไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในช่วง C20-C35 และยังมีโลหะหนัก เช่น สารหนู แคดเมียม โครเมียม และเหล็ก เป็นต้น ซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์ของแบคทีเรีย (Zali et al., 2015)

จากการศึกษาในครั้งนี้แบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดได้ดี ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของ Montagnolli, Lopes, and Bidoia (2014) ที่ได้ทำการศึกษาถึงผลของการมีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรีย *B. subtilis* ต่อการย่อยสลายทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียม พบว่า การมีอยู่ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถช่วยลดแรงตึงผิว เพิ่มการเกิดอิมัลชัน (Emulsification index) และทำให้ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์มีปริมาณมากขึ้นถึง 18.3% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ได้เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จากการศึกษานี้จะบ่งบอกถึงการมีอยู่ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรีย *B. subtilis* จะช่วยเพิ่มการเข้าถึงผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมของแบคทีเรีย และช่วยเพิ่มการย่อยสลายของแบคทีเรียได้มากขึ้นด้วย และจากการศึกษาของ Safdari et al. 2017 ได้ทำการศึกษาศักยภาพของแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* และ *B. subtilis* ในการฟื้นฟูสภาพทางชีวภาพของน้ำมีปนเปื้อนน้ำมันดีเซล พบว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้มากกว่า *B. subtilis* แต่แบคทีเรีย *B. subtilis* ก็สามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซล (2% v/v) ได้ถึง 69 % ภายในระยะเวลา 12 วันของการทดลอง และยังสามารถกำจัดสารไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดได้ถึง 75% ภายใน 20 วันของการทดลอง นอกจากนี้การศึกษานี้ของ Montagnolli, Lopes, and Bidoia (2015) ได้สนับสนุนว่าในการย่อยสลายทางชีวภาพซึ่งมีการเติมสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถช่วยเพิ่มการย่อยสลายทางชีวภาพของน้ำมันดิบและน้ำมันดีเซลได้ โดยสามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ดีกว่าน้ำมันดิบ เนื่องจากน้ำมันดีเซลประกอบด้วยสารไฮโดรคาร์บอนตั้งแต่ C8-C22 ซึ่งมีโมเลกุลเล็กกว่าสารไฮโดรคาร์บอนที่อยู่ในน้ำมันดิบที่ยังไม่ผ่านการกลั่นหรือทำให้บริสุทธิ์เลย

และเมื่อทำการศึกษาปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดโดยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 และ *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 พบว่าในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดด้วยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถตรวจพบ

ปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นเฉลี่ยทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจนในปริมาณใกล้เคียงกันและมีปริมาณน้อยมาก โดยปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้น หมายถึง ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน ส่วนปริมาณก๊าซทั้งหมดที่เกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนอาจมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ผสมกับก๊าซไนโตรเจน ก๊าซไฮโดรเจน และก๊าซมีเทนจากการย่อยสลายในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (การย่อยสลายแบบไนโทรรีดักชัน, แบบซัลเฟตรีดักชัน, แบบไอรอนรีดักชัน และแบบเมทาโนเจเนซิส (Heider et al., 1999)

ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Montagnoli, Lopes, and Bidoia (2015) พบว่าในการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันดีเซลและน้ำมันดิบ โดยแบคทีเรีย *B. subtilis* ในสภาวะที่มีออกซิเจน ชุดการทดลองที่มีน้ำมันดิบสามารถตรวจพบก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้มากกว่าชุดการทดลองที่มีน้ำมันดีเซล และชุดการทดลองที่เติมแบคทีเรีย *B. subtilis* ในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มากกว่าชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย *B. subtilis* เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอาจจะสนับสนุนให้แบคทีเรียสามารถเข้าถึงสารตัวกลางได้มากขึ้น โดยกระบวนการเกิดอิมัลชัน และละลายส่วนที่เป็นน้ำมันได้มากขึ้น จึงทำให้น้ำไปสู่วัฏจักรการย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์มากยิ่งขึ้นและเปลี่ยนจากสารไฮโดรคาร์บอนให้กลายเป็นน้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Mineralization) มากยิ่งขึ้น (Norman et al., 2002; Bordoloi & Konwar, 2009) โดยในการศึกษาของ Al-Sayegh et al. (2015) ได้อธิบายว่า การเจริญของจุลินทรีย์มีความแปรผันโดยตรงกับการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของสารไฮโดรคาร์บอนที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ที่มีคาร์บอนตั้งแต่ C12 ถึง C14 โดยเมื่อจุลินทรีย์มีการใช้สารไฮโดรคาร์บอนเป็นของคาร์บอนและพลังงานในการเจริญและมีการเจริญเพิ่มขึ้นก็จะส่งผลให้สารไฮโดรคาร์บอนที่มีโมเลกุลขนาดเล็กถูกย่อยสลายไปด้วย

จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดและสามารถเจริญในแหล่งคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบได้ทั้งภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน จึงนำ *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 ไปทำการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิดอีกครั้งภายในระยะเวลา 35 วัน ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน และทำการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการย่อยสลายโดยส่งตรวจวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของสารไฮโดรคาร์บอนที่คงเหลืออยู่โดยใช้เครื่อง GC-MS ที่ศูนย์เครื่องมือและวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต เปรียบเทียบระหว่างวันแรกของการทดลอง (วันที่ 0) กับวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 35) พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์

SE1 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินดีที่สุด รองลงมาคือน้ำมันดีเซล น้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว และน้ำมันดิบ โดยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 สามารถย่อยสลายน้ำมันเบนซินได้ ทั้งสารตั้งต้นและสารตัวกลางได้ค่อนข้างสมบูรณ์ ส่วนน้ำมันอีก 3 ชนิด พบว่าสามารถย่อยสลายสารตั้งต้นและเปลี่ยนเป็นสารตัวกลางเพียงบางส่วนเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์โดยการศึกษาค่าการวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 220-400 นาโนเมตร แต่จากผลการศึกษาค่าการวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 220-400 นาโนเมตร ในวันที่ 35 พบว่าไม่สามารถตรวจพบพีคในชุดการทดลองที่เติมน้ำมันดีเซล น้ำมันเบนซิน และน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว แต่ในผลการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง GC-MS พบว่ายังคงเหลือสารไฮโดรคาร์บอนอยู่

เนื่องจาก สารไฮโดรคาร์บอนที่ตรวจพบได้โดยใช้เครื่อง GC-MS ไม่สามารถดูดกลืนแสงในช่วง 220-400 นาโนเมตรที่ได้ทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จึงทำให้สามารถตรวจพบพีคคงเหลืออยู่จากการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง GC-MS เนื่องจากวิธีวิเคราะห์โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์สามารถวัดได้เพียงสารไฮโดรคาร์บอนที่ดูดกลืนแสงในช่วง 220-400 นาโนเมตรเท่านั้น ซึ่งเป็นเพียงส่วนหนึ่งในการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง GC-MS โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Turner, Pichtel, Rodenas, McKillip, and Goodpaster (2015) ที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของจุลินทรีย์ในตัวอย่างดิน ผลการวิจัยพบว่า กลุ่มของจุลินทรีย์ที่ประกอบด้วยจีนัส *Alcaligenes*, *Bacillus*, และ *Flavobacterium* สามารถย่อยสลายน้ำมันเบนซินจนไม่สามารถพบสารไฮโดรคาร์บอนจำพวกแอลเคนอย่างมีนัยสำคัญ ภายในระยะเวลา 7 วัน และสามารถย่อยสลาย โทลูอีน แอลคิลเบนซีน โพรพิลเบนซีน และไอโซโพรพิลเบนซีน สามารถย่อยสลายทำให้ปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว และลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ภายในระยะเวลา 30 วัน และจากการศึกษาของ Safdari et al. (2017) ที่ได้ทำการศึกษาความสามารถของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ในการฟื้นฟูสภาพทางชีวภาพของตัวอย่างน้ำที่มีการปนเปื้อนน้ำมันดีเซล พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สามารถกำจัดสารไฮโดรคาร์บอน C_{10} ได้ 87% ส่วน C_{20} ขึ้นไปสามารถกำจัดได้ 61% และสารไฮโดรคาร์บอนที่เป็นสารอะโรมาติกทั้งหมด สามารถกำจัดได้เพียง 38% ภายในระยะเวลา 20 วัน แต่จากงานวิจัยของ Thenmozhi and Thajuddin (2011) ที่ได้ศึกษาการย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วโดยกลุ่มของแบคทีเรีย พบว่า กลุ่มของแบคทีเรียซึ่งได้แก่ *Serratia marcescens* *Pseudomonas aeruginosa* และ *Bacillus licheniformis* สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วได้ถึง 90% โดยแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* สามารถย่อยสลายได้เพียง 60% ภายในระยะเวลา 28 วัน และมีการทดลองในสภาวะเขย่าที่ 180 รอบต่อนาที โดยพบการ

ย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนจำพวกอะลิฟาติก (aliphatic) สายสั้นและสายขนาดกลางมากกว่า สารไฮโดรคาร์บอนสายยาว

นอกจากนี้ผลการทดลองยังไม่สอดคล้องการศึกษาของ Parthipan et al. (2017) ที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและเอนไซม์ในการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ A1 พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* A1 สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ ถึง 87% ภายในระยะเวลา 7 วัน โดยสารไฮโดรคาร์บอนหลักที่พบการย่อยสลายมีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 10-29 อะตอม และพบการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ของสารไฮโดรคาร์บอนตั้งแต่ 10-14 อะตอม และจำนวนคาร์บอนในช่วง 15-19 อะตอมเกิดการย่อยสลายเกือบ 97% รวมถึงสารไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง สามารถย่อยสลายได้ถึง 78% อาจเนื่องมาจากการศึกษาของ Parthipan et al. (2017) มีการศึกษาการย่อยสลายทางชีวภาพภายใต้สภาวะที่มีการเติมออกซิเจน โดยการเพาะเลี้ยงที่สภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาที เมื่อปริมาณออกซิเจนเพิ่มขึ้น กระบวนการย่อยสลายก็เกิดได้ดีขึ้นตามไปด้วย

จากผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันทุกชนิดได้ดีที่สุด และสามารถเจริญในแหล่งของคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันทั้ง 4 ชนิดได้ดี ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลของลักษณะทางกายภาพของน้ำมัน พีคที่เกิดขึ้นจากการวัดค่าการดูดกลืนแสง และการวิเคราะห์สารไฮโดรคาร์บอนที่คงเหลือหลังจากการย่อยสลายของน้ำมันแต่ละชนิด พบว่าข้อมูลสอดคล้องไปที่ทิศทางเดียวกัน รวมทั้งความสามารถในการย่อยสลายและเจริญแหล่งของคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำมันทั้ง 4 ชนิด ซึ่งเป็นสารประกอบที่ย่อยสลายได้ยาก อาจจะมีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ที่หลากหลาย (Prakash et al., 2014) ดังนั้นแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SE1 รวมถึงแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ SD4 และ *B. siamensis* สายพันธุ์ SJ1#1 จึงน่าจะเป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญในการบำบัดและฟื้นฟูสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนน้ำมันปิโตรเลียม และน่าจะนำไปศึกษาต่อไปในการประยุกต์ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ดังกล่าว ในการฟื้นฟูสภาพสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนน้ำมันชนิดต่าง ๆ ต่อไป

บรรณานุกรม

- กรมเจ้าท่า. (2559). สถิติน้ำมันรั่วไหล (OIL SPILL). เข้าถึงได้จาก <http://www.md.go.th/md2/index.php/2014-01-19-05-02-28/2014-01-19-05-14-13/2014-01-19-06-02-02/oil-spill>
- กรมโรงงานอุตสาหกรรม. (2555). อุตสาหกรรมแปรสภาพตัวทำละลายและน้ำมันหล่อลื่นใช้แล้ว. เข้าถึงได้จาก [http://www2.diw.go.th/I_Standard/Web/pane_files/Industry28 .asp](http://www2.diw.go.th/I_Standard/Web/pane_files/Industry28.asp)
- กรมควบคุมมลพิษ. (2552). อันตรายจากน้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้ว. เข้าถึงได้จาก http://www.pcd.go.th/info_serv/haz_lubri.html
- นำชัย ชีววิวรรณ. (2556). กรณีน้ำมันดิบรั่วสู่ท้องทะเล. สาระวิทย์, 2556(5), 1-3. เข้าถึงได้จาก <https://www.nstda.or.th/sci2pub/sarawit/Sarawit-Issue05.pdf>
- พิสุทธิ เพ็ชรมนกุล, ธนากร อ้อมมุกดากุลม, ลักษิกา กองวิเชียร, ภัทรศรี พักแก้ว, อรภา ปรีชาวาท, นวพร ทาเพชร และชมทิตา ชื่นแชนม. (2556). แนวทางการบำบัดน้ำมันปนเปื้อนพื้นที่ชายฝั่ง (Shoreline Treatment). เข้าถึงได้จาก <https://www.eng.chula.ac.th/th/18201>
- ภริยาพร เปรมประเสริฐ, สุภัณฑิต นิมรัตน์ และอภิรดี ปิณฑนภาคย์. (2006). ความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันเบนซินของราทะเลภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน. *Burapha Science Journal*, 11(1), 47-55.
- มูลนิธิ สืบนาคะเสถียร. (2010). น้ำมันรั่ว : กับผลกระทบที่มีต่อสิ่งแวดล้อม. เข้าถึงได้จาก http://www.seub.or.th/index.php?option=com_content&view=article&id=465:seubnews&Itemid=14
- ศรัณย์ ใจมุง, เศกสิทธิ์ เทียนบุญ และอชิระ ไพบูลย์ภิญญาเลิศ. (2012). ปีโตรเลียมทางเคมี. เข้าถึงได้จาก <https://enchemcom1p.wordpress.com>
- สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 16. (2556). น้ำมันดิบรั่วไหล คราบน้ำมันในทะเล อันตรายต่อสุขภาพ. เข้าถึงได้จาก <http://reo16.mnre.go.th/reo16/knowledge/detail/175>
- สุชาติา ชินะจิตร. (2549). น้ำมันหล่อลื่น. เข้าถึงได้จาก <http://www.chemtrack.org/News-Detail.asp?TID=1&ID=13>
- สุดสายชล หอมทอง, นเรศ เชื้อสุวรรณ และสุภัณฑิต นิมรัตน์. (2556). การกำจัดสีเมทิลเรดด้วยการดูดซับ/วิธีทางชีวภาพ. *Burapha Science Journal*, 16(2), 63-74.

- สุภัณฑิต นิมรัตน์, ไตรมาศ บุญไทย และ วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2559). การบำบัดดินที่ปนเปื้อน น้ำมันเบนซินและน้ำมันดีเซล ด้วยแบคทีเรียกลุ่มตรึงไนโตรเจน. *วารสารวิทยาศาสตร์ แห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี*, 13(1), 53-62.
- สุภัณฑิต นิมรัตน์, ไตรมาศ บุญไทย และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2560). การลดความชื้นและการ ย่อยสลายสีอะมิโดแบล็คด้วยตะกอนเร่ง ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะ แอโรบิคดีไนทริฟิเคชัน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, 19(3), 182-192.
- สุภัณฑิต นิมรัตน์, ภาพสุภา ชลครานนท์, ตีรรัตน์ สุขสวัสดิ์, ไตรมาศ บุญไทย และวีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2556). การกำจัดสีเมทิลเรดและฟีนอลเรด ด้วย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BUU005. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 41(2), 459-467.
- สุวัฒน์ หนูคีรี. (2009). น้ำมันดีเซล. เข้าถึงได้จาก <http://www.neutron.rmutphysics.com/physicsboard/forum/index.php?topic=862.0>
- Adam, G., & Duncan, H. J., (1999). Effect of diesel fuel on growth of selected plant species. *Environmental Geochemistry and Health*, 21, 353-357.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215, 403-410.
- Al-Sayegh, A., Al-Wahaibi, Y., Al-Bahry, S., Elshafie, A., Al-Bemani, A., & Joshi, S. (2015). Microbial enhanced heavy crude oil recovery through biodegradation using bacterial isolates from an Omani oil field. *Microbial Cell Factories*, 14, 1-11.
- Amallesh, S., Pinski, P., Anupam, M., Chandrima, S., Asif, L., & Das, M. (2012). Estimation of biosurfactants activity of alkaline protease producing bacteria isolated from municipal solid waste. *Central European Journal of Biology*, 1, 26-35.
- April, T. M., Foght, J. M., & Currah, R. S. (2000). Hydrocarbon-degrading filamentous fungi isolated from flare pit soils in northern and western Canada. *Canadian Journal of Microbiology*, 46, 38-49.

- Arima, K., Kakinuma, A., & Tamura, G. (1968). Surfactin, a crystalline peptidelipid surfactant produced by *Bacillus subtilis*: Isolation, characterization and its inhibition of fibrin clot formation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 3, 488-494.
- Auffret, M., Labbe, D., Thouand, G., Charles, W. G., & Fayolle-Guichard, F. (2009). Degradation of a mixture of hydrocarbons, gasoline, and diesel oil additives by *Rhodococcus aetherivorans* and *Rhodococcus wratislaviensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(24), 7774-7782.
- Bai, G., Brusseau, M. L., & Miller, R. (1997). Biosurfactant-enhanced removal of residual hydrocarbon from soil. *Journal of Contaminant Hydrology*, 25, 157-170.
- Banat, I. M. (1995a). Biosurfactants production and possible uses in microbial-enhanced oil recovery and oil pollution remediation: A review. *Bioresource Technology*, 51, 1-12.
- Banat, I. M., Makkar, R. S., & Cameotra, S. S. (2000). Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 495-508.
- Barkay, T., Navon-Venezia, S., Ron, E. Z., & Rosenberg, E. (1999). Enhancement of solubilization and biodegradation of polyaromatic hydrocarbons by the bioemulsifier *alasan*. *Applied Environmental Microbiology*, 65, 2697-2702.
- Beal, R., & Betts, W. B. (2000). Role of rhamnolipid biosurfactants in the uptake and mineralization of hexadecane in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Microbiology*, 89(1), 158-168.
- Borah, D., & Yadav, R. N. S. (2014). Biodegradation of diesel, crude oil, kerosene and used engine oil by a newly isolated *Bacillus cereus* Strain DRDU1 from an automobile engine in liquid culture. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 39, 5337-5345.
- Bordoloi, N. K., & Konwar, B. K. (2009). Bacterial biosurfactant in enhancing solubility and metabolism of petroleum hydrocarbons. *Journal of Hazardous Materials*, 170, 495-505.

- BP Products North America Inc. (2011). Material safety data sheet (fuels, diesel). Retrieved from <http://ebpaving.com/wp-content/uploads/2013/09/Diesel-Fuel-No.2-BP.pdf>
- Brusseau, M. L. (1998). The impact of physical, chemical and biological factors on biodegradation, In *Proceedings of the International Conference on Biotechnology for Soil Remediation: Scientific Bases and Practical Applications*, R. Serra (Ed.), (pp. 81–98). C.I.P.A. S.R.L., Milan, Italy.
- Brusseau, M. L., Miller, R. M., Zhang, Y., Wang, X., & Bai, G. -Y. (1995). Biosurfactant- and cosolvent-enhanced remediation of contaminated media. In *Microbial Processes for Remediation*, R. E. Hinchee, Brockman F. J., & Vogel, C. M. (Eds.), (pp. 82–94). Columbus, Ohio: Battelle Press.
- Burland, S. M., & Edwards, E. A. (1999). Anaerobic benzene biodegradation linked to nitrate reduction. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(2), 529-533.
- Cameotra, S. S., & Makkar, R. S. (2010). Biosurfactant-enhanced bioremediation of hydrophobic pollutants. *Pure and Applied Chemistry*, 82, 97-116.
- Cameotra, S. S., & Singh, P. (2008). Bioremediation of oil sludge using crude biosurfactants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62, 274-280.
- Carpenter, C. P., Geary, D. L., Myers, R. C., Nachreiner, D. J., Sullivan, L. J., & King, J. M., (1976). Petroleum hydrocarbon toxicity studies: XI. Animal and human response to vapors of deodorized kerosene. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 36(3), 443-456.
- Cerqueira, V. S., Hollenbach, E. B., Maboni, F., Vainstein, M. H., Camego, F. A. O., Peralba, M. C. R., & Bento, F. M. (2011). Biodegradation potential of oily sludge by pure and mixed bacterial cultures. *Bioresource Technology*, 102, 11003-11010.
- Chakrabarti, S. (2012). *Bacterial biosurfactant: Characterization, antimicrobial and metal remediation properties*. Doctoral dissertation, National Institute of Technology.

- ConocoPhillips. (2009). Used Lubricating oil material safety data sheet (MSDS).
Retrieved from <http://w3.conocophillips.com/NetMSDS/>
- Cooper, D. G., & Zajic, J. E. (1980). Surface active compounds from microorganism.
Advances in Applied Microbiology, 26, 229-253.
- Cooper, D. G., Liss, S. N., Longay, R., & Zajic, J. E. (1989). Surface activities of
Mycrobacterium and *Psuedomonas*. *Journal of Fermentation Technology*, 59,
97-101.
- Costner, E. A., Long, B. K., Navar, C., Jockusch, S., Lei, X., Zimmerman, P., Campion,
A., Turro, N. J., & Willson, C. G. (2009). Fundamental optical properties of
linear and cyclic alkanes: VUV absorbance and index of refraction. *The Journal
of Physical Chemistry A*, 113, 9337-9347.
- Cybulski, Z., Dziurla, E., Kaczorek, E., & Olszanowski, A. (2003). The influence of
emulsifiers on hydrocarbon biodegradation by pseudomonadacea and
bacillacea strains. *Spill Science & Technology Bulletin*, 8(5-6), 503-507.
- Dagorn, A., Chapalain, A., Mijouin, L., Hillion, M., Duclairoir-Poc, C., Chevalier, S.,
Taupin, L., Orange, N., & Feuilloley, M. G. J. (2013). Effect of GABA, a
bacterial metabolite, on *Pseudomonas fluorescens* surface properties and
cytotoxicity. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 12186-12204.
- Das, N., & Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon
contaminants: an overview. *Biotechnology Research International*, Retrieved
from doi:10.4061/2011/941810
- Demirbas, A., & Taylan, O. (2016). Removing of resins from crude oils. *Petroleum
Science and Technology*, 34(8), 71-77.
- Desai, J. D., & Banat, I. M. (1997). Microbial production of surfactants and their
commercial potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61, 47-64.
- Desantis, T. Z., Hugenholtz, P., Larsen, N., Rojas, M., Brodie, .L., Keller, K., Huber, T.,
Dalevi, D., Hu, P., & Andersen, G.L. (2006). Greengenes, a chimera-checked
16s rna gene database and workbench compatible with ARB. *Applied and
Environmental Microbiology*, 72(7), 5069-5072.

- Doerffer, J. W. (1992). *Oil Spill Response in the Marine Environment*. Pergamon Press.
- Durand, J. P. (1998) Le rôle de la CPG dans l'industrie pétrolière et la pétrochimie. De l'analyse détaillée des hydrocarbures à la distillation simulée. *Analisis*, 26, M17-M21.
- Durand, J. P., Béboulène, J. J., & Ducrozet, A. (1995). Detailed characterization of petroleum products with capillary analyzers. *Analisis*, 23, 481-483.
- Energy Information Administration, (2015). Annual Energy Outlook 2015 With Projections to 2040, Retrieved from [http://www.eia.gov/forecasts/aeo/pdf/0383\(2015\).pdf](http://www.eia.gov/forecasts/aeo/pdf/0383(2015).pdf)
- Environmental Protection Agency of United States. (2008). *Water Quality Assessment and Total Maximum Daily Loads Information*. Office of Water, U.S.,
- Farhadian, M., Vachelard, C., Duchez, D., & Larroche, C. (2008). In situ bioremediation of monoaromatic pollutants in groundwater: A review, *Bioresource Technology*, 99, 5296-5308. doi:10.1016/j.biortech.2007.10.025
- Fellenberg, G. (1980). *Introdução aos problemas da poluição ambiental*. EPU, São Paulo, SP.
- Fritsche, W., & Hofrichter, M. (2000). Aerobic degradation by microorganisms. In J. Klein (Ed.), *Environmental Processes- Soil Decontamination* (pp. 146-155). Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- Garcia, M. T., Campos, E., Dalmau, M., Illa'n, P., & Sa'nchez-Leal, J. (2006). Inhibition of biogas production by alkyl benzene sulfonates (LAS) in a screening test for anaerobic biodegradability. *Biodegradation*, 17, 39-46.
- Glover, C. J., & Bullin, J. A. (1989). Identification of heavy residual oils by GC and GCMS. *Journal of Environmental Science and Health*, 24(1), 57-75.
- Hassanahian, M., & Cappello, S. (2013). Crude Oil Biodegradation in the Marine Environments. *Intech*, Retrieved from <http://dx.doi.org/10.5772/55554>
- Hassanshahian, M., Zeynalipour, M. S., & Musa, F. H. (2014). Isolation and characterization of crude oil degrading bacteria from the Persian Gulf (Khorramshahr provenance). *Marine Pollution Bulletin*, 82, 39-44.

- Hauser, D. C., & Karnovsky, M. L. (1954). Studies on the production of glycolipid by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 68, 645-654.
- Heider, J., Spormann, A. M., Beller, H. R., & Widdel, F. (1999). Anaerobic bacterial metabolism of hydrocarbons. *FEMS Microbiology Reviews*, 22, 459-473.
- Hyne, N. J. (2001). *Nontechnical guide to petroleum geology, exploration, drilling and production*, 2nd edn, (pp. 1-4). USA: PennWell Books,
- Janbandhu, A., & Fulekar, M. H. (2011). Biodegradation of phenanthrene using adapted microbial consortium isolated from petrochemical contaminated environment. *Journal of hazardous materials*, 187(3), 333-340.
- Jukic, A. (2013). Petroleum refining and petrochemical processes Retrieved from https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/PRPP_2013_Crude_oil_composition.pdf
- Khalid, A., Waseem, A., Afzai, I., Yaqoob, M., Nabi, A., & Yasinzai, M. M. (2011). Flow injection spectrophotometric and spectrofluorimetric methods for the determination of candesartan cilexetil in pharmaceutical formulations. *Scientific Research and Essays*, 6(29), 6203-6208.
- Khehra, M. S., Saini, H. S., Sharma, D. K., Chadha, B. S., & Chimmi, S. S. (2005), Decolorization of various azo dyes by bacterial consortium. *Dyes and Pigments*, 67, 55-61.
- Kim, H. S., Yoon, B. D., Choung, D. H., Oh, H. M., Katsuragi, T., & Tani, Y. (1999). Characterization of a biosurfactant mannosylerythritolipid produced by *Candida* sp SY6. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 52, 713-721.
- Kiran, G. S., Babarathnam, B., & Selvin, J. (2010). Biofilm disruption potential of a glycolipid biosurfactant from marine *Brevibacterium casei*. *Federation of European Microbiological Societies*, 59, 432-438.
- Kumar, M., Leon, V., Materano, A. S., & Ilzins, O. A., (2007). A halotolerant and thermotolerant *Bacillus* sp. degrades hydrocarbons and produces tensio-active emulsifying agent. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 211-220.

- Kvenvolden, K. A., & Cooper, C. K. (2003). Natural seepage of crude oil into the marine environment. *Geo-Marine Letters*, 23, 140-146.
- Leahy, J. G., & Colwell, R. R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiological Reviews*, 54(3), 305-315.
- Lebrero, R., Estrada, J. M., Muñoz, R., & Quijano, G., 2012. Toluene mass transfer characterization in a biotrickling filter. *Biochemical Engineering Journal*, 60, 44-49.
- Lima, T. M. S., Proco'pio, L. C., Branda'õ, F. D., Carvalho, A. M. X., To'tola, M. R., & Borges, A. C. (2011). Biodegradability of bacterial surfactants. *Biodegradation*, 22, 585-592.
- Lin, T., Pan, P., & Cheng, S. (2010). Ex situ bioremediation of oil-contaminated soil. *Journal of hazardous materials*, 176(1-3), 27-34.
- Maletic, S., Dalmacija, B., & Roncevic, S. (2013). Petroleum Hydrocarbon Biodegradability in Soil-Implications for Bioremediation. *Hydrocabon*, 43-64. <http://dx.doi.org/10.5772/50108>
- Marchal, R., Penet, S., Solano-Serena, F., & Vandecasteele, J. P. (2003). Gasoline and diesel oil biodegradation, *Oil & Gas Science and Technology*, 58(4), 441-448.
- Mariano, A. P., Kataoka, A. P. A. G., Angelis, D. F., & Bonotto, D. M. (2007). Laboratory study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil from a petrol station. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(2), 346-353.
- Marques Jr., A. N., Moraes, R. B. C., & Maurat, M. C. (2009). Poluição Marinha (2nd ed.). In Rio de Janeiro (Ed.), *Interciência* (pp. 505-528). RJ.
- Medina-Bellver, J. I., Marin, P., Delgado, A., Rodríguez-Sánchez, A., Reyes, E., Ramos, J. L., & Marqués, S. (2005). Evidence for in situ crude oil biodegradation after the Prestige oil spill. *Environmental Microbiology*, 7(6), 773-779.
- Mnif, I., & Ghribi, D. (2015). Microbial derived surface active compounds: properties and screening concept. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31, 1001-1020.

- Mnif, I., Sahnoun, R., Ellouz-Chaabounia, S., & Ghribi, D. (2017). Application of bacterial biosurfactants forenhanced removal and biodegradation of diesel oilin soil using a newly isolated consortium. *Process Safety and Environmental Protection*, 109, 72-81.
- Montagnolli, R. N., Lopes, P. R. M., & Bidoia, E. D. (2014). Assessing *Bacillus subtilis* biosurfactant effects on the biodegradation of petroleum products. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187, 1-17. doi: 10.1007/s10661-014-4116-8
- Muthusamy, K., Gopalakrishnan, S., & Ravi, T. K. (2008) Biosurfactants: properties, commercial production and application. *Current Science*, 94, 736-774.
- Neff, J. M. (1988). Bioaccumulation and Biomagnification of Chemicals from Oil Well Drilling and Production Wastes in Marine Food Webs: A Review. *Battelle Ocean Sciences*. Massachusetts, Report to American Petroleum Institute.
- Nikolopoulou, M., & Kalogerakis, N. (2009). Biostimulation strategies for fresh and chronically polluted marine environments with petroleum hydrocarbons. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84, 802-807.
- Norman, R. S., Frontera-Suau, R., & Morris, P. J. (2002). Variability in *pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide expression during crude oil degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(10), 5096-5103.
- Olajire, A. A., & Essien, J. P. (2014). aerobic degradation of petroleum components by microbial consortia. *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology*, 5(5), 1-22.
- Olson, J. J., Mills, G. L., Herbert, B. E., & Morris, P. J. (1999) Biodegradation rates of separated diesel components. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 2448-2453.
- Parthipan, P., Preetham, E., Machuca, L. L., Rahman, P. K. S. M., Murugan, K., & Rajasekar, A. (2017). biosurfactant and degradative enzymes mediated crude oil degradation by bacterium *Bacillus subtilis* A1. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-14.

- Petroleum.co.uk (2015). An introduction to Petroleum, Retrieved from <http://www.petroleum.co.uk/>
- Peypoux, F., Bonmatin, J. M., & Wallach, J. (1999). Recent trends in the biochemistry of surfactin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *51*, 553-563.
- Pirollo, M. P. S., Mariano, A. P., Lovaglio, R. B., Costa, S. G. V. A. O., Walter, V., Hausmann, R., & Contiero, J. (2008). Biosurfactant synthesis by *Pseudomonas aeruginosa* LBI isolated from a hydrocarbon contaminated site. *Journal of Applied Microbiology*, *105*, 1484-1490.
- Pornsunthorntawe, O., Maksung, S., Huayyai, O., Rujiravanit, R., & Chavadej, S. (2009). Biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* SP4 using sequencing batch reactors: Effects of oil loading rate and cycle time. *Bioresource Technology*, *100*, 812-818.
- Prakash, A., Bisht, S., Singh, J., Teotia, P., Kela, B., & Kumar, V. (2014). Biodegradation potential of petroleum hydrocarbons by bacteria and mixed bacterial consortium isolated from contaminated sites. *Turkish Journal of Engineering & Environmental Sciences*, *38*, 41-50.
- Rahman, P. K. S. M., Rahman, T. J., Lakshmanaperumalsamy, P., Marchant, R., & Banat, I. M. (2003). The potential of bacterial isolates for emulsification with a range of hydrocarbons. *Acta Biotechnologica*, *23*(4), 335-345.
- Raju, M. N., Leo, R., Herminia, S. S., Moran, R. E. B., Venkateswarlu, K., & Laura, S. (2017). Biodegradation of diesel, crude oil and spent lubricating oil by soil isolates of *Bacillus* spp. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *98*, 698-705.
- Readman, J. W., Fowler, S. W., Villeneuve, J. -P., Cattini, C., Oregioni, B., & Mee, L. D. (1992). Oil and combustion-product contamination of the Gulf marine environment following the war. *Nature*, *358*, 662-664.
- Ron, E. Z., & Rosenberg, E. (2001). Natural roles of biosurfactant. *Environmental Microbiology*, *3*(4), 229-236.

- Rosenberg, E., & Ron, E. Z. (1998). Surface active polymers from the genus *Acinetobacter*. In D.L. Kaplan (Ed.), *Biopolymer from Renewable Resources* (pp. 281-291). New York: Springer-Verlag.
- Safdari, M. -S. Kariminia, H. -R., Nejad Z. G., & Fletcher, T. H. (2017). Study Potential of indigenous *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in bioremediation of diesel-contaminated water. *Water Air and Soil Pollution*, 228(37), 1-7.
- Salminen, J. M., Tuomi, P. M., Suortti, A., & Jorgensen, K. S. (2004). Potential for aerobic and anaerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in boreal subsurface. *Biodegradation*, 15, 29-39.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., & Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, Newyork.
- Saravanan, V., & Vijayakumar, S. (2012). Isolation and screening of biosurfactant producing microorganisms from oil contaminated soil. *Journal of Academia and Industrial Research*, 1(5), 264-268.
- Satpute, S. K., Bhawsar, B. D., Dhakephalkar, P. K., & Chopade, B. A. (2008). Assessment of different screening methods for selecting biosurfactant producing marine bacteria. *Indian Journal of Marine Sciences*, 37(3), 243-250.
- Shah, N., Nikam, R., Gaiwad, S., Sapre, V., & Kaur, J. (2016). Biosurfactant: types, detection methods, Importance and applications. *Indian Journal of Microbiology*, 3(1), 5-10.
- Singh, A., Sar, B., & Bennet, G. N. (2009). Isolation and characterization of benzene degrading bacteria from gasoline contaminated water. *Clean Technologies*, 15, 286-289.
- Singh, A. K., & Cameotra, S. S., (2013). Efficiency of lipopeptide biosurfactants in removal of petroleum hydrocarbons and heavy metals from contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 7367-7376.

- Sivapathasekaran, C., Das, P., Mukherjee, S., Saravanakumar, J., Mandal, M., & Sen, R. (2010). Marine Bacterium Derived Lipopeptides: Characterization and Cytotoxic Activity Against Cancer Cell Lines. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 16, 215-222.
- Solano-Serena, F., Marchal, R., Lebeault, J. M., & Vandecasteele, J. P. (2000). Selection of microbial populations degrading recalcitrant hydrocarbons of gasoline by culture headspace monitoring. *Letters in Applied Microbiology*, 1, 19–22.
- Souza, E. C., Vessoni-Penna, T. C., & Oliveira, R. P. S., (2014). Biosurfactant-enhanced hydrocarbon bioremediation: An overview. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 89, 88-94.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., & Kumar, S. (2007). MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24(8), 1596-1599.
- Tesoro Refining & Marketing Co. (2012). Gasoline safety data sheet. Retrieved from <http://www.andeavor.com/media/1091/gasoline-unleaded-carb.pdf>
- Thavasi, R., Jayalakshmi, S., & Banat, I. M. (2011). Effect of biosurfactant and fertilizer on biodegradation of crude oil by marine isolates of *Bacillus megaterium*, *Corynebacterium kutscheri* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Bioresource Technology*, 102, 772-778.
- The American Petroleum Institute Petroleum HPV Testing Group. (2003). High production volume (HPV) chemical challenge program. Retrieved from <http://www.petroleumhpv.org/petroleum-substances-and-categories/~media/0DA0EA3771174E9DB6F5B43B73857842.ashx>
- The international council on clean transportation. (2011). An introduction to petroleum refining and the production of ultra low sulfur gasoline and diesel fuel, Retrieved from http://www.theicct.org/sites/default/files/publications/ICCT05_Refining_Tutorial_FINAL_R1.pdf

- The international tanker owners pollution federation limited. (2013). Oil tanker spill statistics 2013, Retrieved from http://www.itopf.com/fileadmin/data/Documents/Company_Lit/OilSpillstats_2013.pdf
- Thenmozhi, R., Sornalaksmi, A. Praveenkumar, D., & Nagasathya, A. (2011). Characterization of biosurfactant produced by bacterial isolates from engine oil contaminated soil, *Advances in Environmental Biology*, 5(8), 2402-2408.
- Turner, D. A., Pichtel, J., Rodenas, Y., McKillip, J., & Goodpaster, J. V. (2015). Microbial degradation of gasoline in soil: Effect of season of sampling. *Forensic Science International*, 251, 69-76.
- Ucar, D., Zhang, Y., & Angelidaki, I. (2017). An overview of electron acceptors in microbial fuel cells. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-14. doi: 10.3389/fmicb.2017.00643
- Varadavenkatesan, T., & Murty, V. R. (2013). Production of a lipopeptide biosurfactant by a novel *Bacillus* sp. and its applicability to enhanced oil recovery. *Hindawi Publishing Corporation*, 1-9. doi: 10.1155/2013/621519
- Vijayakumar, S., & Saravanan, V. (2015). Biosurfactants-Types, Sources and Applications. *Research Journal of Microbiology*, 10(5), 181-192.
- Vogt, C., Kleinstuber, S., & Richnow, H. H. (2011). Anaerobic benzene degradation by bacteria. *Microbial Biotechnology*, 4, 710-724.
- Wang, H., Wang, B., Dong, W., & Hu, X. (2016). Co-acclimation of bacterial communities under stresses of hydrocarbons with different structures. *Scientific Reports*, 6, 1-12. doi: 10.1038/srep34588
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16s Ribosomal dna amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173(2), 697-703.
- Yang, C., Yang, Z., Zhang, G., Hollebhone, B., Landriault, M., Wang, Z., Lambert, P., & Brown, C. E. (2015). Characterization and differentiation of chemical fingerprints of virgin and used lubricating oils for identification of contamination or adulteration sources. *Fuel*, 163, 271-281.

- Yeung, C. W., Law, B. A., Milligan, T. G., Lee, K., Whyte, L. G., & Greer, C. W., (2011). Analysis of bacterial diversity and metals in produced water, seawater and sediments from an off shore oil and gas production platform. *Marine Pollution Bulletin*, 62, 2095-2105.
- Zali, M. A., Ahmad, W. K. W., Retnam, A., & Cateina, N. (2015). Concentration of heavy metals in virgin, used, recovered and waste oil: a spectroscopic study. *International Conference on Environmental Forensics*, 30, 201-204.
- Zawierucha, I., & Malina, G. (2011). Effects of oxygen supply on the biodegradation rate in oil hydrocarbons contaminated soil. *Journal of Physics: Conference Series* 289, (1-8). doi:10.1088/1742-6596/289/1/012035
- Zhang, X., Xu, D., Yang, G., Zhang, H., Li, J., & Shim, H., (2012). Isolation and characterization of rhamnolipid producing *Pseudomonas aeruginosa* strains from waste edible oils. *African Journal of Microbiology Research*, 6(7), 1466-1471.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Citrate utilization test

ส่วนประกอบของอาหาร

Sodium chloride	5.0	กรัม
Sodium citrate	2.0	กรัม
Ammonium dihydrogen phosphate	1.0	กรัม
Dipotassium phosphate	1.0	กรัม
Magnesium sulfate	0.2	กรัม
Bromthymol blue	0.08	กรัม
Agar	15.0	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนประกอบทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 x 100 มิลลิเมตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว วางหลอดอาหารแบบเอียง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีสีเขียว

2. Lysine Indole Motility medium (LIM)

ส่วนประกอบของอาหาร

Peptone	10.0	กรัม
L-lysine dihydrochloride	10.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Dextrose	1.0	กรัม
L-tryptophan	0.5	กรัม
Bromcresol purple	0.02	กรัม
Agar	3.0	กรัม

pH 6.6 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนประกอบทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 x 100 มิลลิเมตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. Voges-Proskauer test (VP test)

ส่วนผสมของอาหาร

Peptone	9.0	กรัม
Glucose	5.0	กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	5.0	กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนผสมทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 x 100 มิลลิเมตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. Nitrate test

ส่วนผสมของอาหาร

Peptone	5.0	กรัม
Beef extract	3.0	กรัม
Potassium nitrate	1.0	กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มจนส่วนผสมทั้งหมดละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 x 100 มิลลิเมตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5. Tryptic Soy Broth (TSB)

ส่วนผสมของอาหาร

Pancreatic Digest of Casein	15.0	กรัม
Enzymatic Digest of Soybean Meal	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม

pH 7.3±0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6. Tryptic Soy Agar (TSA)

ส่วนประกอบของอาหาร

Pancreatic Digest of Casein	15.0	กรัม
Enzymatic Digest of Soybean Meal	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

pH 7.3±0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

7. การหมักย่อยน้ำตาลต่าง ๆ

ส่วนประกอบอาหาร

Peptone	10.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Bromcresol purple	0.02	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ใช้เป็น Basal medium แต่งจึงเติมน้ำตาลที่ต้องการทดสอบลงไป โดยความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 1% และใส่ในหลอดทดลองขนาด 16x150 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 5 มิลลิลิตร และใส่หลอดดักก๊าซ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที

8. ความสามารถในการเจริญที่ไซเตียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ส่วนประกอบอาหาร

Peptone	0.1	กรัม
Sodium chloride (เติมตามความเข้มข้นที่ต้องการ)		

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ผสมให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำใส่หลอดขนาด 13 x 100 มิลลิเมตรหลอดละ 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

9. Mineral salt medium

ส่วนประกอบอาหาร

ธาตุอาหารหลัก

Disodium hydrogen phosphate	3.6	กรัม
Ammonium sulfate	1.0	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	1.0	กรัม
Magnesium sulfate	1.0	กรัม
Calcium chloride dihydrate	1.0	กรัม
Ferric Ammonium citrate	0.01	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 990 มิลลิลิตร

ธาตุอาหารรอง

Zinc sulfate heptahydrate	10.0	กรัม
Manganese chloride tetrahydrate	3.0	กรัม
Cobalt chloride hexahydrate	1.0	กรัม
Nickel chloride hexahydrate	2.0	กรัม
Sodium molybdate dihydrate	3.0	กรัม
Boric acid	30.0	กรัม
Copper sulfate dihydrate	1.0	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

นำธาตุอาหารรองปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมลงในส่วนของธาตุอาหารหลัก จากนั้นนำไป
 ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข
วิธีการเตรียมน้ำยาทดสอบ

1. ชุดย้อมแกรม (Gram stain solution)

Crystal violet stain

Crystal violet (Gentain violet)	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

Decolourizer

95% ethanol	250	มิลลิลิตร
Acetone	250	มิลลิลิตร

Gram iodine solution

Iodine	1.0	กรัม
Potassium iodine	2.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

Safranin O solution

Safranin	2.5	กรัม
Ethanol	100	มิลลิลิตร

2. 3% Hydrogen peroxide solution

H ₂ O ₂	3.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

3. Kovac's reagent

Isoamyl alcohol	150	มิลลิลิตร
<i>p</i> -dimethyl aminobenzaldehyde	10.0	กรัม
Hydrochloric acid (conc.)	50	มิลลิลิตร

นำ *p*-dimethyl aminobenzaldehyde ละลายในแอลกอฮอล์ จากนั้นจึงค่อย ๆ เติมกรดลงไปอย่างช้า ๆ

4. MR reagent

Methyl red	0.5	กรัม
Ethyl alcohol 95%	300	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	200	มิลลิลิตร

ละลาย Methyl red ใน Ethyl alcohol 95% จากนั้นเติมน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน

5. Nitrate reagent

Solution A

Sulfanilic acid	8.0	กรัม
Acetic acid, 5 N	1,000	มิลลิลิตร

Solution B

Alpha-naphthylamine	5.0	กรัม
Acetic acid, 5 N	1,000	มิลลิลิตร

6. Oxidase test

N,N,N,N-tetramethyl- <i>p</i> -phenylenediamine (TMPD)	10.0	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

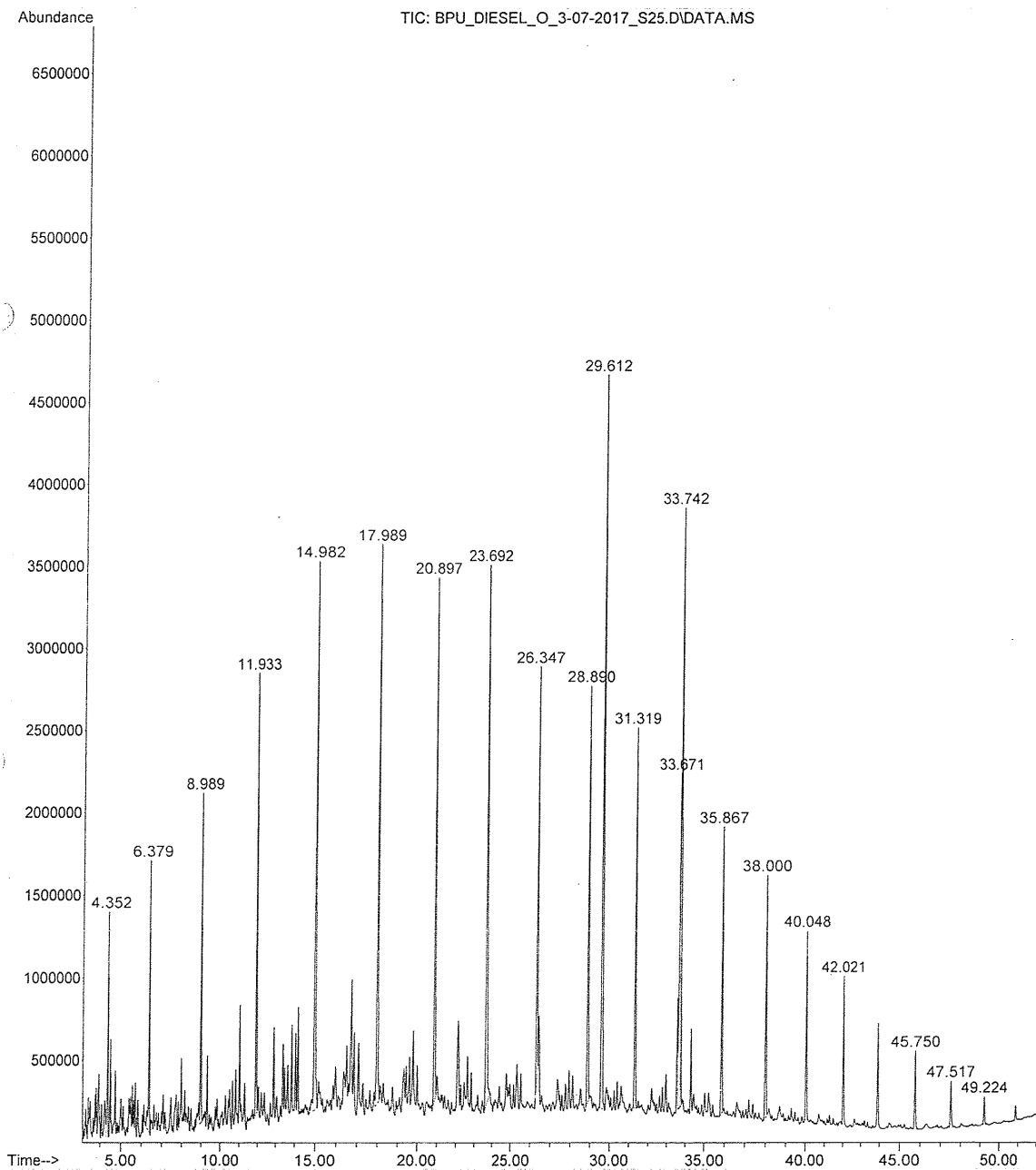
ละลายสารนี้ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมทั้งหมดให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

(ห้ามถูกแสง)

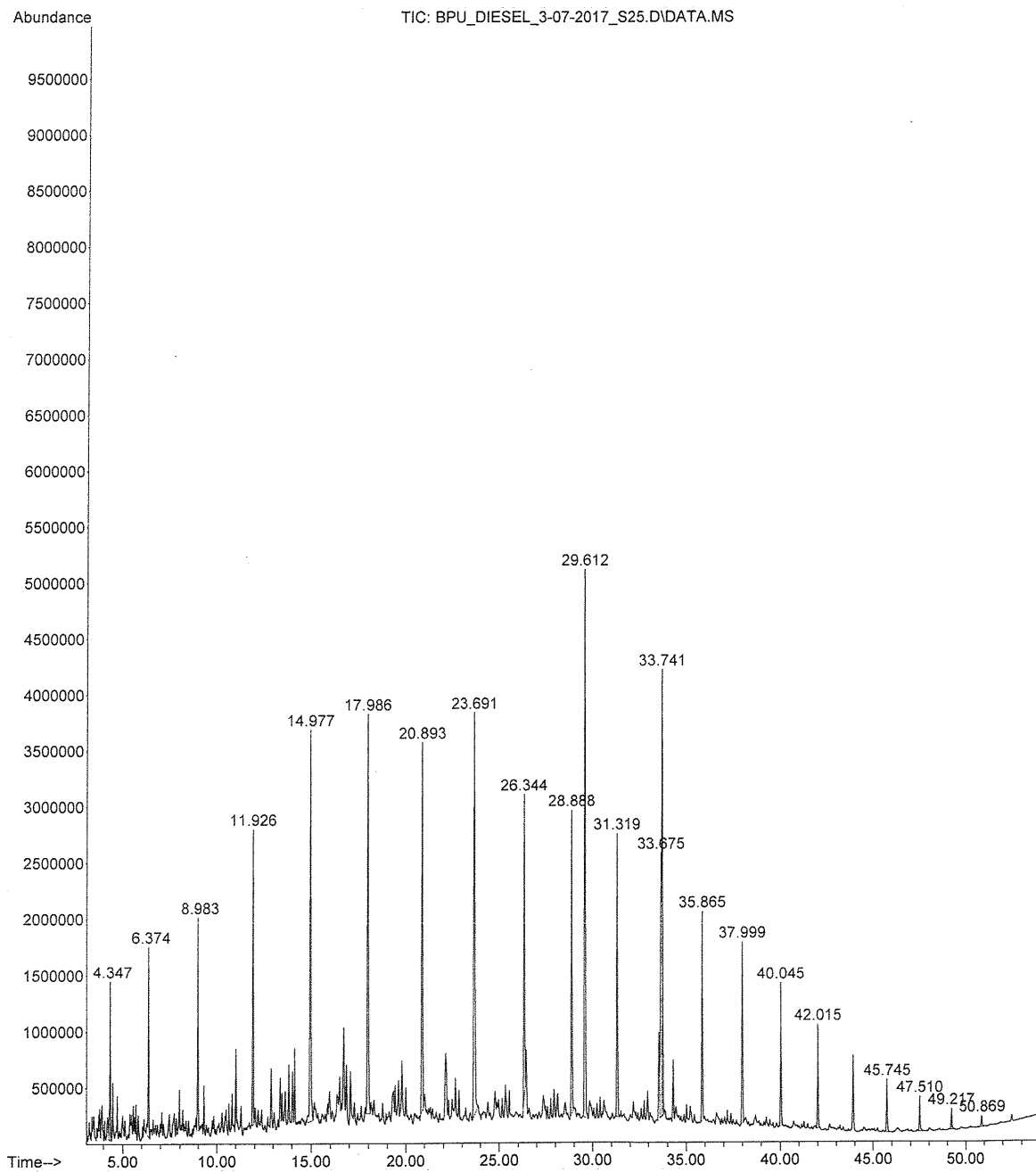
ภาคผนวก ค

ผลการวิเคราะห์การย่อยสลายน้ำมันทั้ง 4 ชนิด จากการย่อยสลายของ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ SE1 ในสภาพที่มีออกซิเจน ภายในระยะเวลา 35 วัน

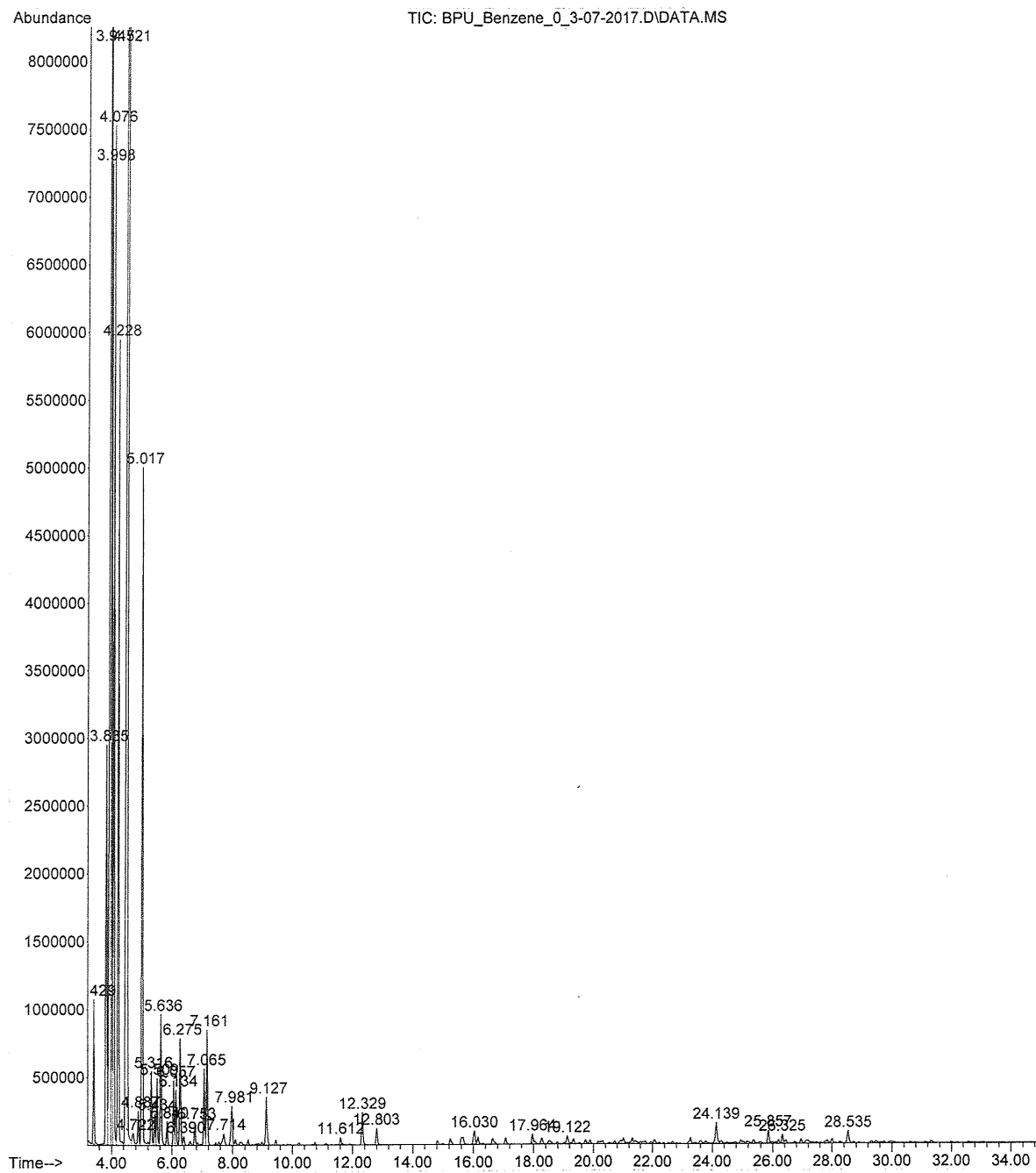
File : C:\msdchem\1\data\2017\BPU_DIESEL_O_3-07-2017_S25.D
Operator :
Acquired : 4 Jul 2017 11:48 using AcqMethod Biodiesel_S25.M
Instrument : GCMSD
Sample Name :
Misc Info :
Vial Number: 3



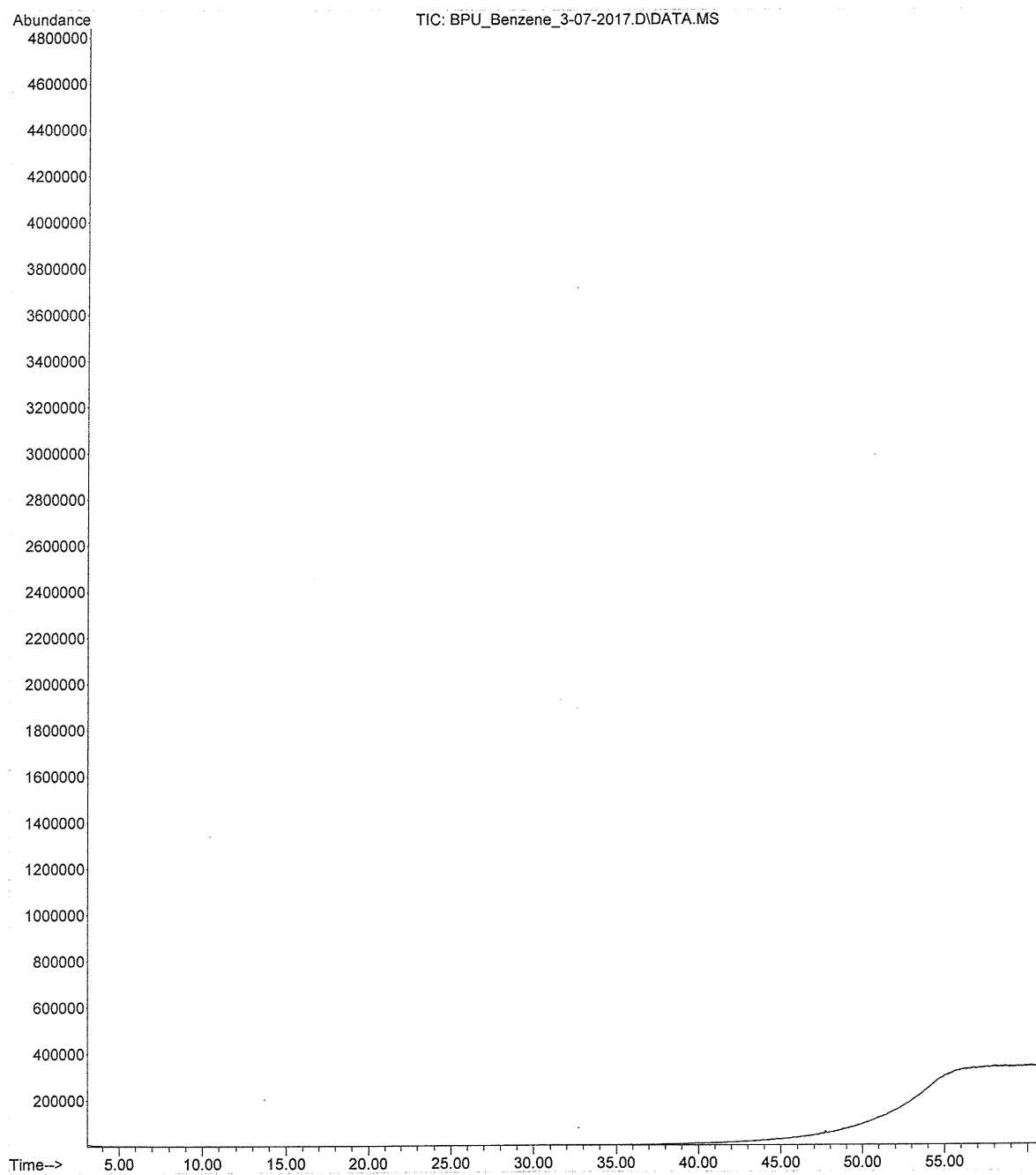
File :C:\msdchem\1\data\2017\BPU_DIESEL_3-07-2017_S25.D
Operator :
Acquired : 4 Jul 2017 13:51 using AcqMethod Biodiesel_S25.M
Instrument : GCMSD
Sample Name:
Misc Info :
Vial Number: 4



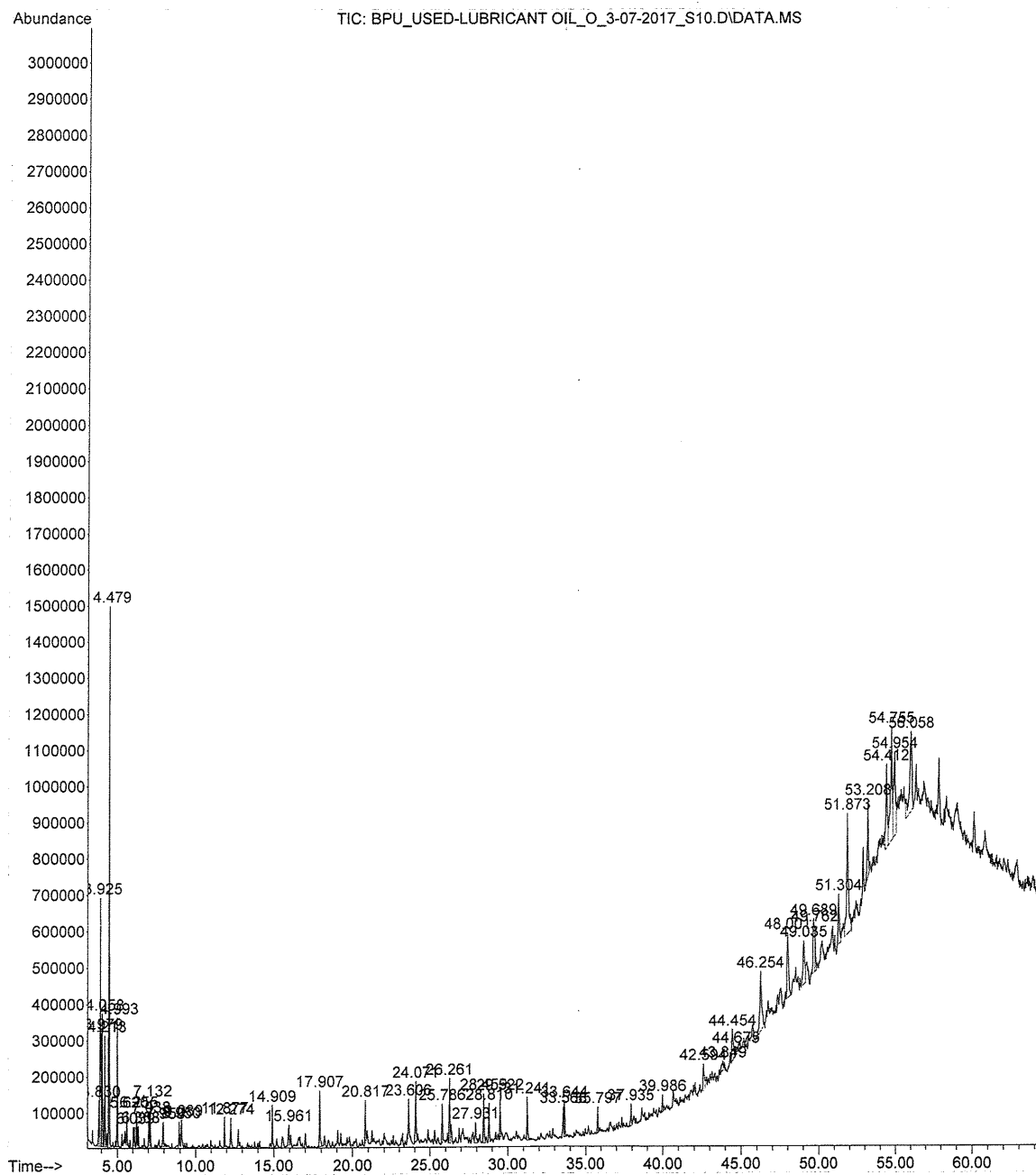
File : C:\msdchem\1\data\2017\BPU_Benzene_0_3-07-2017.D
Operator :
Acquired : 4 Jul 2017 9:02 using AcqMethod BIODIESEL_S25.M
Instrument : GCMSD
Sample Name: Benzene_0_3-07-2017
Misc Info :
Vial Number: 1



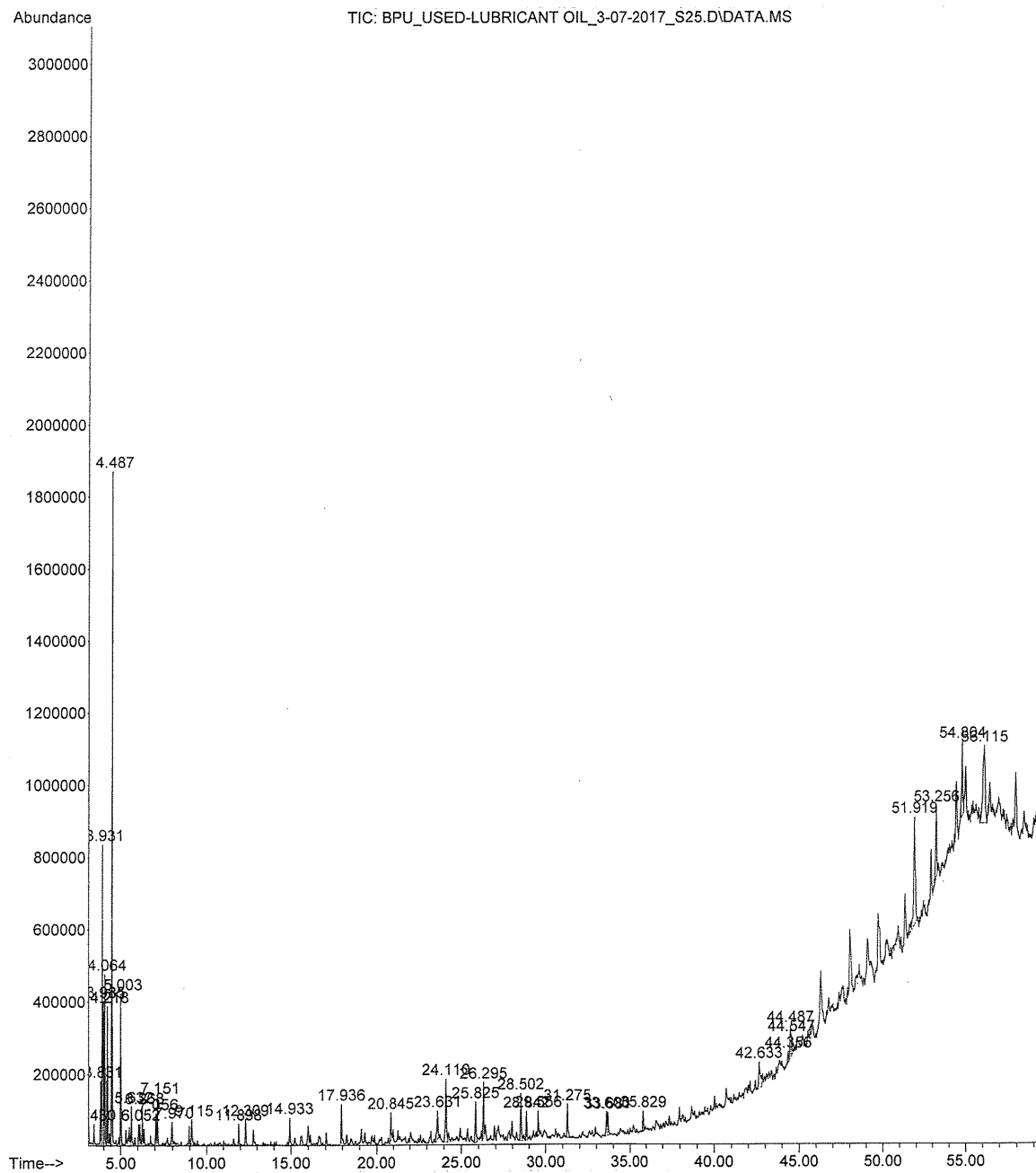
File :C:\msdchem\1\data\2017\BPU_Benzene_3-07-2017.D
Operator :
Acquired : 4 Jul 2017 10:21 using AcqMethod BIODIESEL_S25.M
Instrument : GCMSD
Sample Name: Benzene_3-07-2017
Misc Info :
Vial Number: 2



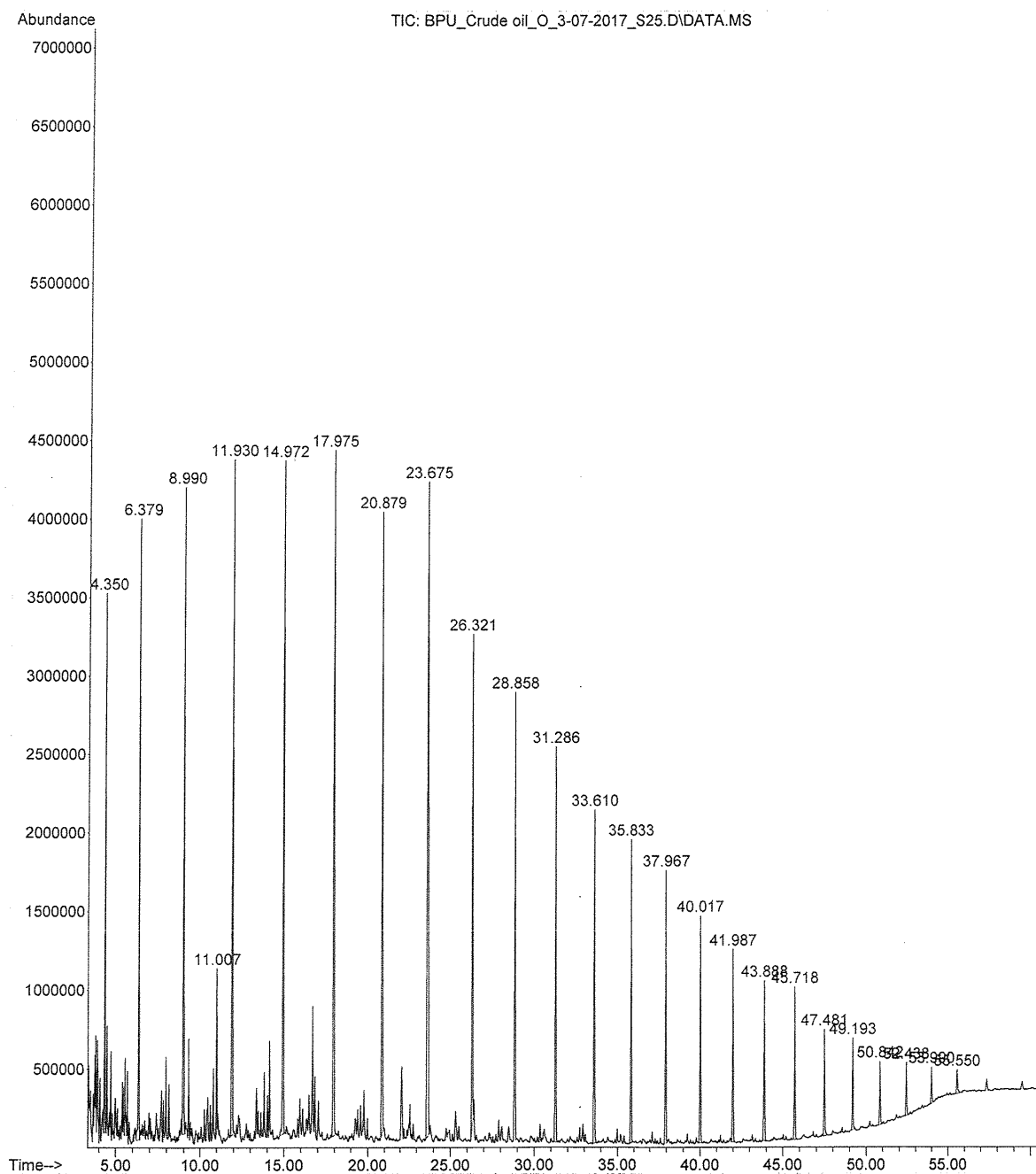
File :C:\msdchem\1\data\2017\BPU_USED-LUBRICANT OIL_O_3-07-2017_S1
... 0.D
Operator :
Instrument : GCMSD
Acquired : 5 Jul 2017 8:41 using AcqMethod BIODIESEL.M
Sample Name:
Misc Info :



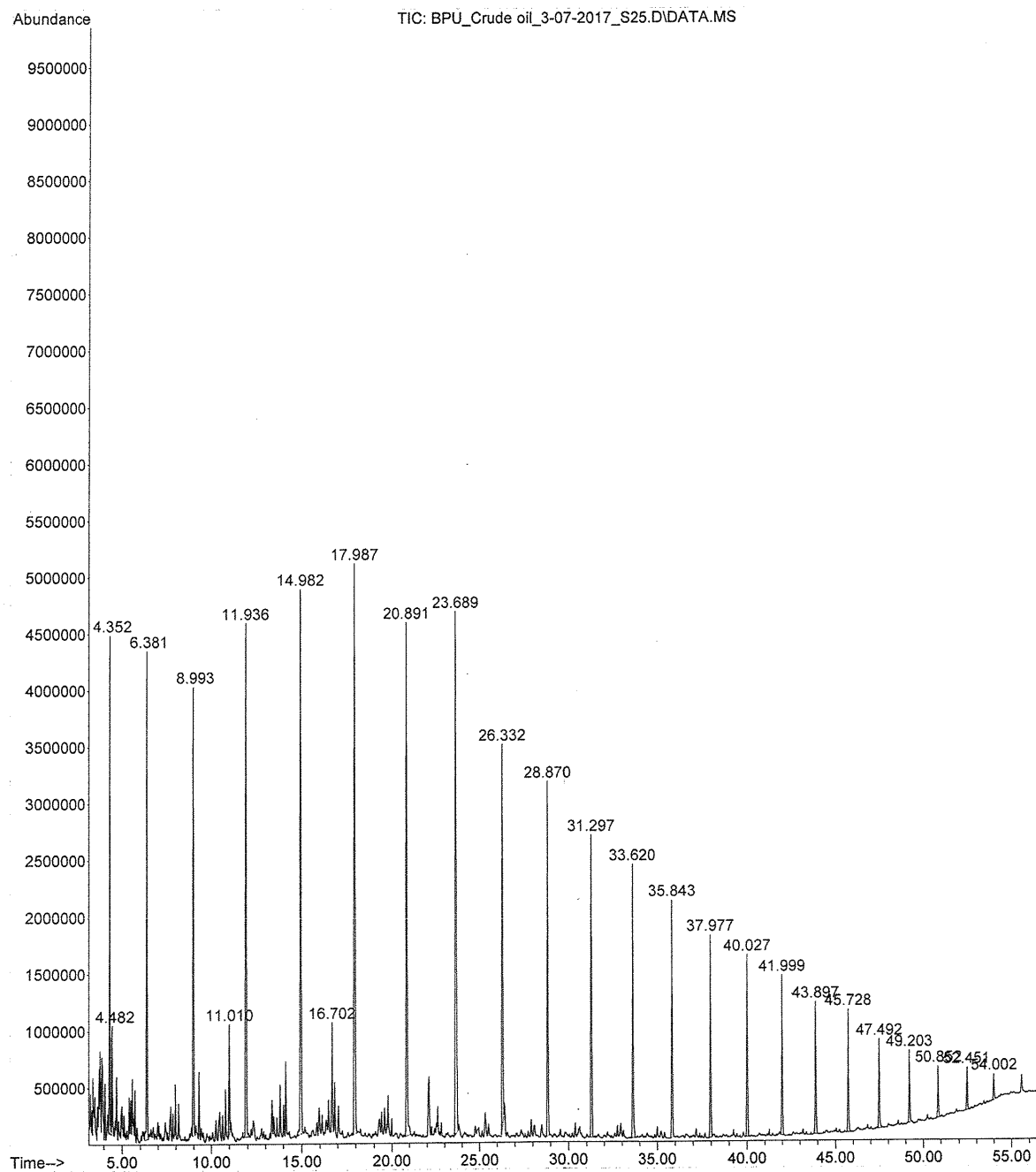
File :C:\msdchem\1\data\2017\BPU_USED-LUBRICANT OIL_3-07-2017_S25.D
Operator :
Acquired : 4 Jul 2017 15:14 using AcqMethod Biodiesel_S25.M
Instrument : GCMSD
Sample Name:
Misc Info :
Vial Number: 5




File :C:\msdchem\1\data\2017\BPU_Crude oil_O_3-07-2017_S25.D
Operator :
Acquired : 4 Jul 2017 19:15 using AcqMethod BIODIESEL_S25.M
Instrument : GCMSD
Sample Name: BPU_Crude oil_O_3-07-2017_S25
Misc Info :
Vial Number: 3



File :C:\msdchem\1\data\2017\BPU_Crude oil_3-07-2017_S25.D
Operator :
Acquired : 4 Jul 2017 17:56 using AcqMethod BIODIESEL_S25.M
Instrument : GCMSD
Sample Name: BPU_Crude oil_3-07-2017_S25
Misc Info :
Vial Number: 2



Result Report				
Research No. : 6000036		 <p>RSU Scientific and Technological Research Equipment Center Rangsit University (RSU-STREC) 52/347 Muang -Ake, Paholyothin road Pathumthani 12000, Thailand Tel. 02-9972222 ext. 5170</p>		
Customer : น.ส. สมฤทัย ลูกจันทร์				
Date received : June 30, 2017				
Date analyzed : July 5, 2017				
Instrument : GC-MS 7890A 5975 C MSD Agilent Technologies				
column : Mega-MS (30m x 0.25 mm; 0.25 µm)				
Oven : 90°C for 2 min, 90-300°C at 4°C/min				
Injector : 300°C				
Split ratio : 1: 25				
Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
1. น้ำมันดีเซล (O)	4.353	1. Decane	2.11	97
	6.380	2. Undecane	3.02	97
	8.995	3. Dodecane	3.53	96
	11.937	4. Tridecane	5.30	96
	14.985	5. Tetradecane	8.17	98
	17.986	6. Pentadecane	7.91	98
	20.894	7. Hexadecane	6.92	98
	23.695	8. Heptadecane	9.26	98
	26.345	9. Octadecane	5.22	98
	28.889	10. Nonadecane	5.54	98
	29.616	11. Hexadecanoic acid, methyl ester	10.88	99
	31.315	12. Eicosane	5.14	99
	33.672	13. Heneicosane	5.31	98
	33.742	14. 11-Octadecenoic acid, methyl ester	7.73	99
		7-Octadecenoic acid, methyl ester		99
	10-Octadecenoic acid, methyl ester	99		
35.864	15. Docosane	3.92	98	

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
1. น้ำมันดีเซล (O)	37.998	16. Tricosane	3.31	98
		Octadecane		97
		Octacosane		94
	40.049	17. Tetracosane	2.60	99
	42.019	18. Pentacosane	1.89	97
		Heneicosane		97
		Heptadecane		95
	45.746	19. Heptacosane	1.09	97
		Heneicosane		96
	47.517	20. Octacosane	0.73	98
		Eicosane		96
	49.228	21. Nonacosane	0.42	94
		3-Eicosene, (E)-		92
		Pentatriacontane		91
2. น้ำมันเบนซิน (O)	3.427	1. Benzene, (1-methylethyl)-	1.24	94
		Benzene, 1,2,3-trimethyl-		91
	3.837	2. Benzene, propyl-	4.47	91
	3.943	3. Benzene, 1-ethyl-3-methyl-	19.34	97
		Benzene, 1-ethyl-2-methyl-		95
	4.001	4. Benzene, 1-ethyl-2-methyl	7.86	95
		Bezene, 1-ethyl-3-methyl-		91
	4.071	5. Mesitylene	8.81	97
		Benzene, 1,2,3-trimethyl-		97
	4.224	6. Benzene, 1-ethyl-2-methyl-	7.38	94
		Bezene, 1-ethyl-3-methyl-		91
4.517	7. Benzene, 1,2,3-trimethyl-	31.22	97	
	Benzene, 1,2,4-trimethyl-		95	
4.728	8. Benzene, (1-methylpropyl)-	0.23	91	
4.892	9. p-Cymene	0.35	97	

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
2. น้ำมันเบนซิน (O)	4.892	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-	0.35	95
		o-Cymene		94
	5.021	10. Benzene, 1,2,3-trimethyl-	7.00	95
		Benzene, 1,2,4-trimethyl-		91
	5.314	11. Indane	0.76	92
	5.431	12. Benzene, 1,3-diethyl-	0.32	97
		Benzene, 1,2-diethyl-		96
	5.513	13. Benzene, 1-methyl-3-propyl-	0.68	95
		Benzene, 1-methyl-4-propyl-		91
	5.642	14. Benzene, 1-ethyl-3, 5-dimethyl-	1.43	94
		Benzene, 4-ethyl-1, 2-dimethyl-		93
		Benzene, 1-ethyl-2, 3-dimethyl-		93
	5.841	15. Benzene, 1-methyl-4-propyl-	0.26	94
		Benzene, 1-methyl-2-propyl-		91
	6.052	16. Benzene, 2-ethyl-1, 4-dimethyl	0.68	97
		Benzene, 4-ethyl-1, 2-dimethyl		96
	6.134	17. o-Cymene	0.60	97
		Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-		95
	6.275	18. Benzene, 2-ethyl-1, 3-dimethyl-	1.17	95
		o-Cymene		95
	6.392	19. o-Cymene	0.13	97
		p-Cymene		97
6.756	20. Benzene, 2-ethyl-1, 4-dimethyl	0.26	96	
	Benzene, 4-ethyl-1, 2-dimethyl		96	
	p-Cymene		95	
7.060	21. Benzene, 1,2,3,4-tetramethyl-	0.85	97	
	Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-		97	
	Benzene, 1,2,3,5-tetramethyl-		95	
7.166	22. Benzene, 1,2,3,4-tetramethyl-	1.29	97	

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
2. น้ำมันเบนซิน (O)	7.166	Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-	1.29	97
		Benzene, 1,2,3,5-tetramethyl-		95
	7.717	23. 1H-Indene, 2,3-dihydro-5-methyl- or 5-Methylindan	0.22	95
		1H-Indene, 2,3-dihydro-4-methyl- or 4-Methylindan		94
	7.987	24. Benzene, 1-ethyl-2, 4-dimethyl	0.58	94
		o-Cymene		94
	9.124	25. Naphthalene	0.71	94
		Azulene		93
	11.609	26. Benzene, pentamethyl	0.08	96
	12.324	27. Naphthalene, 1-methyl-	0.46	96
		Naphthalene, 2-methyl-		96
	12.805	28. Naphthalene, 2-methyl-	0.24	96
		Naphthalene, 1-methyl-		96
	16.029	29. Naphthalene, 2,3-dimethyl-	0.23	98
Naphthalene, 1,2-dimethyl-		97		
17.963	30. 1,1' -Biphenyl, 4-methyl-	0.11	96	
	1,1' -Biphenyl, 3-methyl-		96	
19.123	31. Naphthalene, 1,4,5-trimethyl-	0.14	92	
	Naphthalene, 1,6,7-trimethyl-		92	
3. น้ำมันเครื่องใช้แล้ว (O)	3.825	1. Benzene, propyl-	0.86	91
	3.931	2. Benzene, 1-ethyl-3-methyl-	4.66	95
		Benzene, 1-ethyl-2-methyl-		95
	3.978	3. Benzene, 1-ethyl-2-methyl-	1.84	95
		Benzene, 1,2,4-trimethyl-		91
	4.060	4. Benzene, 1,2,3-trimethyl-	2.45	97
		Mesitylene		97
4.212	5. Benzene, 1-ethyl-2-methyl-	2.15	95	
	Benzene, 1-ethyl-3-methyl-		91	
4.481	6. Benzene, 1,2,3-trimethyl-	10.46	97	

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
3. น้ำมันเครื่องใช้แล้ว (O)	4.481	6. Benzene, 1,2,4-trimethyl-	10.46	95
		Mesitylene		94
	4.997	7. Benzene, 1,2,3-trimethyl-	2.57	97
	5.618	8. Benzene, 1-ethyl-2,3-dimethyl-	0.64	94
		Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl-		94
		Benzene, 1-ethyl-3,5-dimethyl-		94
	6.252	9. Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl-	0.77	96
		Benzene, 4-ethyl-1,2-dimethyl-		96
		o-Cymene		95
	6.357	10. Undecane	0.43	96
	7.037	11. Benzene, 1,2,3,5-tetramethyl-	0.71	96
		Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-		96
	7.131	12. Benzene, 1,2,3,5-tetramethyl-	1.03	96
		Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-		95
		Benzene, 1,2,3,4-tetramethyl-		95
	7.951	13. Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-	0.65	93
		Benzene, 1,2,3,5-tetramethyl-		91
		p-Cymene		90
	8.948	14. Dodecane	0.55	96
	9.088	15. Naphthalene	0.86	93
		1H-Indene, 1-methylene		89
	11.879	16. Tridecane	0.62	97
12.277	17. Naphthalene, 2-methyl	0.80	96	
14.915	18. Tetradecane	0.98	97	
15.958	19. Naphthalene, 2,3-dimethyl-	0.65	98	
	Naphthalene, 1,3-dimethyl-		97	
17.904	20. Pentadecane	1.45	95	
20.823	21. Hexadecane	0.92	98	
23.602	22. Heptadecane	0.90	97	

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
3. น้ำมันเครื่องใช้แล้ว (O)	24.071	23. Naphthalene, 1,2,3-trimethyl-4-propenyl-, (E)-	1.82	86
	25.782	24. Anthracene, 1,2,3,4-tetrahydro-9-propyl-	1.00	90
	26.263	25. Octadecane	1.64	93
	28.807	26. Nonadecane Octacosane	0.96	98
				93
	29.522	27. Hexadecanoic acid, methyl ester Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	1.03	99
				98
	31.245	28. Eicosane	1.15	98
	33.566	29. Heneicosane	0.83	98
	33.648	30. Cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- 11-Octadecenoic acid, methyl ester	0.95	99
				99
				99
	35.794	31. Docosane Hexacosane	0.61	97
				93
	37.939	32. Tricosane	0.65	95
	39.990	33. Tetracosane 1-Bromodocosane Pentatriacontane	0.44	95
				87
				87
	42.593	34. Nonahexacontanoic acid	1.17	90
	43.847	35. Octatriacontyl pentafluoropropionate Tetratriacontyl pentafluoropropionate Hexatriacontyl pentafluoropropionate	0.50	93
93				
93				
44.457	36. Tricosane Silane, trichlorooctadecyl- 1-Docosene	1.45	92	
			91	
			91	
44.680	37. Pentacosane	0.16	80	
46.251	38. Hexacosane 1-Bromodocosane	3.45	95	
			94	
47.997	39. Octacosane	3.19	95	

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
3. น้ำมันเครื่องใช้แล้ว (O)	49.685	40. Octacosane	2.26	95
		Heptacosane, 1-chloro-		92
	49.767	41. Octacosane	1.21	91
		Heptacosane		91
		Hexatriacontyl pentafluoropropionate		90
	51.303	42. Octacosane	2.09	95
		1-Bromodocosane		92
		Hentriacontane		92
	51.878	43. 28-Nor-17. alpha. (H)-hopane	6.82	91
	53.202	44. 1H-Indene, 5-butyl-6-hexyloctahydro-	2.65	72
	54.410	45. Hentriacontane	3.74	95
		Heptacosane		95
		17-Pentatriacontene		95
	54.750	46. 2-Dodecen-1-yl (-) succinic anhydride	6.55	90
54.949	47. 2-Dodecen-1-yl (-) succinic anhydride	5.31	70	
56.063	48. Octadecane, 1-iodo-	6.36	90	
	Octacosane		90	
4. น้ำมันดิบ (O)	4.352	1. Decane	4.13	97
	6.380	2. Undecane	5.66	97
	8.995	3. Dodecane	6.57	96
	11.011	4. Decane, 2-methyl	1.52	83
	11.925	5. Tridecane	7.58	98
	14.973	6. Tetradecane	8.32	98
	17.974	7. Pentadecane	8.42	98
	20.882	8. Hexadecane	7.80	98
	23.672	9. Heptadecane	10.33	97
	26.321	10. Octadecane	5.62	99
	28.853	11. Nonadecane	5.26	98
	31.292	12. Eicosane	4.59	99

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
4. น้ำมันดิบ (O)	33.613	13. Heneicosane	4.12	98
	35.829	14. Docosane	3.45	98
	37.962	15. Tricosane	3.09	98
		Octadecane		97
		Hexacosane		94
	40.014	16. Tetracosane	2.61	99
	41.983	17. Heneicosane	2.29	97
		Pentacosane		96
	43.882	18. Hexacosane	1.96	99
		Heneicosane		97
	45.723	19. Heptacosane	1.82	99
		Heptadecane		96
	47.481	20. Octacosane	1.40	99
		Heneicosane		97
	49.193	21. Nonacosane	1.10	98
		Heneicosane		97
	50.846	22. Docosane	0.83	97
		Tricosane		97
		Hexadecane, 1-iodo-		96
	52.440	23. Octadecane, 1-iodo-	0.70	97
Octacosane		97		
Tricosane		97		
53.988	24. Octacosane	0.46	98	
	Docosane		97	
	Octadecane, 1-iodo-		97	
55.547	25. Tricosane	0.40	95	
	Octacosane		95	
	Eicosane		95	
5. น้ำมันดีเซล	4.352	1. Decane	1.98	97

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
5. น้ำมันดีเซล	6.369	2. Undecane	2.75	97
	8.983	3. Dodecane	3.17	96
	11.925	4. Tridecane	4.83	98
	14.973	5. Tetradecane	7.77	98
	17.986	6. Pentadecane	7.71	98
	20.893	7. Hexadecane	6.94	98
	23.695	8. Heptadecane	9.49	98
	26.345	9. Octadecane	5.33	99
	28.889	10. Nonadecane	5.71	98
	29.615	11. Hexadecanoic acid, methyl ester	11.25	99
	31.315	12. Eicosane	5.28	99
	33.672	13. Heneicosane	5.65	97
	33.742	14. 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E) - 9-Octadecenoic acid (Z) -, methyl ester Cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester	7.83	99
				99
				99
	35.864	15. Docosane	3.95	98
		Octadecane		97
	37.997	16. Tricosane	3.37	97
		Heneicosane		97
		Octadecane, 2-methyl-		94
40.049	17. Tetracosane	2.64	99	
42.018	18. Pentacosane	1.92	97	
	Heneicosane		97	
	Heptadecane		94	
45.746	19. Heptacosane	1.08	99	
	Heneicosane		97	
	Docosane		97	
47.505	20. Tetracosane	0.70	98	
	Octacosane		96	

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
5. น้ำมันดีเซล	47.505	Tetratetracontane	0.70	95
	49.216	21. Eicosane	0.41	96
		Nonacosane		95
		Tetratetracontane		91
	50.869	22. Eicosane	0.25	92
		Cycloeicosane		91
Docosane, 9-octyl-		90		
6. น้ำมันเบนซิน	Not found			
7. น้ำมันเครื่องใช้แล้ว	3.427	1. Benzene, (1-methylethyl)-	0.43	95
	3.825	2. Benzene, propyl-	1.32	91
	3.931	3. Benzene, 1-ethyl-3-methyl-	6.14	95
		Benzene, 1-ethyl-2-methyl-		95
	3.989	4. Benzene, 1-ethyl-2-methyl-	2.60	95
		Benzene, 1,2,3-trimethyl-		91
	4.060	5. Mesitylene	3.25	97
		Benzene, 1,2,3-trimethyl-		97
	4.224	6. Benzene, 1-ethyl-2-methyl-	2.78	95
		Benzene, 1,2,3-trimethyl-		91
	4.493	7. Benzene, 1,2,3-trimethyl-	13.44	97
		Benzene, 1,2,4-trimethyl-		95
		Mesitylene		94
	5.009	8. Benzene, 1,2,3-trimethyl-	3.24	97
Benzene, 1,2,4-trimethyl-		94		
5.630	9. Benzene, 1-ethyl-3,5-dimethyl-	0.96	95	
	Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl-		93	
6.052	10. Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl-	0.47	96	
	Benzene, 4-ethyl-1,2-dimethyl-		96	
6.263	11. Benzene, 4-ethyl-1,2-dimethyl-	0.79	96	
	Benzene, 2-ethyl-1,4-dimethyl-		95	

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
7. น้ำมันเครื่องใช้แล้ว	6.263	Benzene, 2-ethyl-1,3-dimethyl-	0.79	95
	7.060	12. Benzene, 1,2,3,4-tetramethyl-	0.77	97
		Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-		96
	7.154	13. Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-	1.16	96
		Benzene, 1,2,3,4-tetramethyl-		95
	7.975	14. Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-	0.71	93
		o-Cymene		90
		p-Cymene		90
	9.112	15. Naphthalene	0.85	94
		1H-Indene, 1-methylene-		93
	11.902	16. Tridecane	0.50	97
	12.312	17. Naphthalene, 2-methyl-	0.83	96
		Naphthalene, 1-methyl-		96
	14.938	18. Tetradecane	0.80	97
	17.939	19. 1,1'-Biphenyl, 4-methyl-	0.98	91
		Pentadecane		91
	20.847	20. Hexadecane	0.75	98
	23.625	21. Heptadecane	1.09	98
	24.106	22. Naphthalene, 1,2,3-trimethyl-4-propenyl-, (E) -	2.38	86
	26.298	23. Octadecane	1.48	92
	28.842	24. Nonadecane	0.94	98
		Docosane		81
	29.557	25. Hexadecanoic acid, methyl ester	0.74	98
	31.280	26. Eicosane	1.14	98
	33.601	27. Heneicosane	0.78	98
	33.683	28. 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E) -	0.75	99
		11-Octadecenoic acid, methyl ester		99
		Cis-13-Octadecenoic acid, methyl ester		99
	35.829	29. Docosane	0.58	95

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
7. น้ำมันเครื่องใช้แล้ว	35.829	Docosane, 11-decyl-	0.58	91
	42.628	30. Tricosane	1.60	95
	44.351	31. 1-Hexacosene Triacontyl heptafluorobutyrate Hexatriacontyl pentafluoropropionate	0.41	90
				90
				90
	44.492	32. Batilol Cyclodocosane, ethyl-	1.10	89
				86
	44.551	33. Docosane Eicosane	0.56	94
				84
	46.286	34. Octadecane, 1-iodo- Octacosane 1-Bromodocosane	5.66	97
				96
				94
	48.032	35. Octacosane Eicosane Octacosane	5.21	95
				90
				90
	49.720	36. Octacosane Heptacosane, 1-chloro- Eicosane	4.89	95
				92
				91
	51.338	37. Hentriacontane Octacosane Heptacosane	2.70	95
				95
91				
51.924	38. 28-Nor-17 α (H) -hopane 28-Nor-17 β (H) -hopane	6.18	90	
			86	
53.261	39. 28-Nor-17 α (H) -hopane	2.98	87	
54.808	40. 2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride	2.65	89	
56.109	41. 17-Pentatriacontene Triacontane, 1-bromo- Tetraatriacontane	6.37	97	
			93	
			93	
8. น้ำมันดิบ	4.353	1. Decane	4.73	97

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
8. น้ำมันดิบ	4.481	2. Benzene, 1,2,3-trimethyl-	1.10	97
		Mesitylene		94
		Benzene, 1,2,4-trimethyl-		94
	6.380	3. Undecane	5.29	97
	8.995	4. Dodecane	5.63	96
	11.011	5. Sulfurous acid, decyl 2-ethylhexyl ester	1.25	80
	11.937	6. Tridecane	7.14	98
	14.985	7. Tetradecane	8.45	98
	16.697	8. Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	1.55	86
	17.986	9. Pentadecane	8.73	98
	20.894	10. Hexadecane	8.20	97
	23.684	11. Heptadecane	10.03	97
	26.333	12. Octadecane	5.38	98
	28.865	13. Nonadecane	5.03	98
	31.292	14. Eicosane	4.35	99
	33.625	15. Heneicosane Hexacosane	4.00	98
				94
	35.840	16. Docosane Octadecane	3.31	98
				97
	37.974	17. Tricosane	2.92	98
		Octadecane		95
Hexacosane		94		
40.026	18. Tetracosane	2.50	99	
41.995	19. Pentacosane	2.19	98	
	Heneicosane		97	
	Octadecane, 2-methyl-		94	
43.894	20. Hexacosane	1.90	99	
45.723	21. Heptacosane	1.73	98	
	Heneicosane		97	

Sample	RT	Library search NIST11	Area %	Quality
8. น้ำมันดิบ	47.493	22. Octacosane	1.34	99
		Heneicosane		97
		Tricosane		97
	49.205	23. Nonacosane	1.06	98
		Docosane		97
	50.858	24. Tricosane	0.76	98
	52.452	25. Tricosane	0.67	98
		Octacosane		97
	53.999	26. Tricosane	0.44	97
		Octacosane		97
		Tetracosane		96
	55.570	27. Heptacosane	0.33	95
		Octacosane		95
		Tricosane		95



Ms. Napapan Pongpoungphet

Analysed by



Supachai Kunaratnpruk, M.D.

Vice President for Medical College and Health Science Departments