บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย และอภิปรายผล

น้ำมันดิบ (Tapis crude oil) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้มีค่าความถ่วงจำเพาะ (Specific gravity) เท่ากับ 45.5 API ซึ่งสูงกว่า 45.3 API จึงจัดเป็นน้ำมันดิบชนิดเบา (Light crude oil) ซึ่งประกอบไปด้วยอัลเคนไฮโดรคาร์บอนตั้งแต่ $C_{10} - C_{30}$ ประมาณ 66.91 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และมีองค์ประกอบที่มีจุดเดือด (Boiling point) ต่ำกว่า 149 ° ซ ประมาณ 21.90 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งส่วนใหญ่องค์ประกอบในส่วนนี้ ($C_5 - C_{10}$) จะพบได้ในผลิตภัณฑ์น้ำมันเบนซิน ซึ่งจะระเหยไปได้ง่ายภายในระยะเวลาสั้น ๆ เมื่อมีการเขย่า หรือมีการให้อากาศหรือออกซิเจนแก่ระบบ ทั้งนี้คาดว่าจะเกิดกระบวนการบางอย่าง เช่น เกิดการระเหย (Evaporation) เกิดการออกซิเดชั่นด้วยแสง (Photooxidation) หรือเรียกว่าเกิดการย่อยสลายทางกายภาพ (Abiotic loss) และหลังจากนั้นองค์ประกอบในน้ำมันดิบส่วนที่เหลือที่เป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง และจุดเดือดสูง จะต้องผ่านการบำบัดหรือกำจัดออกไปจากสิ่งแวดล้อมด้วยวิธีการอื่น ๆ เช่น วิธีการทางเคมีและ/หรือวิธีการทางชีวภาพซึ่งการใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลายน้ำมันส่วนที่เหลือ (Biodegradation) หรือการปรับภาวะให้เหมาะสมต่อการย่อยสลายโดยการเติมธาตุอาหาร เติมเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความจำเพาะต่อสารพิษลงไป หรือการปรับภาวะที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของจุลิทรีย์เพื่อเร่งให้เกิดการย่อยสลายทางชีวภาพให้เร็วยิ่งขึ้น เช่น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด – ด่าง และอัตราการให้อากาศ ฯลฯ แก่สิ่งแวดล้อมหรือระบบบำบัด จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดสารพิษต่าง ๆ ให้ออกไปจากสิ่งแวดล้อมรวดเร็วยิ่งขึ้น โดยกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพนี้ได้รับความสนใจและประยุกต์ใช้กับสิ่งแวดล้อมการปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งในน้ำและในดินเพิ่มขึ้นเมื่อ 10 ปีที่ผ่านมา (Mikael Eriksson และคณะ, 2001 อ้างถึงใน Alexander,1999) ซึ่งการเติมเชื้อจุลินทรีย์ (Seeding) เป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันให้มากขึ้น และเป็นการช่วยเร่งกระบวนการที่มีอยู่ในธรรมชาติให้เกิดได้เร็วขึ้น โดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายองค์ประกอบที่มีอยู่ในน้ำมันได้เกือบทั้งหมดและมีลักษณะทางพันธุกรรมที่คงที่ (Genetic Stability) สามารถเจริญเติบโตได้เร็ว และสามารถคงอยู่ในระบบและทนต่อภาวะแวดล้อมได้ดี อีกทั้งจะต้องมีระบบเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพสามารถที่จะแข่งขันกับจุลินทรีย์ท้องถิ่นได้ดีและที่สำคัญจะต้องไม่เป็นเชื้อที่ก่อโรค (Nonpathogenicity) ซึ่งหมายรวมถึงจะต้องไม่ผลิตสารที่เป็นพิษออกมาด้วย โดยส่วนใหญ่แล้วการ

เติมเชื้อในธรรมชาติจะใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสม เนื่องจากเชื้อเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมได้อย่างสมบูรณ์ (Leathy และ Cowell , 1990)

ซึ่งในปัจจุบันได้มีการวิจัยกันอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศและต่างประเทศ โดยทำการคัดแยกเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนจากสถานที่ต่าง ๆ ที่มีการปนเปื้อนน้ำมันทั้งประเภทที่เป็นจุลินทรีย์ต่างถิ่นและในท้องถิ่น อีกทั้งยังทำการทดสอบประสิทธิภาพโดยการใช้จุลินทรีย์ต่าง ๆ ในธรรมชาติทั้งแบบเชื้อบริสุทธิ์และแบบเชื้อผสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบหรือไฮโดรคาร์บอน และมีการศึกษาถึงปัจจัยภายนอกต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด – ด่าง ความเค็ม ออกซิเจนหรือการเติมอากาศ หรือแม้กระทั่งชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน รวมทั้งผลของปริมาณไนโตรเจนแลฟอสฟอรัส เป็นต้น ซึ่งจะทำการวิจัยในระดับขวดเขย่าเป็นส่วนมาก เนื่องจากสะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการทดลองสำหรับการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอน (Sakai และคณะ, 1996; Whyte และคณะ,1998 ; Pickard และคณะ, 1999) อีกทั้งสามารถทำการควบคุมปัจจัยภายนอกที่จะมีผลต่อระบบได้ดีกว่า ซึ่งได้นำวิธีการทางชีวภาพนี้มาใช้ในภาคสนามขนาดใหญ่เพื่อกำจัดคราบน้ำมันบนชายหาดเมื่ออุบัติเหตุเรือบรรทุกน้ำมัน Exxon Valdez เมื่อปี ค.ศ.1989 ทำให้ทราบว่า การเติมจุลินทรีย์และการเติมสารอาหาร ช่วยให้อัตราการย่อยสลายตามธรรมชาติเร็วขึ้นกว่าปกติ และผลจากการใช้วิธีการทางชีวภาพสำหรับกรณีนี้ แสดงให้เห็นว่าหากมีการใช้จุลินทรีย์อย่างมีระบบและแบบแผนที่ดี จะสามารถบำบัดคราบน้ำมันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในการทดลองการหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายน้ำมันดิบในระดับห้องปฏิบัติการนี้ เลือกใช้เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ (Microbial consortium) คือ *Bacillus sp.*B3 - 1 , *Pseudomonas sp.* C 1 - 2 , และ *Yarrowia sp.*D2 - 1 ใช้เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ และ *Acinetobacter calcoaceticus* TISTR 360 ใช้เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ เนื่องจากจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบของน้ำมันดิบได้แตกต่างกัน (Bossert และ Bartha , 1984 ; Sokhoh และคณะ , 1993 ; Banat , 1995 ; ปัญจพล ชิโนดม , 2543) อีกทั้งจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ จะช่วยให้น้ำมันแตกตัวเป็นหยดน้ำมันเล็ก ๆ (Emulsifying) และผสมลงมาเป็นอิมัลชันได้มากขึ้น ทำให้เพิ่มการสัมผัสของเซลล์จุลินทรีย์กับหยดน้ำมันโดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ(Biosurfactant) (Lindley,1992) และการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนโดยจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นที่รอยต่อระหว่างน้ำกับน้ำมันเป็นส่วนใหญ่ (Atlas , 1981 ; Rosenberg , 1991 ; Lindley , 1992) นอกจากนี้การใช้จุลินทรีย์ผสมจะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีและเร็วกว่าการใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์เพียงชนิดเดียว เนื่องจากน้ำมันดิบประกอบไปด้วยองค์ประกอบหลายชนิด (Atlas,1981) อีกทั้งจุลินทรีย์ผสมสามารถผลิตเอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้หลากหลายในช่วงกว้าง ซึ่งสามารถใช้ในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่มีความซับซ้อนได้ (Leathy และคณะ , 1990 ; Lai และ Khanna , 1996)

ทำให้สามารถใช้น้ำมันเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว และทำให้สามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนได้ในช่วงที่กว้างขึ้น

จากการศึกษาการย่อยสลายน้ำมันดิบในขวดเขย่าเบื้องต้นที่สภาวะความเป็น กรด - ด่าง เริ่มต้น เท่ากับ 8.0 อุณหภูมิ 20 °ซ ความเร็วรอบในการเขย่า 250 รอบต่อนาที และใช้อัตราส่วนของแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 2 : 1 พบว่า สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 89.39 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 7 วันของการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ ปัญจพล ชิโนดม (2543) โดยใช้สภาวะเดียวกันกับข้างต้น พบว่า สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 90 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 7 วันของการเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาต่อไปว่า หากขยายขนาดทำการทดลองในถังหมักขนาด 3 ลิตร ซึ่งถูกออกแบบขึ้นมาใช้ในงานวิจัยนี้ การย่อยสลายน้ำมันดิบจะยังมีประสิทธิภาพเหมือนในระดับขวดเขย่าหรือไม่ โดยใช้สภาวะเดียวกันกับข้างต้น แต่ใช้อัตราการให้อากาศ 1.0 v.v.m (โดยปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที) แทนการใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 250 รอบต่อนาที จากผลการทดลองพบว่า ในระดับถังหมักมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบแตกต่างจากในระดับขวดเขย่า อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่า ในถังหมักสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้น้อยกว่าในขวดเขย่า แต่ในขณะเดียวกันในถังหมักมีการระเหยไปของน้ำมันดิบมากกว่าในขวดเขย่า จึงทำให้มีน้ำมันดิบเหลืออยู่ในถังหมักให้เชื้อจุลินทรีย์ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตเหลืออยู่น้อยกว่าในขวดเขย่า จึงเป็นผลทำให้จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในขวดเขย่ามีปริมาณมากกว่าในถังหมัก แต่จากการทดลองพบว่าในระดับถังหมักขนาด 3 ลิตร มีประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบสูงกว่าในระดับขวดเขย่า เท่ากับ 87.70 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 3 วัน และ 95.71เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 7 วัน ในขณะที่การย่อยสลายของน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) ในระดับขวดเขย่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบ เท่ากับ 76.09 และ 89.39 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 3 วัน และ 7 วัน ตามลำดับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าในถังหมักมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณน้ำมันดิบได้มากกว่าในขวดเขย่า เป็นเพราะในระดับถังหมักมีพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับอากาศมากกว่าจึงทำให้เกิดการระเหยได้มากกว่า ไฮโดรคาร์บอนที่มีมวลโมเลกุลต่ำ และจุดเดือดต่ำ จึงสามารถระเหยสู่บรรยากาศได้เร็ว และในระดับถังหมัก ขนาด 3 ลิตร ออกซิเจนที่กลุ่มจุลินทรีย์ใช้จะได้จากการเติมอากาศจากปั๊มเข้าสู่ระบบด้วย อีกทั้งในระดับถังหมักที่ทำการทดลองเป็นระบบเปิด อุปกรณ์ต่าง ๆ ไม่จำเป็นต้องทำให้ปราศจากเชื้อ จึงอาจได้รับเชื้อชนิดอื่นปนเปื้อนติดมากับอุปกรณ์และเชื้อจากบรรยากาศในบริเวณที่ทำการทดลองปนเปื้อนลงในระบบนอกเหนือจากหัวเชื้อที่เติมให้แก่ระบบ ซึ่งในจำนวนชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอาจมีบางชนิดมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันและ/หรือสามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ จึงช่วยให้เกิดการแตกตัวเป็นอิมัลชั่นและกระจายตัวของน้ำมันได้ดีขึ้น เพื่อให้จุลินทรีย์อื่น ๆ ที่

สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบหรือไฮโดรคาร์บอนใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ต่อไป ในขณะที่ระดับขวดเขย่าออกซิเจนที่กลุ่มจุลินทรีย์ใช้จะได้มาจากพื้นที่ว่างส่วนบนของอาหารที่อยู่ในขวด และถูกเขย่าโดยเครื่องเขย่า (Rotary shaker)

จากการทดลองเบื้องต้นพบว่าการย่อยสลายน้ำมันดิบ(Tapis crude oil) ในระดับถังหมักมีความแตกต่างจากในระดับขวดเขย่า ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบในระดับถังหมัก โดยมีการแปรผันปัจจัยต่าง ๆ คือ อัตราส่วนของหัวเชื้อที่เติมลงในระบบ ค่าความเป็นกรด - ด่าง อุณหภูมิ อัตราการให้อากาศ และการเติมสารอาหารแก่ระบบ สามารถสรุปได้ดังนี้

ผลของอัตราส่วนหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ที่ทำงานได้ดีและเหมาะสมสำหรับการย่อยสลายน้ำมันดิบในถังหมักสำหรับงานวิจัยนี้ พิจารณาจากปริมาณของไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือหลังจากการย่อยสลายที่สภาวะความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้น เท่ากับ 8.0 ที่อุณหภูมิ 30 °ซ และอัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.0 v.v.m. (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์ พบว่าที่อัตราส่วนของหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 2 : 1 สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 40.16 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าที่อัตราส่วนของหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 1 : 1 สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ 24.26 เปอร์เซ็นต์ ภายในวันที่ 3 ของการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Bruheim และคณะ (1997) และ Rocha และ Infante (1997) พบว่าการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหรือเติมจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนและน้ำมันได้ดีขึ้น ส่วนในวันที่ 5 และ วันที่ 7 ของการทดลองเกิดการย่อยสลายน้ำมันดิบได้น้อยลง และเมื่อทำการทดลองครบ 7 วัน พบว่า ที่อัตราส่วนของหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 2 : 1 มีประสิทธิภาพในการลดน้ำมันดิบได้ดีกว่าที่อัตราส่วนของหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 1 : 1 เท่ากับ 97.71 เปอร์เซ็นต์ และ 94.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยจะพบที่อัตราส่วนของหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 2 : 1 มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตมากกว่า ที่อัตราส่วนของหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 1 : 1 และ ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์ ตามลำดับ โดยจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันแรกของการทดลอง และหลังจากนั้นจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร จะไม่สอดคล้องกัน เนื่อง

จากอาจได้รับการรบกวนจากอนุภาคของไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือจากการถูกย่อยสลายหลังจากวันแรกของการทดลอง

ผลของค่าความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายน้ำมันดิบในถังหมักสำหรับงานวิจัยนี้ พิจารณาจากปริมาณของไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือหลังจากการย่อยสลายที่สภาวะอุณหภูมิ 30 °ซ และอัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.0 v.v.m.(ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที) ที่อัตราส่วนของหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 2 : 1 โดยแปรผันค่าความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้น เป็น 6.0 ,7.0 และ 8.0 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์ พบว่า ในระยะเวลา 3 วันแรกของการทดลอง น้ำมันดิบในถังหมักมีการระเหยไปมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าที่ความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้น เท่ากับ 6.0 สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้น เท่ากับ 7.0 สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้น เท่ากับ 8.0 สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งที่ความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้น เท่ากับ 8.0 แสดงให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีที่สุด ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าที่ค่าความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้นสูงขึ้นในสภาพเป็นด่างอ่อน ๆ จะสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีขึ้น และเมื่อพิจารณาปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือตลอดระยะเวลา 7 วันของการทดลอง พบว่า ที่ความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้น 8.0 มีประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบสูงที่สุด เท่ากับ 97.71 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่สภาวะนี้อาจจะไม่ได้เกิดจากการระเหยไปของน้ำมันดิบและการย่อยสลายน้ำมันดิบ โดยกลุ่มจุลินทรีย์เท่านั้น อาจเกิดการทำปฏิกิริยาที่ความเป็นกรด - ด่าง เริ่มต้น เท่ากับ 8.0 ได้ดี ระหว่างน้ำมันดิบกับ 1 N NaOH ซึ่งใช้ปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง เริ่มต้น จึงเกิดการเปลี่ยนรูปแบบบางส่วนไปเป็นกรดคาร์บอนิค จึงทำให้ที่สภาวะนี้มีการลดลงของน้ำมันดิบสูงกว่าสภาวะอื่น ๆ รองลงมาคือ ที่ความเป็นกรด - ด่าง เริ่มต้น 7.0 มีประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบเท่ากับ 96.92 เปอร์เซ็นต์ และ ที่ความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้น 6.0 มีประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบ เท่ากับ 93.24 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าที่ความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้นที่มีความเหมาะสมคือ 8.0 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Malley และคณะ (1993) กล่าวว่า ความเป็นกรด - ด่าง ของน้ำที่มีน้ำมันปนเปื้อนจากถังเก็บ มีค่าอยู่ระหว่าง 7.2 - 8.1 และมีหลาย ๆ รายงานวิจัยแสดงให้เห็นว่า ความเป็นกรด - ด่าง เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการกระจายตัวของน้ำมัน ซึ่งในทางปฏิบัติเมื่อความเป็นกรด - ด่างลดลงจาก 7.0 เป็น 6.0 อาจจะทำให้ส่งผลกระทบต่อการผลิตสารบางอย่างสำหรับการย่อยสลายน้ำมันดิบ ซึ่งมีการทดลองหนึ่งพบว่า การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแรมโนลิปิด (Rhamnolipid) จาก *Pseudomonas spp.* จะเพิ่มขึ้นในช่วงความเป็นกรด - ด่าง 7.0 - 8.0 และจะลดลงเมื่อความเป็น

กรด - ด่างมีค่าต่ำกว่า 7.0 (Guerra และคณะ,1986 ; Ishigami และคณะ ,1987 ; Yamin และ Raina ,1992)

ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายน้ำมันดิบในถังหมักสำหรับงานวิจัยนี้ พิจารณาปริมาณของไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือหลังจากการย่อยสลายที่สภาวะความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 และอัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.0 v.v.m.(ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที) ที่อัตราส่วนของหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 2 : 1 โดยแปรผันอุณหภูมิเป็น 25 °ซ , 30 °ซ และ 35 °ซ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์ พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 °ซ มีการระเหยของน้ำมันดิบมากกว่า ที่อุณหภูมิ 35 °ซ และที่อุณหภูมิ 30 °ซ ตามลำดับ แต่เมื่อมีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าที่อุณหภูมิ 25 °ซ มีการย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีพอ ๆ กับที่อุณหภูมิ 30 °ซ ส่วนที่อุณหภูมิ 35 °ซ มีการย่อยสลายน้ำมันดิบน้อยที่สุด ทั้งที่ในความเป็นจริงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะเกิดการระเหยและการย่อยสลายน้ำมันดิบมากขึ้น แต่ในการทดลองนี้ พบว่า ที่อุณหภูมิ 35 °ซ มีปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือมากกว่าที่อุณหภูมิ 25 °ซ และที่อุณหภูมิ 30 °ซ อาจมีสาเหตุมาจากถังหมักที่ใช้ทำมาจากอะคลิลิก ซึ่งเมื่อเกิดการระเหยมากขึ้น น้ำมันดิบส่วนหนึ่งจะขึ้นไปเกาะบริเวณผนังด้านข้างของถังหมักและถูกดูดซับไว้ด้วยพื้นผิวของอะคลิลิกจึงทำให้ที่อุณหภูมิ 35 °ซ มีปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลืออยู่ในระบบมากกว่าที่อุณหภูมิอื่น ๆ และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะไปยับยั้งทั้งการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์และการผลิตเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายน้ำมันดิบหรือทำให้การสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของกลุ่มจุลินทรีย์ลดลง หรือเป็นการเพิ่มความเป็นพิษต่อเซลล์เมมเบรนและเป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์ตาย โดยเฉพาะเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 40 °ซ (Leahy และ Colwell , 1990) และเมื่อพิจารณาปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือตลอดระยะเวลา 7 วันของการทดลอง พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 °ซ มีประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบสูงที่สุด เท่ากับ 98.17 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ อุณหภูมิ 30 °ซ มีประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบ เท่ากับ 97.71 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิ 35 °ซ มีประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบ เท่ากับ 95.05 เปอร์เซ็นต์ แต่จากผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 25 °ซ และ 30 °ซ มีประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบได้ดีไม่แตกต่างกันนัก เนื่องจากปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดลดลงอย่างรวดเร็วภายในวันแรกของการทดลองได้ใกล้เคียงกันเหลือ 9.12 เปอร์เซ็นต์ และ 9.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ที่เป็นเช่นนี้เพราะกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการย่อยสลายน้ำมันดิบมียีสต์ *Yarrowia sp.*D2 - 1 เป็นองค์ประกอบอยู่ ซึ่งยีสต์สามารถจะเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิที่ต่ำกว่าแบคทีเรีย ที่อุณหภูมิประมาณ 20 °ซ (Lodder,1972 ; Roy และคณะ,1979) และอีกทั้งกลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้มาจากการคัดแยกเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °ซ จึงทำให้กลุ่มจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 25 - 30 °ซ แต่อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อย

สลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต้องเป็นอุณหภูมิปานกลางอยู่ในช่วง 20 - 40 °ซ (Dibble และ Bartha ,1979 ; Rainwater และ Scholze ,1991 ; Margesin และ Schinner , 1997) เพราะถ้าอุณหภูมิต่ำกว่าหรือสูงกว่าอุณหภูมิปานกลางการย่อยสลายทางชีวภาพของน้ำมันดิบและประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชั่นจะไม่ดี (Rocha และ Infante , 1997)

ผลของอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายน้ำมันดิบในถังหมักสำหรับงานวิจัยนี้พิจารณาจากปริมาณของไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือหลังจากการย่อยสลายที่สภาวะความเป็นกรด - ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 และที่อุณหภูมิ 25 °ซ ที่อัตราส่วนของหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 2 : 1 โดยแปรผันอัตราการให้อากาศเป็น 0.1 v.v.m. , 0.5 v.v.m. และ 1.0 v.v.m. (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์ พบว่า ที่อัตราการให้อากาศ 1.0 v.v.m. จะมีการระเหยของน้ำมันดิบไปมากกว่า ที่อัตราการให้อากาศ 0.5 v.v.m. และที่อัตราการให้อากาศ 0.1 v.v.m. ตามลำดับ แต่เมื่อมีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า ที่อัตราการให้อากาศ 0.1 v.v.m. จะเกิดการย่อยสลายน้ำมันดิบมากกว่า ที่อัตราการให้อากาศ 0.5 v.v.m. และ ที่อัตราการให้อากาศ 1.0 v.v.m. ตามลำดับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเมื่ออัตราการให้อากาศเพิ่มขึ้น จะมีการระเหยมากขึ้น แต่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ลดลง และเมื่อพิจารณาปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือตลอดระยะเวลา 7 วันของการทดลอง พบว่า อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.0 v.v.m. มีประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบสูงที่สุด เท่ากับ 98.17 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ อัตราการให้อากาศเท่ากับ 0.5 v.v.m. มีประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบ เท่ากับ 90.92 เปอร์เซ็นต์ และ 0.1 v.v.m. มีประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบ เท่ากับ 80.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นว่าเมื่อมีการเพิ่มอัตราการให้อากาศแก่ระบบอย่างเพียงพอ จะทำให้ประสิทธิภาพในการลดลงของน้ำมันดิบดีขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการให้อากาศที่เพียงพอทำให้เกิดการปั่นป่วนและผสมผสานกันระหว่างน้ำกับน้ำมัน และน้ำมันถูกตีกวนจากคราบฟิล์มบาง ๆ บนผิวน้ำเป็นหยดน้ำมันเล็ก ๆ ได้ดีกว่าการให้อากาศในปริมาณน้อย ๆ และพบว่ากลุ่มจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อัตราการให้อากาศ เท่ากับ 1.0 ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่มีค่าสูงที่สุดในวันที่ 1 เช่นกัน แต่หลังจากนั้นในวันที่ 3 จนกระทั่งถึงวันที่ 7 พบว่าค่าจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ไม่สอดคล้องกัน เนื่องจากอาจได้รับการรบกวนจากอนุภาคของไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือจากการถูกย่อยสลายหลังจากวันแรกของการทดลอง และจากการรายงานของ Bartha และ Atlas (1977) พบว่า การให้ปริมาณออกซิเจนที่เพียงพอจะช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจน อีกทั้งยังช่วยเพิ่มอัตราการย่อยสลายน้ำมันและการกระจายตัวของน้ำมัน ทำให้บางส่วนของคราบน้ำมันแยกเป็นหยดน้ำมันเล็ก ๆ เพิ่มขึ้น เพื่อสัมผัสกับเซลล์ของแบคทีเรียได้เพิ่มขึ้น แต่ถึงแม้ว่าปริมาณออกซิเจนจะ

เป็นปัจจัยหลักสำหรับเจริญเติบโตและเพิ่มความสามารถในการย่อยสลายคราบน้ำมัน แต่ยังมีหลาย ๆ งานวิจัยซึ่งกล่าวถึงกลุ่มของแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนหรือใช้เพียงเล็กน้อย สามารถย่อยสลายน้ำมันได้เช่นกัน (Jenneman และคณะ , 1983 ; Javaheri และคณะ ,1985 ; Pfiffner และคณะ , 1986 ; Vogel และ Grbic,1986 ; Mulligan และ Gibbs ,1989)

ผลของการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบระหว่างเมื่อไม่มีการเติมสารอาหาร (Batch) กับที่การเติมสารอาหารระอย่างต่อเนื่อง (Continuous) ในถังหมักระดับห้องปฏิบัติการ โดยสารอาหารเติมในรูปของอาหารเลี้ยงเชื้อ Bushnell and Haas และน้ำมันดิบ (Tapis crude oil) 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ที่สภาวะเหมาะสม คือ ที่ความเป็นกรด – ด่างเริ่มต้น เท่ากับ 8.0 ที่อุณหภูมิ เท่ากับ 25 °ซ อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.0 v.v.m (โดยปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที) และอัตราส่วนของหัวเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ต่อกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เท่ากับ 2 : 1 และเมื่อพิจารณาปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือ เมื่อไม่มีการเติมสารอาหาร (Batch) แก่ระบบ พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 5 ชั่วโมง ปริมาณน้ำมันดิบถูกย่อยสลายไป 18.93 เปอร์เซ็นต์โดยมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือในระบบ เท่ากับ 81.07 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำมันดิบถูกย่อยสลายไป 90.88 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือในระบบ เท่ากับ 9.12 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ค่าจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันแรกของการทดลอง แต่เมื่อเวลาผ่านไปปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลืออยู่ รวมทั้งค่าจำนวนเซลล์และค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ในระบบค่อย ๆ ลดลง แต่เมื่อการเติมสารอาหารระอย่างต่อเนื่องแก่ระบบ (Continuous) พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 5 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำมันดิบถูกย่อยสลายไป 97.90 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือในระบบ เท่ากับ 2.10 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง พบว่า น้ำมันดิบถูกย่อยสลายไป 97.91 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือในระบบ เท่ากับ 2.09 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร มีค่าคงที่ตลอดการทดลอง ดังนั้นการเติมสารอาหารอย่างต่อเนื่อง (Continuous) มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันดิบดีกว่าการไม่เติมสารอาหาร (Batch)

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากผลการทดลองเมื่อพิจารณาที่ปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมจุลินทรีย์กับชุดการทดลองที่มีการเติมจุลินทรีย์เกือบทุกสภาวะ จะเห็นว่า ในวันแรกของการทดลองจะเกิดการระเหยและย่อยสลายน้ำมันดิบมากกว่า และหลังจากวันที่ 3 ของการทดลองจะเกิดการย่อยสลายน้อยลงมาก และมีปริมาณไฮโดรคาร์บอนทั้งหมดที่เหลือใกล้เคียงกัน จึงทำให้ผลที่เกิดจากการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยจุลินทรีย์ยังไม่ค่อยชัดเจนนัก ทั้งนี้เกิดจากความเข้มข้นของน้ำมันดิบเริ่มต้นที่ใช้น้อยเกินไป ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปควรจะใช้น้ำมันดิบในปริมาณที่มากขึ้นกว่านี้

5.2.2 ควรศึกษาถึงผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (by Product) หลังจากการย่อยสลายน้ำมันดิบแล้วจะได้สารอะไรออกมาบ้าง อยู่ในรูปโมเลกุลใด มีความเป็นพิษหรือไม่ต่อสิ่งแวดล้อม โดยใช้วิธีการสกัดที่จะต้องเก็บสารละลายทุกส่วนที่สกัดแล้วไว้ แล้วนำไปวิเคราะห์ทางโครมาโทกราฟี เนื่องจากวิธีการสกัดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ จะสกัดได้แต่ไฮโดรคาร์บอนออกมาเท่านั้น จึงไม่เห็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (by Product) ในโครมาโทแกรม

5.2.3 การศึกษาครั้งนี้ใช้ถังหมักซึ่งทำมาจากอะคริลิก ซึ่งพื้นผิวของอะคริลิกจะสามารถดูดซับน้ำมันได้ดีกว่าวัสดุอื่น เช่น กระจก ซึ่งจะทำให้มีผลกระทบต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบเนื่องจากมีปัจจัยนี้เข้ามาเกี่ยวข้อง ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปควรเลือกวัสดุในการทำถังหมัก จะต้องคำนึงถึงพื้นที่ผิวและความพรุนของวัสดุที่ใช้ด้วย

5.2.4 เนื่องจากการทดลองนี้เป็นระบบเปิดอาจเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ซึ่งมีทั้งที่สามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้และไม่สามารถย่อยสลายได้ นอกเหนือไปจากจุลินทรีย์ที่เติมให้แก่ระบบ ดังนั้นในการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (Viable cell count,CFU/ml) ควรใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถจะบ่งชี้ได้ว่าจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในระบบชนิดใดบ้างสามารถย่อยสลายน้ำมันดิบได้ เพราะการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอาหารแข็งนิวเทรียนท์ (Nutrient Agar) ซึ่งเป็นอาหารที่จุลินทรีย์เกือบทุกชนิดส่วนใหญ่สามารถเจริญเติบโตได้ ดังนั้นผลการวิเคราะห์จะทำให้ทราบเพียงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่อยู่ในระบบเท่านั้น