



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม)

ปริญญา

เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม

เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดทางชีวภาพของดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่องโดยการเติมกากชีวภาพและสารลดแรงตึงผิว

Enhancing Bioremediation Efficiency of Motor Oil-Contaminated Soil by Biosolid Amendment and Surfactants

นามผู้วิจัย นายกิตติศักดิ์ จินาคม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ปิยาภรณ์ สมสมัคร, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์ศุภวิทย์ สถาปนจารุ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สิงสิงห์ มทววิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดทางชีวภาพของดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่องโดยการเติมกากชีวภาพและ
สารลดแรงตึงผิว

Enhancing Bioremediation Efficiency of Motor Oil-Contaminated Soil by Biosolid Amendment
and Surfactants

โดย

นายกิตติศักดิ์ จินาคม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม)

พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติศักดิ์ จินาคม 2557: การเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดทางชีวภาพของดินปนเปื้อน
น้ำมันเครื่องโดยการเติมกากชีวภาพและสารลดแรงตึงผิว ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
(เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม) สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม
ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
อาจารย์ปิยาภรณ์ สมสมัคร, Ph.D. 187 หน้า

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมกากชีวภาพ น้ำยาซักผ้า และกากชีวภาพ
ร่วมกับน้ำยาซักผ้า ต่อการฟื้นฟูดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง การทดลองพบว่าประสิทธิภาพการฟื้นฟู
สัมพันธ์กับความเข้มข้นน้ำยาซักผ้าที่ใช้ เมื่อสิ้นสุดการทดลองชุดเติมน้ำยาซักผ้าเข้มข้น 8% ซึ่งเป็น
ความเข้มข้นสูงสุดในการทดลอง มีความสามารถในการกำจัดน้ำมันที่วิเคราะห์ในรูปปิโตรเลียม
ไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด (Total Petroleum Hydrocarbon, TPH) ได้ 51% ส่วนชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม
ใดๆ กับเติมเพียงน้ำกลั่น กำจัด TPH ได้ในช่วง 20% การเติมกากชีวภาพ 10 - 30% ช่วยเพิ่มแหล่ง
คาร์บอน ธาตุอาหาร และจุลินทรีย์ ส่งผลทำให้มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH สูงกว่าชุดควบคุม
โดยชุดเติมกากชีวภาพ 10% เป็นชุดที่ดีที่สุด กำจัด TPH ออกจากดินได้ 690 ± 41.51 mg/kg แต่การเติม
กากชีวภาพในสัดส่วนสูงกว่านี้ทำให้ประสิทธิภาพการฟื้นฟูลดลง เมื่อนำชุดเติมกากชีวภาพ 10% มา
ทดลองร่วมกับน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ พบว่าชุดเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8% เป็น
ชุดที่มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถกำจัด TPH ได้ 925 ± 82 mg/kg คิดเป็น 93% ของ TPH เริ่มต้น
และสามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสในดิน (Dehydrogenase activity, DHA)
สูงสุด 600.21 ± 85.05 μ g TPF/g ในวันที่ 20 ต่างจากชุดเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำกลั่น และชุด
การทดลองที่เติมกากชีวภาพเพียงอย่างเดียว ที่ตรวจพบ DHA อยู่สูงสุด 229.60 ± 79.01 μ g TPF/g และ
 203.93 ± 61.74 μ g TPF/g ตามลำดับ การทดลองสองชุดแรก แสดงให้เห็นว่าในดินปนเปื้อนมีส่วน
ของน้ำมันที่มีโครงสร้างที่จุลินทรีย์ในดินย่อยสลายได้ เพียงแต่อยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ หรือถูกดูดซับ
ในดิน และในดินยังมีส่วนของน้ำมันที่อยู่ในรูปที่จุลินทรีย์ใช้ได้ เพียงแต่ในดินมีชนิดและปริมาณของ
จุลินทรีย์ที่ไม่เหมาะสมซึ่งทั้งสองประเด็นสามารถแก้ไขได้เมื่อเติมกากชีวภาพกับน้ำยาซักผ้าร่วมกัน

Kittisak Jeenakom 2014: Enhancing Bioremediation Efficiency of Motor Oil-Contaminated Soil by Biosolid Amendment and Surfactants. Master of Science (Environmental Technology and Management), Major Field: Environmental Technology and Management, Department of Environmental Technology and Management. Thesis Advisor: Mrs. Piyapawn Somsamak, Ph.D. 187 pages.

This research aims to study the remediation efficiency of motor-oil contaminated soil by addition of biosolids, detergent or combinations of both. It was found that the remediation efficiency is related to concentrations of detergent applied. At the end of the experiment, the treatment with 8% detergent, which was the highest concentration tested, exhibited the greatest motor oil removal of 51%, analysed as total petroleum hydrocarbon (TPH). The treatment with distilled water added or treatment with no amendment showed moderate TPH removal of 20%. The addition of biosolids 10 - 30% increased soil organic carbon, nutrients as well as microbes resulting superior TPH removal efficiency than that of control treatments. Treatment with 10% biosolid amendment demonstrated best remediation efficiency with total 690 ± 41.51 mg/kg TPH removal. However, with higher ratios of biosolids the efficiency was deteriorated. The combination of 10% biosolids and 8% detergent yielded TPH removal of 925 ± 82 mg/kg or 93% of initial TPH concentrations. The analysis of soil dehydrogenase activity (DHA) revealed activity of 600.21 ± 85.05 μ g TPF/g on day 20. In treatments with only 10% biosolids and 10% biosolids with distilled, DHA of 203.93 ± 61.74 μ g TPF/g and 229.60 ± 79.01 μ g TPF/g were detected respectively. The first two sets of experiment demonstrated that contaminated soil containing biodegradable hydrocarbons with limiting bioavailability. On the other hand, there were portion of hydrocarbon which were readily bioavailable but lack of appropriate microbial population. These two limiting factors, once identified, were removed effectively by the addition of biosolids in combination with detergent.

Student's signature

Thesis Advisor's sign

/ /

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร. ปิยาภรณ์ สมสมัคร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษาในเรื่องการเรียน การค้นคว้าวิจัย และคำแนะนำในด้านต่างๆ ที่เกี่ยวกับงานวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอพระคุณอาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อมสิ่งแวดล้อมทุกท่าน ที่ได้อบรมสั่งสอนและมอบความรู้อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อมทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่างๆ

ขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อมที่สนับสนุนเงินทุนการนำเสนอผลงานทางวิชาการระดับประเทศและเงินทุนช่วยเหลือการทำวิทยานิพนธ์และขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่สนับสนุนเงินทุนการจัดทำเล่มวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2555

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ชาย น้องสาว ขอขอบคุณเพื่อนปริญญาโทรุ่นที่ 7 และร่วมถึงเพื่อนๆ คน ที่คอยให้ความช่วยเหลือในการทำการทดลอง ให้กำลังใจ ให้คำแนะนำชี้แนะและสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้

กิตติศักดิ์ จินาคม
ธันวาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(9)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	7
การตรวจเอกสาร	8
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	57
อุปกรณ์	57
วิธีการ	60
ผลและวิจารณ์	65
ผล	65
วิจารณ์	94
สรุปและข้อเสนอแนะ	99
สรุป	99
ข้อเสนอแนะ	101
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	102
ภาคผนวก	109
ภาคผนวก ก กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารประกอบปีโตรเลียม	
ไฮโดรคาร์บอน (TPH), 2, 3, 5-Triphenyl formazan (TPF) และตาราง	
มาตรฐาน MPN 5 หลดด	110
ภาคผนวก ข ข้อมูลจากการทดลอง	118
ภาคผนวก ค วิธีการวิเคราะห์ สูตรสารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	175
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	187

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 Half-life ของดินที่ปนเปื้อนสารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน	2
2 ค่าใช้จ่ายในพื้นที่	3
3 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันดิบ (crude oil)	11
4 การแบ่งประเภทของจุลินทรีย์ตามลักษณะของวิถีเมแทบอลิซึม	26
5 ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่ถูกรายงานว่าสามารถใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอน แหล่งคาร์บอนและพลังงานได้	28
6 ค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของปริมาณสารอาหารในกากชีวภาพจากการเก็บ รวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ในรัฐเพนซิลวาเนียระหว่างปี 1993 และ 1997	51
7 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของดินที่ปนเปื้อน	66
8 ลักษณะทางเคมีของกากชีวภาพ	68
9 เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติในการกำจัด TPH โดยการเติมน้ำยาซักผ้า	73
10 เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติในการกำจัด TPH โดยการเติมกากชีวภาพ	78
11 เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติในการกำจัด TPH โดยการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ	85
12 ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยสลายน้ำมันเครื่องเก่าที่แยกได้จากดินตัวอย่าง	86
13 ลักษณะโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้ทั้ง 14 ไอโซเลต	87
14 การกำจัด TPH ของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ไอโซเลต	92

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ก1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบ TPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ	111
ก2 ค่าการดูดกลืนแสงของ TPF ที่ความเข้มข้นต่างๆ	113
ก3 ตารางมาตรฐาน MPN สำหรับ 5 หลอดทดลอง ความเข้มข้น 0.1, 0.01 และ 0.001 MPN/g ที่ระดับนัยสำคัญ 95%	115
ข1 การศึกษาค่า pH และความชื้น ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ น้ำยาซักผ้า กากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ	119
ข2 ปริมาณ OC ที่เหลืออยู่หลังการเติมกากชีวภาพในชุดควบคุมไม่เติมกากชีวภาพ	123
ข3 ปริมาณ OC ที่เหลืออยู่หลังการเติมกากชีวภาพในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10%	124
ข4 ปริมาณ OC ที่เหลืออยู่หลังการเติมกากชีวภาพในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 20%	125
ข5 ปริมาณ OC ที่เหลืออยู่หลังการเติมกากชีวภาพในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 30%	126
ข6 เปอร์เซ็นต์ TPH ที่เหลืออยู่ในชุดควบคุมดินไม่เติมกากชีวภาพ	127
ข7 เปอร์เซ็นต์ TPH ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10%	128
ข8 เปอร์เซ็นต์ TPH ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 20%	129
ข9 เปอร์เซ็นต์ TPH ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 30%	130
ข10 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดควบคุมไม่เติมกากชีวภาพ	131
ข11 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10%	132
ข12 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 20%	133
ข13 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 30%	134
ข14 ปริมาณ OC ปริมาณ OC ในชุดควบคุมเติมน้ำกลั่น	135
ข15 ปริมาณ OC ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 3%	136
ข16 ปริมาณ OC ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 6%	137
ข17 ปริมาณ OC ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 8%	138

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข18 ปริมาณ TPH ในชุดควบคุมเติมน้ำกลั่น	139
ข19 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 3%	140
ข20 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 6%	141
ข21 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 8%	142
ข22 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดควบคุมเติมน้ำกลั่น	143
ข23 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 3%	144
ข24 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 6%	145
ข25 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 8%	146
ข26 ปริมาณ OC ชุดควบคุมไม่เติมกากชีวภาพ	147
ข27 ปริมาณ OC หลังการเติมน้ำกลั่น	148
ข28 ปริมาณ OC หลังการเติมกากชีวภาพ 10%	149
ข29 ปริมาณ OC หลังการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำ	150
ข30 ปริมาณ OC หลังการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 3%	151
ข31 ปริมาณ OC หลังการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 6%	152
ข32 ปริมาณ OC หลังการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8%	153
ข33 ปริมาณ TPH ในชุดควบคุมไม่เติมกากชีวภาพ	154
ข34 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองการเติมน้ำกลั่น	155
ข35 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10%	156
ข36 ปริมาณ TPH ที่เหลืออยู่หลังการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำกลั่น	157
ข37 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 3%	158
ข38 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 6%	159
ข39 ปริมาณ TPH ที่เหลือหลังการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8%	160
ข40 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดควบคุมไม่เติมกากชีวภาพ	161
ข41 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดควบคุมเติมน้ำกลั่น	162
ข42 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10%	163
ข43 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำกลั่น	164

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
ข44 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 3%	165
ข45 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 6%	166
ข46 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8%	167
ข47 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ในชุดควบคุมไม่เติมกากชีวภาพ	168
ข48 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ในชุดควบคุมเติมน้ำกลั่น	169
ข49 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10%	170
ข50 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำกลั่น	171
ข51 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 3%	172
ข52 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 6%	173
ข53 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8%	174
ค 1 ระดับปริมาณความสามารถในการแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดิน	182
ค 2 การแปลผลค่า EC ดินอิ่มตัวด้วยน้ำที่ 25 C°	183

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 สภาพพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่าง	4
2 โครงสร้างโมเลกุลของสารปิโตรเลียม	9
3 โครงสร้างทางเคมีของสารไฮโดรคาร์บอนที่สำคัญ	10
4 ค่าคาร์บอนและจุดเดือดของผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมแต่ละชนิด	11
5 ลักษณะแพร่กระจายของน้ำมันในดิน	13
6 การฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนด้วยระบบการเผา	18
7 การฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนด้วยระบบการล้างดิน	19
8 การฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนด้วยวิธี Bioaugmentation	22
9 การฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนด้วยวิธี Biostimulation	24
10 องค์ประกอบพื้นฐานสำคัญของการบำบัดสารมลพิษทางชีวภาพ	25
11 วิธีการย่อยสลายสารมลพิษโดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จุลินทรีย์	29
12 ความสัมพันธ์ของวิธิเมแทบอลิซึมของเซลล์ วิธิเมแทบอลิซึมของสารมลพิษจำพวกไฮโดรคาร์บอน วิธีการขนส่งอิเล็กตรอน ตัวรับอิเล็กตรอนสุดท้าย และการสร้างพลังงานให้แก่เซลล์	31
13 วิธีการย่อยสลายสารประกอบอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน (1) <i>n</i> -alkane monooxygenase, (2) alcohol dehydrogenase และ (3) aldehyde dehydrogenase	33
14 วิธีการย่อยสลายเบนซีน	35
15 ปฏิกิริยาของเอนไซม์ออกซิเจนสต่อไฮโดรคาร์บอนสายตรงและอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน	39
16 การเปลี่ยนแปลงจาก TTC เป็น TPF	41
17 ลักษณะ โมเลกุลและการจัดเรียงตัวของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวในน้ำ (ก) ลักษณะโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว (ข) ลักษณะการเรียงตัวของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวในน้ำ ค) ลักษณะสาย (chain) ของสารลดแรงตึงผิว polyethylene glycol	43
18 การลดแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิว	45
19 การดึงสิ่งสกปรกให้หลุดออกจากพื้นผิว (detergency) โดยสารลดแรงตึงผิว	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
20 หยดน้ำมันเล็กๆ (Emulsion) แขนวลอยอยู่ในน้ำโดยความช่วยเหลือของสารลดแรงตึงผิว	46
21 การพลั๊กกันของชั้นบางๆของประจุที่เหมือนกันทำให้สิ่งสกปรกเล็กๆกระจายตัวอยู่ในน้ำ (Dispersion)	47
22 เปรียบเทียบวิธีการกำจัดกากชีวภาพในปี 1988 และ 1998	49
23 ดินตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง	65
24 ลักษณะของกากชีวภาพที่นำมาใช้ในการทดลอง	67
25 สารอินทรีย์ที่เหลืออยู่ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมน้ำยาซักผ้า (SUR) ตามความเข้มข้นต่างกัน	70
26 ปริมาณจุลินทรีย์ระยะเวลาทดลองเมื่อเติมน้ำยาซักผ้า (SUR) ตามความเข้มข้นต่างกัน	71
27 สารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (TPH) ที่เหลืออยู่ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมน้ำยาซักผ้า (SUR) ตามความเข้มข้นต่างกัน	72
28 สารอินทรีย์ที่เหลืออยู่ตามระยะเวลาทดลอง เมื่อเติมกากชีวภาพ (BS) ตามความเข้มข้นต่างๆ กัน	75
29 ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบตามระยะเวลาในการทดลอง เมื่อเติมกากชีวภาพ (BS) ความเข้มข้นต่างกัน	76
30 สารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (TPH) ที่เหลืออยู่ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมกากชีวภาพ (BS) ตามความเข้มข้นต่างกัน	77
31 สารอินทรีย์คาร์บอนที่เหลืออยู่ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมกากชีวภาพ น้ำกลั่น และน้ำยาซักผ้าตามความเข้มข้นต่างๆกัน	80
32 ปริมาณจุลินทรีย์ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมกากชีวภาพ (BS) น้ำกลั่น และน้ำยาซักผ้า (SUR)	81
33 ปริมาณเอนไซม์ dehydrogenase ตามระยะเวลาทดลอง เมื่อเติมกากชีวภาพ (BS) น้ำกลั่น และ น้ำยาซักผ้า (SUR) ตามความเข้มข้นต่างๆกัน	82

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
34	สารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (TPH) ที่เหลืออยู่ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมกากชีวภาพ (BS) และ น้ำยาซักผ้า (SUR) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน	83
35	เปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองที่ไม่เติมน้ำยาซักผ้า (a) กับไม่เติมน้ำยาซักผ้า (b)	93
ภาพผนวกที่		
ก1	กราฟมาตรฐานของสารประกอบ TPH	112
ก2	กราฟมาตรฐานของสารประกอบ TPF	114

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

TPH	=	Total petroleum hydrocarbon
BS	=	Biosolid
Sur	=	Surfactant
OC	=	Organic carbon
MPN	=	Most probable number
TPF	=	Triphenylformazan
TTC	=	Triphenyltetrazolium chloride
DHA	=	Dehydrogenases
BS ¹⁰	=	ชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10%
BS ²⁰	=	ชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 20%
BS ³⁰	=	ชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 30%
C	=	ชุดควบคุมไม่มีการเติมสาร
W	=	ชุดควบคุมเติมน้ำ
SUR ³	=	ชุดการทดลองที่มีการเติมน้ำยาซักผ้า 3%
SUR ⁶	=	ชุดการทดลองที่มีการเติมน้ำยาซักผ้า 6%
SUR ⁸	=	ชุดการทดลองที่มีการเติมน้ำยาซักผ้า 8%
BS ¹⁰ SUR ³	=	ชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 3%
BS ¹⁰ SUR ⁶	=	ชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 6%
BS ¹⁰ SUR ⁸	=	ชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8%
BSW	=	ชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำกลั่น
µg/g	=	Microgram per gram
mg/kg	=	Milligram per kilogram
nm	=	Nanometer

การเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดทางชีวภาพของดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่องโดยการเติมกาก ชีวภาพและสารลดแรงตึงผิว

Enhancing Bioremediation Efficiency of Motor Oil-Contaminated Soil by Biosolid Amendment and Surfactants

คำนำ

ปัจจุบันสิ่งแวดล้อมธรรมชาติมีแนวโน้มถูกรุกราน และทำลายโดยฝีมือมนุษย์สูงขึ้น เนื่องจากจำนวนประชากรมนุษย์ที่เพิ่มมากขึ้น มีการประดิษฐ์ และพัฒนาเทคโนโลยีมาใช้อำนวยความสะดวกต่อมนุษย์ จึงทำให้เกิดของเสียมากมาย ปัจจุบันมีการนำเอาผลิตภัณฑ์น้ำมันปิโตรเลียมมาใช้ประโยชน์ ทั้งในอุตสาหกรรม การคมนาคมและการขนส่ง โดยสำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมได้จัดให้ของเสียจากผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมเป็นของเสียอันตราย (สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2524) โดยเฉพาะน้ำมันเครื่องเป็นผลิตภัณฑ์จากปิโตรเลียมที่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย และเป็นสิ่งจำเป็นพื้นฐานในชีวิตของมนุษย์ เนื่องจากมนุษย์เรานำน้ำมันเครื่องมาใช้กับรถยนต์ และเครื่องจักร ทำให้เกิดของเสีย และรั่วไหลสู่สิ่งแวดล้อมตามจุดต่างๆ ทำให้เกิดการสะสมในสิ่งแวดล้อม และเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากน้ำมันต้องมีการจัดการที่เหมาะสมควบคู่กันไป

สารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเป็นสารประกอบหลักในน้ำมันเครื่อง การปนเปื้อนของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง โดยสิ่งมีชีวิตได้รับสารผ่านการหายใจ ทางผิวหนัง หรือทางเดินอาหาร ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนสามารถสะสมในร่างกายของสิ่งมีชีวิต และถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหารได้ การปนเปื้อนสารกลุ่มนี้ในสิ่งแวดล้อมจึงเป็นปัญหาสำคัญที่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ สารปนเปื้อนนี้จึงควรถูกกำจัดออกจากสิ่งแวดล้อมโดยเร็ว โดยวิธีการบำบัดฟื้นฟูที่ถูกต้อง และเหมาะสม (US Department of Health and Human Services , 1985)

น้ำมันเครื่อง และผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมมีความสามารถในการยึดเกาะกับอนุภาคดิน และสารอินทรีย์ในสิ่งแวดล้อมได้ดี ทำให้สารดังกล่าวมีความคงทนสูง สะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นาน และเกิดการย่อยสลายตามธรรมชาติได้ยาก โดยครึ่งชีวิต (Half-life) ของการ

สลายตัวของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนตามธรรมชาติพบว่าการย่อยสลายตามธรรมชาติได้เร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับจำนวนคาร์บอน และลักษณะโครงสร้างของสาร โดยสารที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นเส้นตรงจะใช้เวลาย่อยสลายน้อยกว่าสารที่มีโครงสร้างเป็นวงเบนซิน ซึ่งระยะเวลาการย่อยสลายแสดงดังตารางที่ 1 (Ministry for the Environment. New Zealand, 1999)

ตารางที่ 1 Half-life ของดินที่ปนเปื้อนสารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

สารปนเปื้อน	Half-life (ปี)	โครงสร้างสาร
C ⁷ to C ⁹	2	เส้นตรง
C ¹⁰ to C ¹⁴	5	เส้นตรง
benzene	5	วงเบนซิน 1 วง
toluene	5	วงเบนซิน 1 วง
ethyl benzene	5	วงเบนซิน 1 วง
xylene	5	วงเบนซิน 1 วง
naphthalene	5	วงเบนซิน 1 วง
pyrene	10	วงเบนซิน 4 วง
benzo(a)pyrene	10	วงเบนซิน 5 วง

ที่มา: ดัดแปลงจาก Ministry for the Environment. New Zealand (1999)

การเลือกเทคโนโลยีที่ใช้ในการบำบัดและฟื้นฟูสิ่งแวดล้อมนับว่ามีความสำคัญยิ่ง ซึ่งในปัจจุบันมีการศึกษาและพัฒนาเทคนิควิธีต่างๆ ในการบำบัดและฟื้นฟูสิ่งแวดล้อมให้หลายวิธี โดยแต่ละวิธีต่างมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกลุ่มของสารปนเปื้อน สภาพพื้นที่ปนเปื้อน ลักษณะพื้นที่ปนเปื้อน ความเข้มข้นของสารหรืองบประมาณและระยะเวลาในการดำเนินงาน ปัจจัยเหล่านี้เป็นตัวกำหนดในการเลือกใช้เทคนิควิธีในการบำบัดและฟื้นฟูสิ่งแวดล้อม (Atlas and Philp, 2005)

บ่อยครั้งที่การปนเปื้อนเป็นไปอย่างต่อเนื่องแต่มีความเข้มข้นต่ำ ขนาดพื้นที่ไม่ใหญ่มาก เช่น อาคารจอดรถ โรงซ่อมรถ สถานบริการน้ำมัน เป็นต้น ซึ่งไม่เหมาะสำหรับการฟื้นฟูโดยวิธีการทางเคมีและทางฟิสิกส์ การฟื้นฟูทางฟิสิกส์ส่วนใหญ่ใช้การเผา หรือเติมอากาศเพื่อกำจัดน้ำมัน ส่วนทางเคมีใช้การล้างดินหรือเติมสารลดแรงตึงผิวเพื่อแยกน้ำมันออกจากดิน การเผาได้พลังงานคืนกลับมา

ใช้พื้นที่น้อย การล้างดินเป็นการเคลื่อนย้ายน้ำมันออกจากดิน แล้วนำไปบำบัดตอนนอกพื้นที่ ทั้ง 2 วิธี เป็นวิธีที่รวดเร็ว มีประสิทธิภาพสูง แต่เป็นวิธีที่ใช้งบประมาณสูง เสี่ยงต่อการทำให้ดินเสียสภาพ เนื่องจากถูกความร้อน หรือถูกชะธาตุอาหารออกไป อีกทั้งอาจเหลือสารตกค้างในพื้นที่ ต้องมีการใช้วิธีอื่นช่วยในการบำบัดน้ำมัน และฟื้นฟูดินให้กลับมาเป็นสภาพเดิม การใช้เทคโนโลยีทางชีวภาพมาช่วยฟื้นฟูจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง โดยวิธีนี้มีประสิทธิภาพที่ดีในพื้นที่ที่มีปริมาณความเข้มข้นสารมลพิษต่ำ พื้นที่ขนาดเล็ก ยังเป็นกระบวนการธรรมชาติที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อย สามารถใช้บำบัดในพื้นที่ที่ปนเปื้อนได้จริง และที่สำคัญคือมีค่าใช้จ่ายที่ถูกลงกว่า ดังแสดงในตารางที่ 2 (Atlas, 1991; Atlas and Philp, 2005)

ตารางที่ 2 ค่าใช้จ่ายในพื้นที่ปนเปื้อนน้ำมัน

Method	Range of cost of remediation (US\$/ton of soil)
Incineration	400-1200
Washing	200-300
Bioremediation	20-200

ที่มา: Atlas and Philp (2005)

ตัวอย่างดินในการศึกษานี้มาจากบริเวณพื้นดินฝังตรงข้ามโรงงานบุญถมโลหะกิจ ซึ่งเป็นโรงงานโลหะขนาดเล็กในจังหวัดสมุทรปราการ พื้นที่ถูกดัดแปลงเป็นสถานที่จอดรถ และซ่อมรถ จึงมีการปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง การปนเปื้อนน้ำมันในพื้นที่นี้มีความเข้มข้นน้อย ขนาดของพื้นที่ไม่ใหญ่มาก มีการปนเปื้อนเป็นแบบกระจายเป็นจุด (แสดงดังภาพที่ 1) การฟื้นฟูวิธีการทางเคมีและทางกายภาพจึงไม่เหมาะสมกับพื้นที่นี้ การนำเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ฟื้นฟูน้ำมันเครื่องที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ โดยการย่อยสลายของจุลินทรีย์เชื่อว่าเป็นหนึ่งในกระบวนการที่สำคัญในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง (Hughes *et al.*, 1997)



ภาพที่ 1 สภาพพื้นที่ทำการเก็บตัวอย่าง

กระบวนการ Bioremediation เป็นกระบวนการใช้สิ่งมีชีวิตในการฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อน ส่วนใหญ่ใช้จุลินทรีย์จากธรรมชาติหรือจากแหล่งพันธุ์วิศวกรรมมาเปลี่ยนแปลงสารมลพิษ ให้เป็นสารที่มีพิษน้อยลง หรือสารปราศจากสารพิษ จุลินทรีย์ดังกล่าวอาจเป็นได้ทั้งยีสต์ ฟังไจและแบคทีเรีย จุลินทรีย์สามารถใช้สารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจากน้ำมันเครื่องเป็นสารตั้งต้น และแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนจะเข้าสู่กระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์และถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจนได้เป็นสาร โครงสร้างง่ายๆ เช่น อะซิเตท กรดไขมัน คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ โดย เซลล์จุลินทรีย์ มีคาร์บอน และไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบหลัก เซลล์จุลินทรีย์ทั่วไปมีคาร์บอนอยู่ร้อยละ 50 โดยน้ำหนักเซลล์แห้ง และไฮโดรเจนร้อยละ 8 โดยน้ำหนักเซลล์แห้ง (อลิสตา, 2550)

โดยทั่วไปการย่อยสลายน้ำมันเครื่องหรือผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมในธรรมชาติทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากมีข้อจำกัดหลายอย่างส่งผลทำให้การกำจัดสารมลพิษอาจดำเนินไปไม่ดैनัก เมื่อน้ำมันหกหรือรั่วไหลลงบนดินบางส่วนซึมลงตามช่องว่างของดิน รอยแตกแยกของเนื้อดิน เนื่องจากน้ำมันไม่มีความสามารถละลายน้ำ หรืออาจละลายได้น้อย ทำให้มักยึดติดอยู่แน่นในเนื้อดิน ทำให้การย่อยสลายน้ำมันของจุลินทรีย์เกิดได้ช้า และไม่ดैनัก หรือในพื้นที่ปนเปื้อนอาจมีธาตุอาหารต่ำ (N, P และ K) มีแหล่งคาร์บอนที่มีโครงสร้างซับซ้อนกว่าที่จุลินทรีย์นำไปใช้ได้ ความเข้มข้นของสารมลพิษอาจสูง จึงเป็นเหตุผลที่จำเป็นต้องใช้เวลาในการฟื้นฟูนาน แต่ข้อจำกัดนี้สามารถแก้ไขได้โดยการเติม

สารอาหาร เชื้อจุลินทรีย์ หรือสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ลงไปกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น (Gan *et al.*, 2009)

การเพิ่มประสิทธิภาพการฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่องโดยวิธีทางชีวภาพส่วนใหญ่ใช้วิธี bioaugmentation หรือ biostimulation ทั้ง 2 วิธีนี้สามารถฟื้นฟูพื้นที่โดยไม่มีการเคลื่อนย้ายตัวกลางไปที่อื่น โดยวิธี bioaugmentation เป็นเทคโนโลยีการฟื้นฟูที่มีการเติมจุลินทรีย์ลงไปในตัวกลางที่มีการปนเปื้อนสารเคมีจุลินทรีย์ที่เติมลงไปอาจเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่มีในพื้นที่นั้น (indigenous) หรืออาจเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างถิ่น (exogenous) โดยจุลินทรีย์ที่เติมลงไปนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการย่อยสลายสารปนเปื้อนในพื้นที่นั้น สำหรับ biostimulation เป็นการใส่สารอาหารหรือสารใดๆ เช่น สารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ธรรมชาติ สารกระตุ้นการสร้างเอนไซม์ หรือ ปรับสภาพให้มีความเหมาะสมต่อการย่อยสลายทางชีวภาพ เช่น การให้อากาศหรือการให้ออกซิเจนที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ให้ทำ bioremediation ได้ดีขึ้น ส่วนใหญ่ใช้ปุ๋ยหรือสารที่ช่วยการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Vidali, 2001)

ในการทดลองในครั้งนี้มีการเติมกากชีวภาพ และสารลดแรงตึงผิวในรูปน้ำยาซักผ้าลงไปในดินที่ปนเปื้อน เนื่องจากคุณสมบัติของกากชีวภาพโดยทั่วไปอุดมไปด้วยสารอินทรีย์และธาตุอาหารต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อจุลินทรีย์อยู่ในปริมาณมาก โดยมีอินทรีย์วัตถุประมาณ 40-60% มีไนโตรเจนประมาณ 3-4% และมีโพแทสเซียมประมาณ 0.3-1% (Metcalf and Eddy, 2004) อีกทั้งกากชีวภาพยังมีความสามารถในการปรับปรุงลักษณะสมบัติของดินให้ดีขึ้นได้ โดยทำหน้าที่เพิ่มแหล่งคาร์บอนที่มีโครงสร้างง่ายต่อการย่อยสลาย เพิ่มธาตุอาหาร เพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ อีกทั้งยังเพิ่มความชื้นให้กับจุลินทรีย์ ทำให้เมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ดีขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นการนำกากชีวภาพไปใช้ประโยชน์อย่างคุ้มค่า สำหรับน้ำยาซักผ้าช่วยเพิ่มความสามารถในการอิมัลชัน (emulsion) ของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน และสารอินทรีย์ในดินที่มีโครงสร้างใหญ่ และซับซ้อน ให้มีอนุภาคเล็กลง สะล้างแหล่งคาร์บอนโครงสร้างง่ายๆ ออกมาได้มากขึ้น ง่ายต่อการที่จุลินทรีย์นำไปใช้ ทำให้ย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ดีขึ้น และลดระยะเวลาในการฟื้นฟู (อลิสตา, 2550: Hughes *et al.*, 1997: Gan *et al.*, 2009 ; Kosaric, 2001)

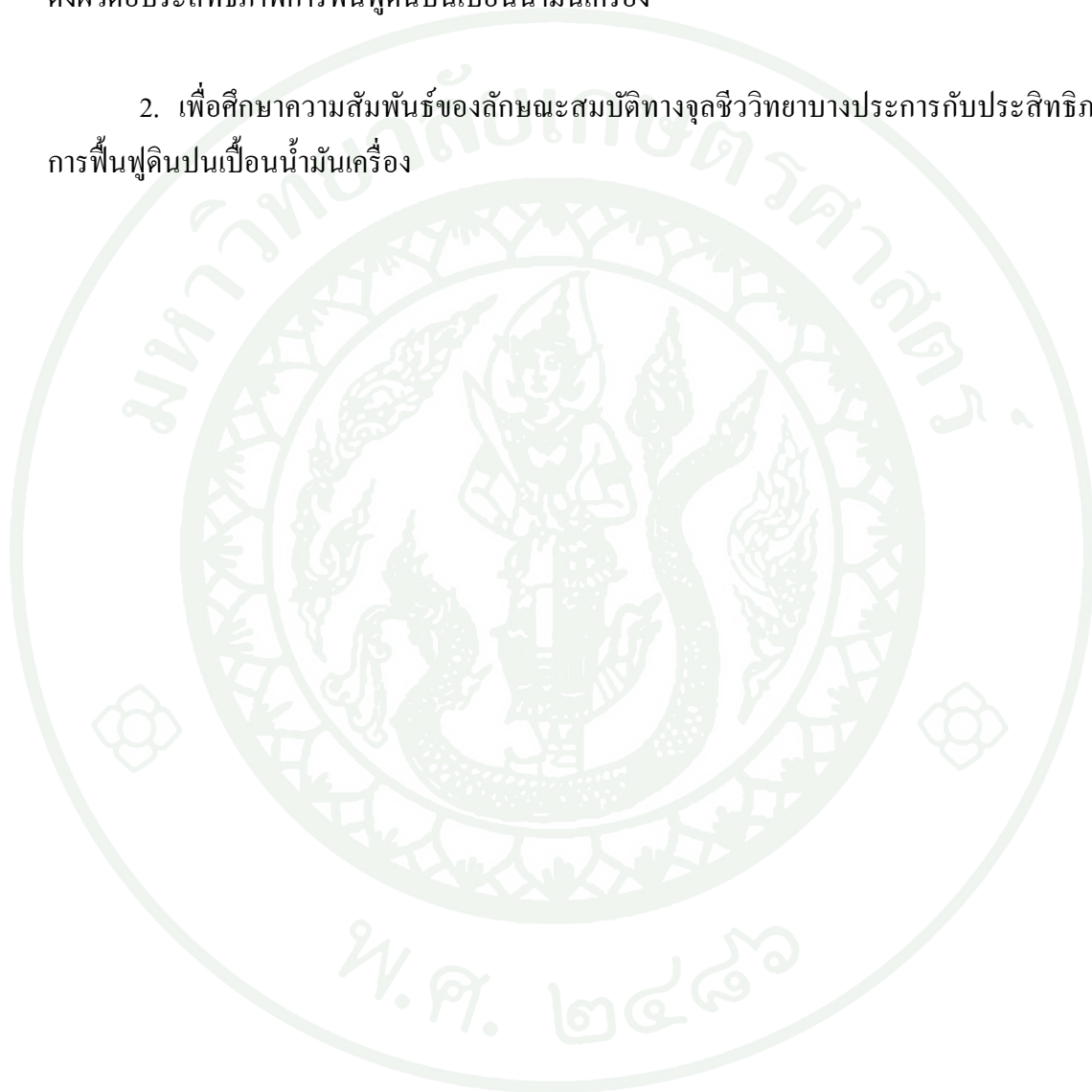
จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่องเก่า และเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ดินที่มีประวัติการปนเปื้อนจริง และเป็นตัวอย่างของการฟื้นฟูพื้นที่ ที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่องที่มีขนาดเล็กและมีความเข้มข้นต่ำ โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 3 ชุดได้แก่ เติมน้ำมันชีวภาพ เติมน้ำมันลดแรงตึงผิว และเติมทั้งสองอย่างควบคู่กัน โดย

งานวิจัยนี้เป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหาและเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดดินที่ปนเปื้อนไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อม และเป็นแนวทางในการจัดการใช้ประโยชน์จากชีวภาพควบคู่กับสารลดแรงตึงผิวได้อย่างมีประสิทธิภาพ เป็นการหมุนเวียนของเสียมาใช้ให้เกิดประโยชน์ นอกจากนี้ยังรักษาสมดุลทางสิ่งแวดล้อมเนื่องจากวิธีนี้มีผลกระทบต่อพื้นที่ปนเปื้อนน้อย



วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการเติมกากชีวภาพ สารลดแรงตึงผิว และกากชีวภาพร่วมกับสารลดแรงตึงผิวต่อประสิทธิภาพการฟื้นฟูดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะสมบัติทางจุลชีววิทยาบางประการกับประสิทธิภาพการฟื้นฟูดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง



การตรวจเอกสาร

1. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน และการปนเปื้อนของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในดิน

1.1 ปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (Petroleum hydrocarbon)

ปิโตรเลียม (Petroleum) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ได้มาจากธรรมชาติ โดยเกิดจากปฏิกิริยาเคมี และชีวเคมีของสารอินทรีย์ ได้แก่ ซากพืชซากสัตว์ องค์ประกอบส่วนใหญ่ของปิโตรเลียมได้แก่ สารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ ตั้งแต่โมเลกุลเล็กที่สุดจนถึงพวกโมเลกุลใหญ่ นอกจากนี้ยังมีสารอินทรีย์ ที่มีกำมะถัน ออกซิเจน และไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนโลหะพบปริมาณเล็กน้อยซึ่งส่วนใหญ่เป็นนิกเกิล และวานาเดียม ปิโตรเลียมเป็นได้ทั้ง 3 สถานะคือ ของแข็ง ของเหลว และแก๊ส หรือสามสภาพปะปนกัน ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของปิโตรเลียมรวมถึง ความร้อนและความดันของสภาพแวดล้อมในการเกิดและการกักเก็บปิโตรเลียม

ในสารานุกรมไทยฉบับเยาวชน เล่มที่ 24 (2542) อธิบายถึงคำว่า “ปิโตรเลียม” มีรากศัพท์มาจากภาษาละตินว่า “เพตรา” (Petra) แปลว่า หิน และคำว่า “โอเลอุม” (Oleum) แปลว่า น้ำมัน รวมความแล้ว ปิโตรเลียมจึงหมายความว่า น้ำมันที่ได้จากหิน โดยไหลซึมออกมาเองในรูปของของเหลวหรือแก๊ส เมื่อแรกพบ ไฮโดรคาร์บอน คือ สารประกอบซึ่งมีคาร์บอน (C) และไฮโดรเจน (H) เป็นองค์ประกอบหลัก โดยทั่วไปนั้น สารประกอบไฮโดรคาร์บอนมีมากมายหลายประเภทตามลักษณะของสูตรทางเคมี และโครงสร้างโมเลกุลมีเพียง 3 ประเภทเท่านั้น (ดังภาพที่ 2) ที่มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับปิโตรเลียม คือ

1) อัลเคน หรือ พาราฟิน (Alkane or paraffin) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนอิ่มตัวมีโครงสร้างเชื่อมต่อกันเป็นเส้น มีสูตรทั่วไปคือ C_nH_{2n+2} เช่น มีเทน (Methane, CH_4)

2) ไซโคลอัลเคน หรือ แนพทีน (Cyclo-alkane or naphthene) เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัว ไม่มีเสถียรภาพ มีสูตรทั่วไปคือ C_nH_{2n-6} เช่น ไซโคลเพนเทนส์ (Cyclopentanes, C_5H_{10})

3) อะโรมาติก (Aromatic) เป็นสารประกอบที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated hydrocarbons) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน สารในกลุ่มนี้คือ เบนซีน (Benzene, C_6H_6)



1) paraffin



2) naphthene



3) aromatic

ภาพที่ 2 โครงสร้างโมเลกุลของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

ที่มา: สารานุกรมไทยฉบับเยาวชน (2542)

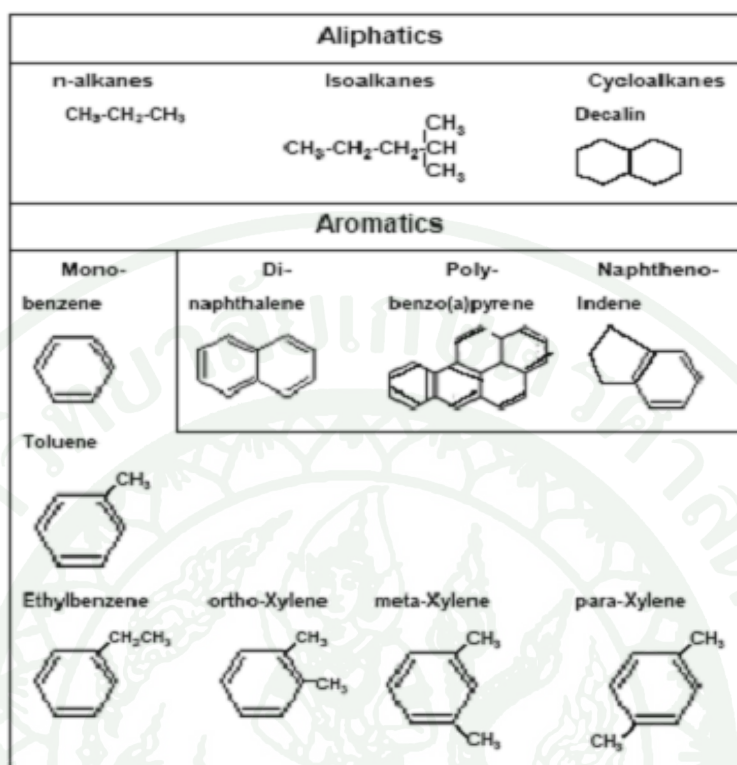
กระทรวงสิ่งแวดล้อม ประเทศนิวซีแลนด์ แยกประเภทปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนออกเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะการจับกันเป็นพันธะเคมี ได้แก่

1) กลุ่มอะลิฟาติก (Aliphatics) เป็นกลุ่มที่จับกันเป็นพันธะเคมีแบบเส้นตรงหรือกลุ่มอัลเคน (Alkanes)

2) กลุ่มอะโรมาติก (Aromatic) เป็นกลุ่มที่จับกันเป็นพันธะเคมีแบบวง Cyclics ซึ่งกลุ่มนี้ยังแยกย่อยออกได้เป็น 2 แบบ (ดังภาพที่ 3) ได้แก่

2.1) กลุ่มวงเดี่ยว (Monocyclic Aromatics Hydrocarbons, MAHs) สารสำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ เบนซีน (Benzene) โทลูอิน (Toluene) อีทิลเบนซีน (Ethylbenzene) และไซลีนส์ (Xylenes)

2.2) กลุ่มสองวงขึ้นไป (Polycyclic Aromatics Hydrocarbon, PAHs) สารสำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ เบนโซ (เอ) ไพรีน (Benzo(a)pyrene) และแนฟทาลิน (Naphthalene)



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของสารไฮโดรคาร์บอนที่สำคัญ

ที่มา: Ministry for the environment. New Zealand (1999)

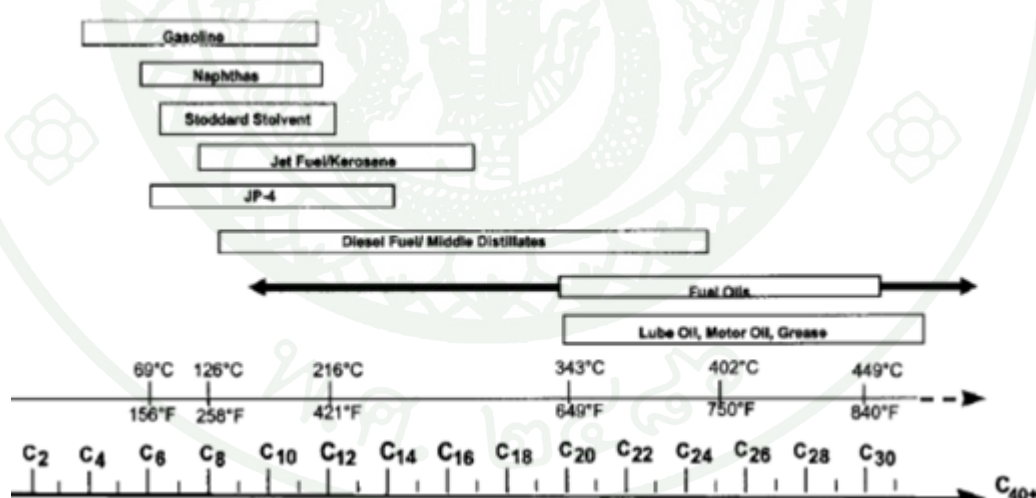
1.2 คุณสมบัติของน้ำมันเครื่อง

น้ำมันเครื่อง (lubricating oil) หรือเรียกกันโดยทั่วไปว่า น้ำมันหล่อลื่น เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการกลั่นน้ำมันดิบ มีช่วงจุดเดือดระหว่าง 380-500 องศาเซลเซียส มีค่าความหนืด (Viscosity Kinetic) เริ่มต้นที่ 40-100 องศาเซลเซียส น้ำมันเครื่องต้องคงสภาพ ไม่ระเหยเป็นไอ และถูกติดไฟ ก่อนที่อุณหภูมิกำหนด อยู่ในราว 160 -320 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ น้ำมันเครื่องยังมีการเติมสารเพิ่มคุณภาพต่างๆ เพื่อปรับปรุงสมบัติให้เหมาะสมสำหรับใช้งานหล่อลื่นแต่ละอย่าง เช่น เติมสารเพิ่มความหนืด สารป้องกันสนิม และการกัดกร่อน โดยคุณสมบัติทางเคมี และฟิสิกส์ของผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมขึ้นอยู่กับผู้ผลิตที่มีการปรับปรุงสมบัติของสาร (ชาร์ตัน, 2533) ผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมโดยทั่วไปมีคุณสมบัติทางฟิสิกส์ และเคมีดังตารางที่ 3 และจุดเดือดของผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมแสดงได้ดังภาพที่ 4

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันดิบ (crude oil)

คุณสมบัติ	ค่าต่างๆ ของคุณสมบัติ
Specific gravity 15/15 (°C)	0.80-0.998
Initial boiling point (°C)	30-125
Kinetic Viscosity cS, 100 (°F)	4-25
Pour poin (°C)	-35-7
Sulphur (%wt)	0.08-5.00
Wax (%wt)	5-12
Asphaltene (%wt)	0.05-3.00
Flashpoint	Variable and can be very

ที่มา: ชรัตน์ (2533)



ภาพที่ 4 ค่าคาร์บอนและจุดเดือดของผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมแต่ละชนิด

ที่มา: Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group (TPHCWG) (1998)

1.3 การปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมในสิ่งแวดล้อม

การปนเปื้อนผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมสู่สิ่งแวดล้อมทำให้เกิดปัญหามลพิษทั้งทางดิน ทางน้ำ และทางอากาศ โดยสาเหตุของการปนเปื้อนทางดินส่วนใหญ่เกิดจากการทิ้งกากสารเคมีจากโรงงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวกับน้ำมัน และสารเคมีต่าง ๆ เช่น โรงงานอุตสาหกรรมปิโตรเคมี โรงงานอุตสาหกรรมการกลั่นน้ำมัน โรงจอดรกร้านซ่อมรถ สถานีจ่ายน้ำมัน เป็นต้น ส่วนมลพิษทางน้ำของสารเหล่านี้มาจากอุบัติเหตุของเรือบรรทุกน้ำมันชนกัน เรือน้ำมันรั่วไหลลงสู่แหล่งน้ำ อาจมาจากการทิ้งผลิตภัณฑ์ลงสู่แหล่งน้ำ หรือการชะล้างดินทำให้สารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน มีโอกาสปนเปื้อนในแหล่งน้ำได้ง่าย และมลพิษทางอากาศส่วนใหญ่เกิดจากควันพิษ และน้ำมันสำเร็จรูปที่ใช้กับเครื่องยนต์หรือเครื่องจักรต่าง ๆ นอกจากนี้ควันพิษและสารระเหยที่มาจากแหล่งของโรงงานอุตสาหกรรมดังกล่าวที่ก่อให้เกิดมลภาวะของดินก็ทำให้เกิดมลภาวะทางอากาศได้เช่นกัน โดยเฉพาะสารประเภทไฮโดรคาร์บอนซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีความสามารถในการระเหย หรืออาจเกิดจากการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์

1.3.1 รูปแบบของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม

การปนเปื้อนน้ำมันและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนสู่สิ่งแวดล้อม ทำให้เกิดปัญหามลพิษในดิน Ministry for the Environment, New Zealand (1999) ได้อธิบายถึงรูปแบบของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในดินว่าอาจถูกพบได้ใน 3 รูปแบบ ดังนี้

- 1) รูปของเหลว (liquid phase) ซึ่งพบได้ในหลายลักษณะ เช่น เป็นของเหลวที่เคลื่อนที่หรืออาจไม่เคลื่อนที่ในชั้นดิน
- 2) รูปสารละลาย (dissolved phase) พบได้ในน้ำที่ไหลซึมลงในดินเป็นลักษณะแผ่นฟิล์มปกคลุมผิวหน้าของวัสดุ หรือในช่องว่างระหว่างเนื้อดิน
- 3) รูปไอระเหย (vapor phase) อาจพบในรูปไอระเหยอยู่ในช่องว่างระหว่างเนื้อดินที่อยู่เหนือระดับน้ำใต้ดิน หรืออาจระเหยออกมาจากชั้นน้ำมันที่ติดเกาะกับอนุภาคดิน

1.3.2 การเปลี่ยนแปลงของน้ำมันในสิ่งแวดล้อม

เมื่อมีการปนเปื้อนของน้ำมันในสิ่งแวดล้อม น้ำมันมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางด้านฟิสิกส์ เคมี และชีวภาพดังนี้

1.3.2.1 การแพร่กระจายของน้ำมัน (spreading) กรณีเกิดน้ำมันรั่วไหลในดิน การแพร่กระจายของน้ำมันขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ ประเภทของการรั่วไหล ชนิดของน้ำมัน ตัวกลางที่ปนเปื้อน และสภาพแวดล้อม เมื่อผลิตภัณฑ์ปิโตรเลียมหกรั่วไหลลงบนพื้นดิน น้ำมันจะซึมลงไปในชั้นดิน หรือยึดเกาะอยู่บนผิวดิน ก้อนหิน และอินทรีย์วัตถุต่างๆ เช่น เศษไม้ ซากพืชซากสัตว์ เป็นต้น โดยดินแต่ละชนิดมีความสามารถในการดูดซับน้ำมันไว้ได้ในระดับที่แตกต่างกัน ตามปริมาณช่องว่างในเนื้อดิน ในกรณีที่มีปริมาณน้ำมันมากพอ ดินจะดูดซับน้ำมันจนอิ่มตัวและไม่สามารถดูดซับไว้ได้อีก ดังนั้นน้ำมันส่วนเกินที่ไม่ถูกดูดซับจะซึมผ่านชั้นดินลงไปตามแรงดึงดูดของโลก ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ลักษณะแพร่กระจายของน้ำมันในดิน

ที่มา: ชรัตน์ (2533)

สำหรับขนาดและรูปแบบของน้ำมันเมื่อซึมลงในดิน ขึ้นอยู่กับลักษณะทางฟิสิกส์ของดิน เช่น เนื้อดิน (soil texture) ความหนาแน่นของดิน (soil density) ความพรุนของดิน (soil porosity) รวมทั้งชนิดและปริมาณของน้ำมันที่ซึมลงดิน โดยดินที่มีช่องว่างในดิน (soil permeability) สูง

มีรูปแบบของน้ำมันที่ซึมลงในดินคล้ายทรงกระบอก ส่วนดินที่มีช่องว่างในดินน้อย จะมีรูปแบบคล้ายทรงกรวย อัตราการแทรกซึม (rate of penetration) ของน้ำมันลงในดินจะสูงหรือต่ำขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของน้ำมัน และคุณสมบัติทางกายภาพของดินนั้นๆ เช่น ดินที่มีกรวดหรืออนุภาคทรายหยาบ (gravel or coarse sand) สูง น้ำมันสามารถแทรกซึมผ่านในอัตราที่สูงกว่าดินที่มีอนุภาคดินเหนียว (clay)

1.3.2.2 การระเหยของน้ำมัน (evaporation) น้ำมันที่เกาะอยู่บนผิวดินหรือในช่องว่างดินมีอัตราการระเหยสูง หรือต่ำขึ้นอยู่กับขนาดการแผ่ของน้ำมันบนพื้นที่ผิวของตัวกลางชนิดของน้ำมัน และอุณหภูมิ เมื่ออยู่ในสภาวะเดียวกัน ตามหลักการทั่วไปน้ำมันเริ่มต้นระเหยทันทีที่รั่วไหลออกจากภาชนะที่เก็บโดยน้ำมันชนิดเบา (light oil) เช่น น้ำมันเบนซิน มีอัตราการระเหยได้เร็วกว่าน้ำมันชนิดที่หนักกว่า (heavy oil) เช่น น้ำมันเครื่อง ซึ่งอัตราการระเหยของน้ำมันเร็วในช่วงแรกเนื่องจากน้ำมันที่มีสารระเหย (volatile) ระเหยออกจากน้ำมันจนเหลือสารที่ไม่ระเหย (non-volatile) ซึ่งมีความถ่วงจำเพาะสูงและมีความหนืดสูง จะยึดเกาะกับอนุภาคดินและสารอินทรีย์ในดิน ซึ่งในสภาพปกติที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส น้ำมันเบนซินระเหยประมาณร้อยละ 50 ของปริมาณน้ำมันที่หกทั้งหมดในระยะเวลา 7-8 นาที ส่วนน้ำมันเครื่องจะระเหยประมาณร้อยละ 25 ภายใน 24 ชั่วโมง

1.3.2.3 การ oxidation ของสารอินทรีย์โดยใช้พลังงานแสง (Photochemical oxidation) เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นบนผิวของน้ำมันที่น้ำมันทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศโดยใช้พลังงานแสงอาทิตย์ ซึ่งเกิดขึ้นเร็วมากเมื่อน้ำมันแพร่กระจายออกเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ บนเนื้อดิน

1.3.2.4 การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ (biological degradation) กระบวนการนี้เกิดขึ้นโดยแบคทีเรียและสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กในสิ่งแวดล้อมเข้าไปย่อยสลายน้ำมันที่ยึดเกาะติดกับดิน ถ้าน้ำมันมีพื้นที่ผิวมากเท่าไรก็ยิ่งทำให้จุลินทรีย์สามารถเข้าไปย่อยสลายได้มากขึ้น นอกจากนี้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในดินขึ้นอยู่กับ ธาตุอาหาร ความชื้นและอุณหภูมิด้วย

2. การฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง

เป้าหมายของการจัดการพื้นที่ปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน คือป้องกันสุขภาพอนามัยของประชาชน และคุณภาพสิ่งแวดล้อม โดยการจัดการความเสี่ยงของการเกิดผล กระทบต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์ และคุณภาพสิ่งแวดล้อมให้อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ เพื่อวัตถุประสงค์การใช้ประโยชน์

การเกิดน้ำมันรั่วไหลลงสู่สภาพแวดล้อม ลักษณะ และความรุนแรงของผลกระทบย่อมแตกต่างกัน ดังนั้นในการควบคุม หรือกำจัดน้ำมันที่รั่วไหลสู่สภาพแวดล้อม จำเป็นต้องทราบถึงคุณสมบัติของน้ำมันแต่ละชนิดเสียก่อน การกำจัดการประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมสามารถทำได้หลายวิธีตามความเหมาะสมของแต่ละพื้นที่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับทางเลือก และขั้นตอนการเลือกแนวทางการจัดการ (ชรินทร์, 2533)

ขั้นตอนการเลือกแนวทางการจัดการ มีดังนี้

- 1) ระบุเทคโนโลยีที่มีอยู่
- 2) ประเมินว่าเทคโนโลยีใดสามารถฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อนให้อยู่ในเกณฑ์ที่ถูกลำไ้ไปใช้ประโยชน์ ตามที่กำหนดต่อไปได้
- 3) เลือกเทคโนโลยีที่ง่ายและมีความเป็นไปได้มากที่สุด
- 4) คำนวณค่าใช้จ่ายของเทคโนโลยีตามราคาที่ถูกลงเสนอโดยผู้ค้าในท้องถิ่นนั้น ๆ
- 5) เลือกเทคโนโลยีที่ถูกที่สุดซึ่งบรรลุวัตถุประสงค์ของแผนจัดการพื้นที่ปนเปื้อน (Site Management Plan)

การฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อนน้ำมันมีความจำเป็นต้องสำรวจพื้นที่ และเก็บรวบรวมข้อมูลของสารปนเปื้อนเพื่อนำมาประกอบการพิจารณาในการคัดเลือกแนวทาง และเทคโนโลยีในการฟื้นฟูที่เหมาะสมกับพื้นที่นั้น ๆ ซึ่งปัจจัยที่สำคัญมีดังนี้คือ

1) ชนิดของสารปนเปื้อน ซึ่งเป็นปัจจัยอย่างแรกที่ต้องคำนึงถึง เพราะวิธีการฟื้นฟูแต่ละวิธี ถูกออกแบบมาให้มีความเหมาะสม และเฉพาะเจาะจงกับสารปนเปื้อน เช่น วิธีการฟื้นฟูแบบ Soil Vapor Extraction (SVE) ถูกออกแบบมาให้ใช้กับสารปนเปื้อนที่มีคุณสมบัติ ในการระเหยง่ายเท่านั้น สารปนเปื้อนใดที่มีความสามารถในการระเหยต่ำ หรือ โลหะหนักเกือบทุกชนิดไม่สามารถใช้วิธีการนี้ได้ เป็นต้น

2) ปริมาณ และความเข้มข้นของสารปนเปื้อน ความเข้มข้นของสารปนเปื้อนสัมพันธ์กับ ปริมาณของสารปนเปื้อน และปริมาณดิน หรือน้ำใต้ดินที่มีการปนเปื้อนนั้นๆ ตัวอย่างเช่น กรณีที่ สารปนเปื้อนมีปริมาณมาก และความเข้มข้นสูงก็ไม่สามารถใช้เทคโนโลยีฟื้นฟูสิ่งแวดล้อมทาง ชีวภาพเนื่องจากทำให้พืชหรือจุลินทรีย์ตายลง ทำให้ประสิทธิภาพการฟื้นฟูลดลง

3) ตัวกลางที่ปนเปื้อน เช่น การฟื้นฟูสารชนิดหนึ่งที่ปนเปื้อนในดินจะใช้วิธีการที่แตกต่าง กันกับการฟื้นฟูสารชนิดหนึ่งที่ปนเปื้อนในน้ำใต้ดิน นอกจากนี้ดินแต่ละประเภทมีคุณสมบัติทาง กายภาพ และทางเคมีที่แตกต่างกัน การมีปฏิกิริยาต่อกันและกัน (interaction) ระหว่างดิน และสาร ปนเปื้อนที่แตกต่างกันด้วย เช่น ดินที่เป็นดินเหนียว เนื้อดินละเอียดจะดูดซับสารปนเปื้อนได้ดีกว่า เนื้อดินร่วนซุย ดังนั้นประสิทธิภาพในการฟื้นฟูโดยวิธีการฟื้นฟูแบบ SVE หรือ Soil Flushing อาจมี ประสิทธิภาพต่ำ

4) ลักษณะของพื้นที่ที่ปนเปื้อน ประกอบด้วย ความลาดชัน ความลึกระดับน้ำใต้ดิน สภาพ ภูมิประเทศ และภูมิอากาศ เป็นต้น อาทิเช่นถ้าพื้นที่ที่มีความลาดชันสูง การใช้วิธีทางเคมี เช่น Permeable barrier อาจทำไม่ได้ เนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องการออกแบบ

5) วิธี และการเคลื่อนตัวของสารปนเปื้อนเป็นตัวกำหนดการแพร่กระจายตัวของสาร ปนเปื้อนในดิน และน้ำใต้ดิน ซึ่งการเลือกวิธีการฟื้นฟูต้องเลือกวิธีที่สามารถฟื้นฟูให้มีความ ครอบคลุมมากที่สุด

2.1 เทคโนโลยีทางการฟื้นฟูดิน

การจัดการพื้นที่ที่ปนเปื้อนมีเทคโนโลยีที่หลากหลาย เทคโนโลยีการบำบัดและฟื้นฟู พื้นที่ปนเปื้อนนั้นเป็นการประยุกต์กระบวนการทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ เพื่อใช้ในการควบคุม การแพร่กระจายของสารมลพิษจากแหล่งกำเนิดและเพื่อกำจัดหรือบำบัดสารปนเปื้อนในพื้นที่

เป้าหมาย ในปัจจุบันมีเทคโนโลยีที่หลากหลาย ทั้งการบำบัดฟื้นฟูในพื้นที่ (In-situ) และการบำบัดฟื้นฟูพื้นที่ (Ex-situ)

การฟื้นฟูในพื้นที่ (In-situ remediation) หมายถึง สารปนเปื้อนของของเสียอันตรายที่ไม่สามารถถูกกำจัดจากการเก็บ หรือการฝังกลบทั่วไป การฟื้นฟูประเภทนี้มีการผสมสารเคมีลงสู่พื้นที่ที่ปนเปื้อนโดยตรง หรืออาศัยอุปกรณ์บางชนิดในการทำงาน เช่น ส่วน เป็นต้น

การฟื้นฟูพื้นที่ (Ex-situ remediation) หมายถึง สารปนเปื้อน หรือสารอันตรายที่สามารถกำจัดได้โดยการกักเก็บ หรือนำไปฝังกลบได้ เช่น การขุดดินที่ปนเปื้อนไปบำบัดต่อจนมีค่าต่ำกว่า มาตรฐานและค่อยนำไปฝังกลบ เป็นต้น สามารถแบ่งรูปแบบการบำบัดดินตามลักษณะพื้นที่ที่ทำการบำบัดได้

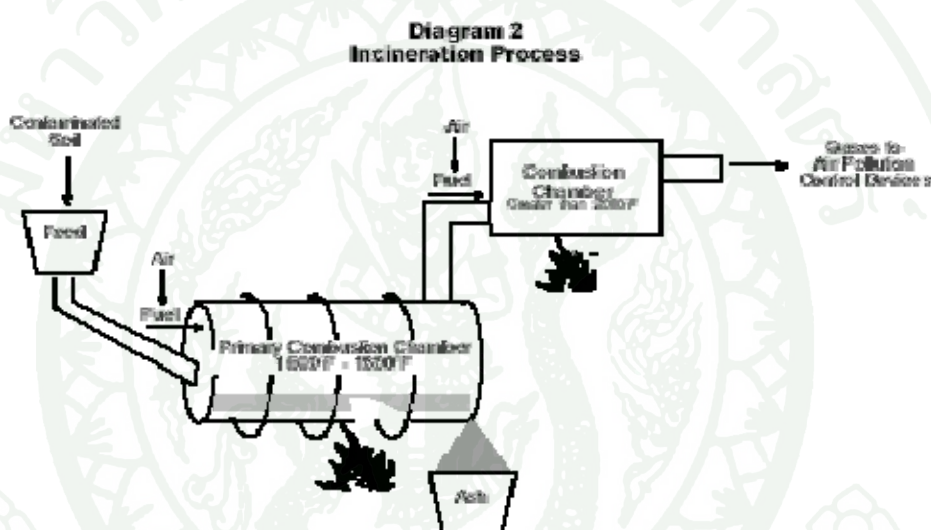
เทคโนโลยีการฟื้นฟูดินโดยทั่วไปแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

2.1.1 วิธีการทางกายภาพ (physical method)

เป็นวิธีการควบคุม กำจัด และเก็บกวาดคราบน้ำมันด้วยวิธีกลหรืออุปกรณ์เครื่องมือ ในบางพื้นที่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือมากกว่า 1 ชนิด ทำงานร่วมกันในลักษณะผสมผสานกัน เช่น

2.1.1.1 งานขุด (excavation) นับว่าเป็นกระบวนการสำคัญในการบำบัดพื้นที่ปนเปื้อนแบบไม่อยู่กับที่ (ex-situ treatment) การบำบัดดินปนเปื้อนจึงมักเกี่ยวข้องกับงานขุด เนื่องจากการขุดและขนย้ายเอาดินปนเปื้อนออกจากพื้นที่แล้ว แทนที่ด้วยวัสดุที่ไม่ปนเปื้อน สามารถแก้ปัญหาในระดับที่ลึกกว่าระดับผิวดิน หากการปนเปื้อนลึกลงไปจากผิวดิน สามารถขนย้ายเอาดินที่ปนเปื้อนออกจากพื้นที่ปนเปื้อน (Hot spots) ก่อนที่ปิดคลุมพื้นที่หรือใช้วิธีการอื่นเข้ามาบำบัดฟื้นฟูดินปนเปื้อนนั่น เป็นการเตรียมพื้นที่ให้พร้อมก่อนการนำวิธีการอื่นๆ เข้ามาบำบัดฟื้นฟู งานขุดมักทำร่วมกับการบำบัดอื่นๆ เช่น การขุด และนำดินปนเปื้อนไปฝังกลบ การขุดแล้วเผาในเตาเผาขยะปนเปื้อน หรือการขุดแล้วนำมาบำบัดโดยการย่อยสลายตามธรรมชาติ (Landfarming) เป็นต้น (Nathanail and Bardos, 2004)

2.1.1.2 การเผา (Incineration) เป็นกระบวนการกำจัดน้ำมันที่ใช้ความร้อนสูง เพื่อเผาไหม้น้ำมัน ที่มีส่วนประกอบเป็นคาร์บอน การเผากำจัดทั้งน้ำมัน และสารอินทรีย์ในดิน เชื้อเพลิง ทำให้ดินเสื่อมสภาพ (ดังภาพที่ 6) การบำบัดด้วยวิธีการเผาสามารถใช้ได้ทั้งในแบบที่อุณหภูมิต่ำ และสูง วิธีที่ใช้อุณหภูมิต่ำนั้นเป็นการแยกเอาสารอินทรีย์ปนเปื้อนออกจากมวลดินปนเปื้อนที่อุณหภูมิประมาณ 300 ถึง 700 องศาฟาเรนไฮต์ เนื่องจากสารอินทรีย์ปนเปื้อนจะระเหยออกจากมวลดินปนเปื้อนโดยไม่ถูก Oxidized แต่ถูกเผาจนคาร์บอนหมดไป หรือถูกจับเอาไว้หมด ส่วนวิธีที่ใช้ อุณหภูมิสูงนั้นใช้การเผาไหม้ด้วยอุณหภูมิที่สูงกว่า 1,650 องศาฟาเรนไฮต์ เพื่อทำลายสารปนเปื้อน



ภาพที่ 6 การฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนด้วยระบบการเผา

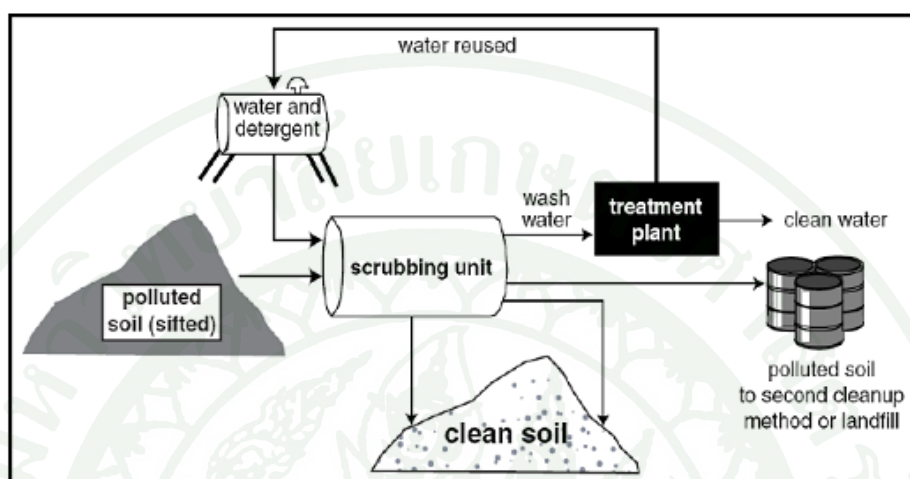
ที่มา: United States Environmental Protection Agency (2001)

2.1.2 วิธีการทางเคมี (chemical method)

เป็นวิธีที่ใช้สารเคมีในการฟื้นฟู โดยเติมสารเคมีลงดินที่ปนเปื้อนเพื่อทำปฏิกิริยากับสารปนเปื้อนเพื่อให้สารปนเปื้อนเปลี่ยนรูปเป็นสารที่มีความเป็นพิษต่ำลง หรือได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ เช่น

2.1.2.1 การล้างดิน (Soil Washing) เป็นวิธีการบำบัดและฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนสารมลพิษโดยใช้หลักการการชะล้างด้วยสารละลายที่เหมาะสม โดยอาศัยคุณสมบัติในการละลาย (solubility) ของสารปนเปื้อนที่ต้องการกำจัด โดยสารปนเปื้อนที่ถูกชะล้างออกมาจะถูกเก็บ

รวบรวมเพื่อนำไปบำบัดอีกครั้ง (ดังภาพที่ 7) ลักษณะตัวชะล้าง เช่น สารละลายกรด สารละลายเบส น้ำ สารลดแรงตึงผิว (surfactants) เป็นต้น



ภาพที่ 7 การฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนด้วยระบบการล้างดิน

ที่มา: United States Environmental Protection Agency (2001)

2.1.2.2 กระบวนการออกซิเดชันทางเคมี Chemical oxidation เป็นกระบวนการลดพิษ (detoxify) ของสารปนเปื้อนโดยการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของสารปนเปื้อนให้อยู่ในรูปของสารที่มีพิษน้อยลง เช่น การใช้สาร oxidizing agent ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) โอโซน (O_3) เปอร์แมงกาเนต (MnO_4^-) โซเดียมเปอร์ซัลเฟต ($Na_2S_2O_8$) และคลอรีน (Cl) เป็นต้น เนื่องจากสารเคมีกลุ่มนี้ เป็นสารเคมีที่หาง่าย ความเป็นพิษต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิเดชันประเภทอื่น และง่ายต่อการใช้งานเพื่อมาทำลายโครงสร้างของสารปนเปื้อนอินทรีย์จนได้คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย อย่างไรก็ตามการเลือกใช้สารออกซิเดชันในการฟื้นฟูดินต้องคำนึงถึงชนิดของสารปนเปื้อน ความสะดวก และความชำนาญของผู้ปฏิบัติงานเป็นสำคัญ

2.1.3 วิธีการทางชีวภาพ (biological method)

วิธีการทางชีวภาพ (biological method) หรือ Bioremediation วิธีนี้เป็นการใช้สิ่งมีชีวิต เช่น แบคทีเรีย รา ยีสต์ และสาหร่ายในการดูดซับหรือย่อยสลายสารปนเปื้อน โดยสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ใช้สารมลพิษในกระบวนการเมแทบอลิซึมซึ่งต้องใช้เวลาในการย่อยสลายค่อนข้างนาน ดังนั้นการเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายให้เป็นไปอย่างรวดเร็วจำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิ ออกซิเจน ค่าพีเอช และธาตุอาหารที่สำคัญให้เหมาะสม เช่น ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส โดยจุลินทรีย์ที่มีความจำเพาะต่อสารไฮโดรคาร์บอนจะช่วยให้การย่อยสลายสามารถดำเนินไปได้อย่างรวดเร็ว ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ได้แก่ ลักษณะสมบัติของจุลินทรีย์เอง รวมถึงวิธีเมแทบอลิซึม และกระบวนการต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับความสามารถของจุลินทรีย์ในธรรมชาติในการทนทานต่อความเป็นพิษ และความสามารถในการย่อยสลายสารมลพิษทั้งนี้กระบวนการต่างๆ ที่มีความเกี่ยวข้องเหล่านี้ได้แก่

Detoxification หมายถึง กระบวนการลดความเป็นพิษของสารมลพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ โดยจุลินทรีย์ใช้กระบวนการทางชีวภาพเพื่อเปลี่ยนรูปสารมลพิษตั้งต้น (parent compound) นั้นไปเป็นสารผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นพิษน้อยลง หรือไม่มีเลย ซึ่งการเปลี่ยนรูปสารตั้งต้นไปนี้ จุลินทรีย์อาจไม่ได้นำไปใช้ในการเจริญเลย

Mineralization หมายถึง กระบวนการทางชีวภาพที่จุลินทรีย์ย่อยสลายสารมลพิษตั้งต้นให้มีโครงสร้างซับซ้อนน้อยลงอยู่ในรูปที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งอาหาร หรือแหล่งพลังงานในการเจริญได้ โดยประกอบขึ้นด้วยวิธีเมแทบอลิซึมหลายวิถี และเอนไซม์หลายชนิด ท้ายสุดแล้วสารผลิตภัณฑ์ที่เหลือที่ถูกปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม คือ คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ

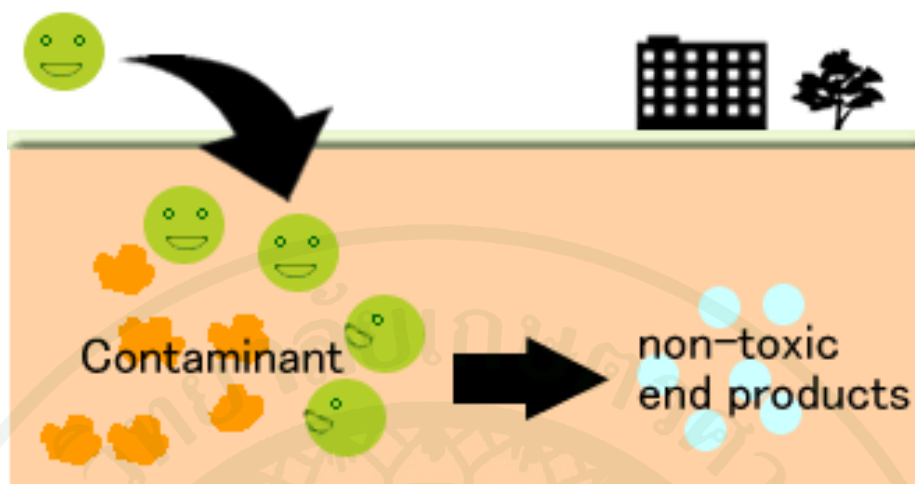
Co-metabolism (เมแทบอลิซึมร่วม) หมายถึงวิธีการย่อยสลายสารมลพิษที่ถูกสร้างขึ้นเมื่อจุลินทรีย์ได้รับการกระตุ้นด้วยวิธีเมแทบอลิซึมหลักอีกวิธีหนึ่ง ในการสร้างอาหาร พลังงานเพื่อการเจริญของจุลินทรีย์ในทางกลับกัน จุลินทรีย์ไม่สามารถนำสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยสลายในวิธีเมแทบอลิซึมร่วมไปใช้ในการเจริญได้ แต่เป็นการเพิ่มแหล่งคาร์บอนชนิดที่ 2 ให้แก่จุลินทรีย์ซึ่งมีผลกระตุ้นวิธีการย่อยสลายสารมลพิษ

Gratuitous metabolism หมายถึงวิธีการย่อยสลายสารมลพิษที่เกิดขึ้นจากระบบเอนไซม์ที่ไม่มีความเกี่ยวข้องกับสารมลพิษนั้นๆ กระบวนการย่อยสลายนี้อาจเกิดขึ้นจากความไม่จำเพาะของระบบเอนไซม์

วิธีการย่อยสลายทางชีวภาพที่สำคัญได้แก่

2.1.3.1 Bioaugmentation เป็นวิธีที่ช่วยส่งเสริม หรือเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นการเติมจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนโครงสร้าง (biotransformation) หรือย่อยสลายสารพิษ (biodegradation) ลงในบริเวณที่มีการปนเปื้อนสารนั้นๆ ซึ่งบริเวณดังกล่าวอาจไม่พบจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ หรือจุลินทรีย์ที่ได้รับการปรับปรุงสายพันธุ์โดยใช้เทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรม (genetically engineered microorganism, GEM) ในการย่อยสลายสารในบริเวณพื้นที่บำบัดจำเป็นต้องอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่างถิ่น (exogenous microorganisms) เพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการย่อยสลาย โดยวิธีการนี้มีปัจจัยหรือข้อจำกัดที่ควรคำนึงถึงสำหรับการนำจุลินทรีย์ดังกล่าวไปใช้ในพื้นที่สิ่งแวดล้อมจริง ได้แก่ จุลินทรีย์ที่นำไปใช้นั้น อาจไม่ใช่จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในบริเวณที่ปนเปื้อนสารพิษ ทำให้เกิดภาวะการแข่งขันระหว่างจุลินทรีย์ต่างถิ่นกับจุลินทรีย์ที่อยู่ประจำถิ่น (Intrinsic Bioremediation) ดังนั้นจุลินทรีย์ต่างถิ่นต้องสามารถเพิ่มจำนวน และอยู่รอดได้ในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ (Vidali, 2001) ดังภาพที่ 8 การใช้กระบวนการ Bioaugmentation แบ่งออกเป็นวิธีการย่อยๆ ได้เป็น 2 วิธีที่ใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารมลพิษเป็นหลักได้แก่

- การเติมจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารมลพิษในรูปแบบเซลล์มีชีวิต (Cell bioaugmentation)
- การเติมยีน (Gene bioaugmentation) ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายสารมลพิษเพื่อให้มีการถ่ายโอนยีนนั้นๆ (Gene transfer) ต่อกันต่อไป



ภาพที่ 8 การฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนด้วยวิธี Bioaugmentation

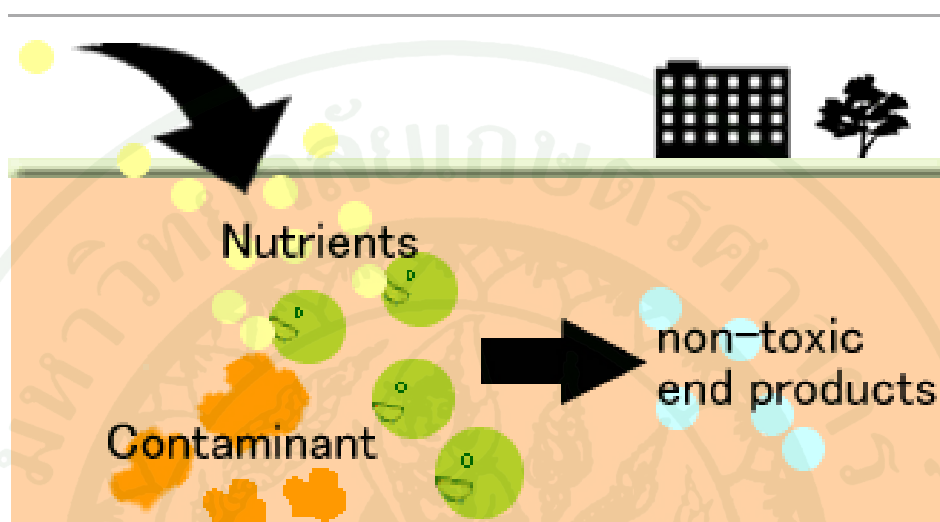
ที่มา: การฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนด้วยวิธี Biostimulation และ Bioaugmentation (2557)

2.1.3.2 Intrinsic Bioremediation หรือ Natural Attenuation เป็นการย่อยสลายที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เช่น การย่อยสลายของคราบน้ำมันบนดินโดยเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้จุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้ว ตามธรรมชาติ เช่น ยีสต์ (yeast) เชื้อรา (fungi) แอคทีโนมัยซีท (actinomycetes) และแบคทีเรีย (bacteria) ช่วยในการสลายสารไฮโดรคาร์บอน และนำเอาไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของตัวเอง ซึ่งกระบวนการนี้เป็นไปอย่างช้าๆ และใช้เวลานานกว่าจะกำจัดคราบน้ำมันได้หมด แต่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยหรือแทบไม่เกิดเลย (Vidali, 2001)

กระบวนการ Natural Attenuation จัดเป็นกระบวนการบำบัดในพื้นที่ (in situ) โดยอาศัยความสามารถของธรรมชาติในการบำบัดสิ่งแวดล้อมในธรรมชาติ ประกอบด้วย กระบวนการทางกายภาพ เคมีและชีวภาพ ได้แก่ การเจือจาง (Dilution) การกระจายตัว (Dispersion) การจับ (Sorption) การระเหย (Volatilization) การสร้างเสถียรภาพของสารมลพิษด้วยวิธีทางเคมีและชีวภาพ (Chemical and biological stabilization) การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพ (Biotransformation) และการย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradation) ซึ่งกระบวนการต่างๆ สามารถเกิดขึ้นได้อย่างใดอย่างหนึ่งหรือเกิดขึ้นพร้อมกัน

2.1.3.3 Biostimulation เป็นวิธีการกระตุ้นให้จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินนั้นมีการเจริญ และมีความสามารถในการย่อยสลายสารพิษได้ดีขึ้น ได้แก่ การเติมสารอาหาร เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส การให้ออกซิเจนลงในบริเวณที่มีการปนเปื้อน โดยมีการเติมทั้งในรูปของของเหลวหรือ ก๊าซลงไปใต้น้ำหรือดินเพื่อเป็นการกระตุ้นให้แบคทีเรียที่อยู่ในดินหรือน้ำมีการเจริญเติบโตที่ดี โดยแบคทีเรียเหล่านี้มีบทบาทในการทำหน้าที่ย่อยสลายของเสียต่างๆ วิธีการนี้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพได้โดยวิธี Bioaugmentation รวมถึงการเติมสารลดแรงตึงผิวช่วยเพิ่มการละลายสารไฮโดรเจนคาร์บอนทำให้แบคทีเรียสามารถย่อยสลายได้ง่ายขึ้น (Haigh, 1996) ในบางกรณีการเติมเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรหรือมูลสัตว์ เป็นการเพิ่มปริมาณสารอาหาร และปริมาณออกซิเจน ทำให้เกิดการถ่ายเทอากาศ ปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตบริเวณนั้น อีกทั้งยังช่วยลดความสามารถของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในการเข้าจับกับอนุภาคดิน ทำให้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเคลื่อนที่แทรกเข้าสู่อนุภาคดินได้ช้าลง จุลินทรีย์จึงนำไปใช้ประโยชน์ได้รวดเร็ว และการปนเปื้อนของสารเคมีในดินเป็นระยะเวลานานทำให้จุลินทรีย์ประจำถิ่นมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารปนเปื้อนนั้นๆ ได้หากมีระบบการจัดการที่ดี (Vidali, 2001)

ข้อดีของ วิธี Biostimulation คือ เป็นวิธีปรับสภาพของสิ่งแวดล้อม โดยสามารถทำได้ทันที และทำได้โดยจุลินทรีย์ที่พบทั่วไป ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกเหมาะสมต่อสภาพแวดล้อม ส่วนข้อเสีย คือ เป็นการปลดปล่อยของสาร หรือแร่ธาตุอาหารที่เดิมเข้าไป ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อดินและน้ำได้ วิธีการ Biostimulation นี้ยังมีการนำไปประยุกต์ใช้กับพลังงานโปรตอนในเนื้อเยื่อที่ได้รับบาดเจ็บ และในกรณีที่มีการกระตุ้นอย่างต่อเนื่อง หรือมีการกระตุ้นมากเกินไป อาจส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมเหล่านั้นได้ (Vidali, 2001) ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 การฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนด้วยวิธี Biostimulation

ที่มา: การฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนด้วยวิธี Biostimulation และ Bioaugmentation (2557)

2.1.3.4 Landfarming เป็นเทคโนโลยีการฟื้นฟูทางชีวภาพที่ใช้กระบวนการย่อยสลายทางธรรมชาติของจุลินทรีย์เพื่อลดความเป็นพิษของสารปนเปื้อน เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมและสามารถฟื้นฟูดิน ปนเปื้อนไฮโดรคาร์บอนได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยจัดเป็นการบำบัดด้วยผิวดิน (land treatment) ดินที่ปนเปื้อนที่ถูกขุดขึ้นมาถูกนำมาแผ่ลงบนพื้นที่ที่เตรียมไว้ (Ex-situ) แล้วกระตุ้นกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินโดยการให้อากาศ บางครั้งมีการเติมแร่ธาตุ ธาตุอาหาร และความชื้นร่วมด้วยส่งผลให้เกิดการย่อยสลายสารปนเปื้อนที่ปนเปื้อนในดิน ถ้าการปนเปื้อนในดินไม่ลึกมากมีความเป็นไปได้ที่ทำการฟื้นฟูโดยไม่ต้องขุดดินออกมา (In-situ) เทคโนโลยี Landfarming มีความเหมาะสมที่ใช้ในสถานะที่มีพื้นที่กว้างเพียงพอ น้ำใต้ดินอยู่ลึกหรือสามารถสร้างโครงสร้างป้องกันน้ำใต้ดินได้ง่าย ความเข้มข้นสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนเริ่มต้นต่ำกว่าร้อยละ 5 และไม่มีความจำเป็นเร่งด่วนในการฟื้นฟู เนื่องจากกระบวนการฟื้นฟูนี้ใช้เวลานานหลายสัปดาห์ หรือหลายเดือน

3. หลักการเบื้องต้นของการบำบัดสารมลพิษทางชีวภาพ (Basic concepts)

การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ในการฟื้นฟูเป็นกระบวนการที่ใช้มานานแล้ว โดยอาศัยธาตุอาหาร และจุลินทรีย์จากตะกอนเร่ง (activated sludge) เพราะในระบบบำบัดน้ำเสียจุลินทรีย์อยู่ในช่วงสถานะที่ได้รับการควบคุมให้มีความเหมาะสมต่อการเจริญเพื่อเพิ่มจำนวน และมีความสามารถในการย่อยสลายสารมลพิษได้ดี มีความทนต่อสถานะความเป็นพิษ เมื่อถูกเติมลงในสภาพแวดล้อมดินที่มีสารมลพิษ จะไม่เสียเวลาในการปรับตัว และสามารถย่อยสลายสารมลพิษที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ แต่การฟื้นฟูมลพิษในดินจะประสบความสำเร็จได้มากหรือน้อยนั้น ต้องอาศัยหลักการ และความรู้ในศาสตร์หลายด้าน เช่น จุลชีววิทยา ชีวเคมี นิเวศวิทยา ธรณีวิทยา เป็นต้น เพื่อปรับปรุงเปลี่ยนแปลง และควบคุมให้จุลินทรีย์คงความสามารถ และหรือเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารมลพิษเป้าหมายได้ภายใต้สภาวะของสิ่งแวดล้อมที่สารมลพิษปนเปื้อนอยู่ โดยองค์ประกอบพื้นฐานของการบำบัดสารมลพิษทางชีวภาพสามารถแสดงดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 องค์ประกอบพื้นฐานสำคัญของการบำบัดสารมลพิษทางชีวภาพ

ที่มา: อลิสา (2550)

3.1 จุลินทรีย์และวิธิเมแทบอลิซึม

จุลินทรีย์เป็นองค์ประกอบสำคัญที่สุดของกระบวนการบำบัดสารมลพิษด้วยวิธีทางชีวภาพ กระบวนการนี้อาศัยเอนไซม์ในจุลินทรีย์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพ (Biocatalyst) ในวิธีการย่อยสลายสารมลพิษเป้าหมาย ประเภทของปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูปและ/หรือการย่อยสลายสารมลพิษ รวมทั้งประสิทธิภาพของการบำบัดสารมลพิษที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมด้วยกระบวนการชีวภาพนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่แตกต่างชนิดกันมีการสร้างเอนไซม์ที่มีลักษณะสมบัติที่ต่างกัน ชนิดเอนไซม์มีผลต่อประเภทของปฏิกิริยาการย่อยสลายสารมลพิษเป้าหมาย และมีผลต่อวิธิเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์นั้นต่อสารมลพิษซึ่งในที่นี้หมายถึงวิธีการย่อยสลายสารมลพิษนั่นเอง การแบ่งประเภทของจุลินทรีย์ตามลักษณะของวิธิเมแทบอลิซึม สามารถแบ่งออกได้ 4 กลุ่มหลักตามประเภทของแหล่งพลังงาน และแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของจุลินทรีย์แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การแบ่งประเภทของจุลินทรีย์ตามลักษณะของวิธิเมแทบอลิซึม

กลุ่มของจุลินทรีย์	แหล่งคาร์บอน	แหล่งพลังงาน
Photoautotroph	คาร์บอนไดออกไซด์	แสง
Photoheterotroph	สารอินทรีย์	แสง
Chemoautotroph	คาร์บอนไดออกไซด์	สารอนินทรีย์ เช่น แอมโมเนียม
Chemoheterotroph	สารอินทรีย์	สารอินทรีย์

ที่มา: อลิสา (2550)

การที่จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอน แหล่งพลังงาน และตัวรับตัวให้อิเล็กตรอนของปฏิกิริยาที่ต่างกันเป็นสาเหตุให้จุลินทรีย์มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา และมีวิธีการย่อยสลายสารมลพิษในสิ่งแวดล้อมต่างๆ ได้แตกต่างกันด้วย สำหรับสารมลพิษที่ถูกออกซิไดซ์นั้นหากถูกย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ จะทำให้ได้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย และในระหว่างปฏิกิริยาการย่อยสลายมีการกำจัดไฮโดรเจนไอออน และอิเล็กตรอนออกจากโครงสร้าง อิเล็กตรอนถูกขับออกมาผ่านไปยังวิธีขนส่งอิเล็กตรอนเพื่อสร้างพลังงานให้เซลล์ สำหรับ

จุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ จะใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนสุดท้ายในวิถีขนส่งอิเล็กตรอน ในขณะที่จุลินทรีย์ที่เจริญโดยไม่ใช้ออกซิเจนจะใช้สารอินทรีย์ หรือสารอนินทรีย์ตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย

3.2 ชนิดของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารมลพิษ

จุลินทรีย์ในธรรมชาติโดยทั่วไปอาจมาสามารถทนทานต่อความเป็นพิษ และไม่สามารถย่อยสลายสารมลพิษเพื่อใช้เป็นสารอาหารได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าจุลินทรีย์ในธรรมชาติบางชนิดมีความสามารถในการปรับตัวของเซลล์ให้ทนทานต่อความเป็นพิษ และอาจมีความสามารถเหนียวแน่นเพื่อสร้างเอนไซม์ และวิถีเมแทบอลิซึมที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายสารเหล่านี้เพื่อนำมาใช้เป็นสารอาหารในการเจริญ และสร้างเซลล์ใหม่ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถ มีลักษณะสมบัติที่ดีดังกล่าวสามารถพบ และแยกได้จากสิ่งแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนสารมลพิษ โดยจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายสารมลพิษด้วยตัวเอง แต่ในบางกรณีอาจต้องอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์เป็นกลุ่ม (microbial consortium) ประโยชน์ของการอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม การทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ได้แก่การย่อยสลายแบบเป็นขั้นเป็นขั้น (stepwise degradation) หรือการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายแบบเป็นลำดับ (sequential degradation) การสร้างสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งซึ่งเป็นสารจำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง (synthesis of a necessary component) หรือการกำจัดสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งซึ่งสารดังกล่าวเป็นสารพิษของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมเดียวกัน (Removal of toxic metabolites) และสุดท้ายเป็นการทำงานร่วมกันของกลุ่มจุลินทรีย์เพื่อให้มีอัตราการย่อยสลายสารมลพิษสูงสุด (Enhancement of overall rate of degradation by microbial web)

การย่อยสลายน้ำมันหรือสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ นั้นพบในจุลินทรีย์ทุกกลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และสาหร่ายเซลล์เดียว จุลินทรีย์บางชนิดอาจมีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้เพียงหนึ่งหรือสองชนิด ในขณะที่จุลินทรีย์บางชนิดอาจมีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้หลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ การปรับตัวและการพัฒนาระบบเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยสลาย (สมศักดิ์, 2528) จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบน้ำมันและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่ถูกรายงานว่าสามารถใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้

แบคทีเรีย		รา
Gram-negative bacteria	Gram-positive bacteria	
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Nocardia</i> spp.	<i>Fusarium</i> sp.
<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Mycobacterium</i> spp.	<i>Trametes</i> <i>hisute</i>
<i>Alcaligenes</i> sp.	<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Phanerochaete</i> <i>chrysorhiza</i>
<i>Flavobacterium</i> / <i>Cytophaga</i> group	<i>Arthrobacter</i> spp.	<i>Phanerochaete</i> <i>sanguine</i>
<i>Xanthomonas</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Phanerochaete</i> <i>filamentosa</i>

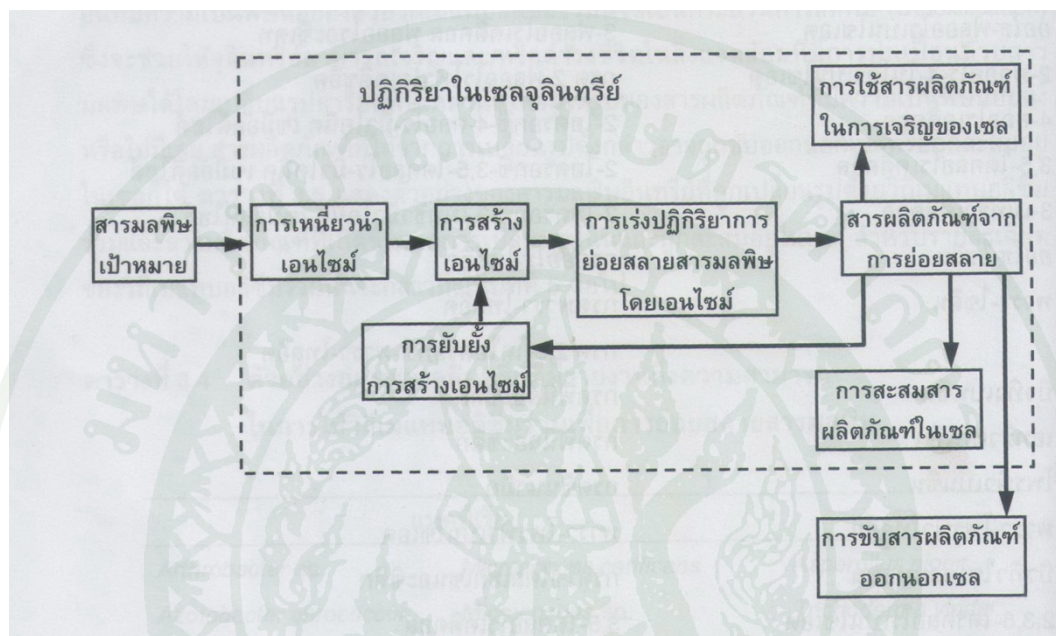
ที่มา: ดัดแปลงจาก Baker and Herson (1994)

นอกเหนือจากการที่จุลินทรีย์มีวิถีเมแทบอลิซึมในการย่อยสลายสารมลพิษเพื่อให้ได้เป็นสารอาหารแล้ว ในบางกรณีจุลินทรีย์ไม่สามารถย่อยสลายให้สารเหล่านี้หมดไป แต่มีความสามารถในการเปลี่ยนรูปสารมลพิษไปเป็นสารผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่มีความเป็นพิษน้อยลง และวิถีเมแทบอลิซึมของการเปลี่ยนรูปสารดังกล่าวอาจไม่ได้ให้สารผลิตภัณฑ์เป็นสารอาหาร หรือไม่ได้ให้พลังงานแก่เซลล์ วิถีเมแทบอลิซึมดังกล่าวเรียกว่า วิถีเมแทบอลิซึมร่วม (Cometabolism) ซึ่งเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูปของสารมลพิษในวิธีนี้ถูกสร้างขึ้นจากการเหนี่ยวนำด้วยวิถีเมแทบอลิซึมหลักอีกวิธีหนึ่งซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งของการใช้สารอาหารเพื่อการเจริญ สำหรับการเปลี่ยนสารมลพิษไปเป็นสารอื่นที่มีความเป็นพิษน้อยลงจัดเป็นกระบวนการลดพิษ (Detoxification) ซึ่งจะช่วยให้จุลินทรีย์สามารถเจริญและดำรงชีวิตในสิ่งแวดล้อม

3.3 ตัวรับอิเล็กทรอนิกส์และแหล่งพลังงาน

ประเภทของปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูป และ/หรือ การย่อยสลายสารมลพิษในวิถีเมแทบอลิซึมในจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันซึ่งขึ้นอยู่กับชนิด และลักษณะสมบัติของเอนไซม์ที่จุลินทรีย์นั้นๆ สร้างขึ้น เอนไซม์ดังกล่าวนี้อาจถูกสร้างขึ้นจากการเหนี่ยวนำอย่างจำเพาะต่อสารมลพิษนั้นๆ หรือถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมร่วม ผลที่ได้จากการย่อยสลายสาร

มลพิษเป้าหมายนั้นอาจได้เป็นสารผลิตภัณฑ์หรือพลังงานที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ให้เป็นประโยชน์ต่อการเจริญ ในบางกรณีสารผลิตภัณฑ์นั้นถูกสะสมอยู่ในเซลล์โดยไม่ได้ใช้ประโยชน์ หรือถูกขับออกมานอกเซลล์ดังภาพที่ 11

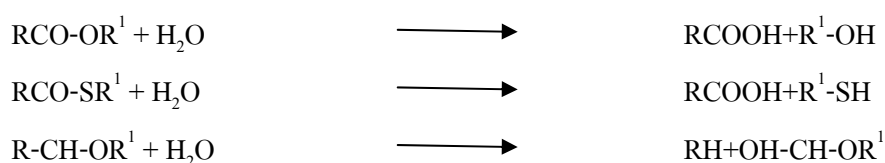


ภาพที่ 11 วิธีการย่อยสลายสารมลพิษโดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จุลินทรีย์

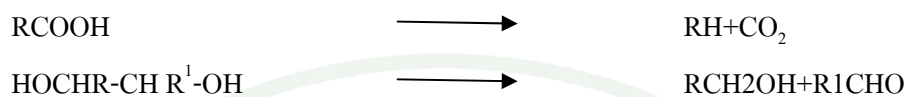
ที่มา: อลิสา (2550)

ประเภทของปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูป หรือการย่อยสลายสารมลพิษในจุลินทรีย์ที่เร่งโดยเอนไซม์สามารถแบ่งออกได้เป็น 6 ประเภทหลัก ได้แก่ ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ปฏิกิริยาการแตกตัว (Cleavage) ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation Reduction) ปฏิกิริยาคีไฮโดรจีเนส (Dehydrogenation) ปฏิกิริยาคีไฮโดรฮาโลจีเนชัน (Dehydrohalogenation) และปฏิกิริยาแทนที่ (Substitution) ดังแสดงสมการต่อไปนี้

3.3.1 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis)



3.3.2 ปฏิกิริยาการแตกตัว (Cleavage)



3.3.3 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation Reduction)



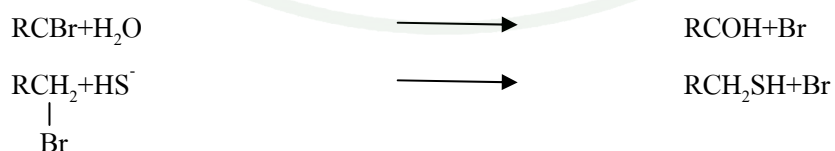
3.3.4 ปฏิกิริยาดีไฮโดรจีเนต (Dehydrogenation)



3.3.5 ปฏิกิริยาดีไฮโดรฮาโลจีเนชัน (Dehydrohalogenation)

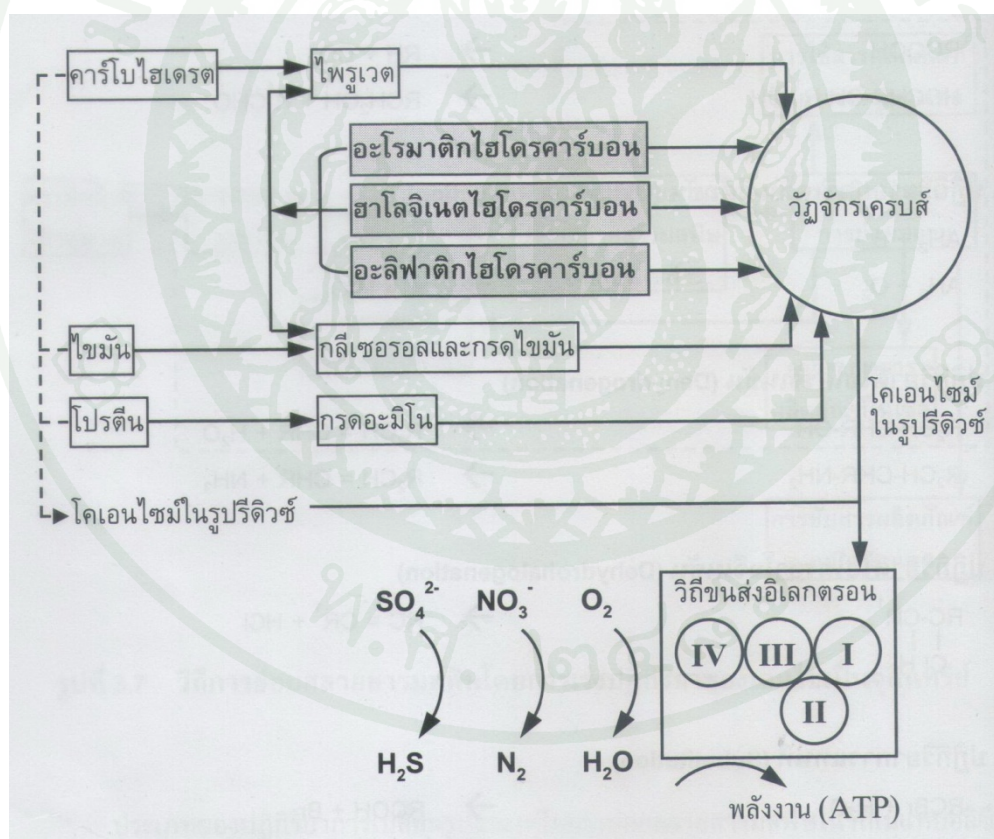


3.3.6 ปฏิกิริยาแทนที่ (Substitution)



3.4 ตัวรับอิเล็กตรอน และแหล่งพลังงาน

องค์ประกอบพื้นฐานสำคัญของการบำบัดสารมลพิษทางชีวภาพได้แก่ ชนิด และ ลักษณะสมบัติของจุลินทรีย์ รวมทั้งปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลต่อการเจริญ และวิถีเมแทบอลิซึม ปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญได้แก่ ประเภทของตัวรับอิเล็กตรอนครั้งสุดท้าย (Terminal electron acceptor) และวิถีขนส่งอิเล็กตรอน (Electron transport pathway) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างพลังงานให้แก่จุลินทรีย์ดังภาพที่ 12 แสดงความสัมพันธ์ในภาพรวมของวิถีเมแทบอลิซึมต่างๆ ของเซลล์ วิธีการย่อยสลายสารมลพิษจำพวกไฮโดรคาร์บอน วิธีการขนส่งอิเล็กตรอน ตัวรับอิเล็กตรอนสุดท้าย และการสร้างพลังงานให้แก่เซลล์



ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ของวิถีเมแทบอลิซึมของเซลล์ วิธีการย่อยสลายของสารมลพิษจำพวกไฮโดรคาร์บอน วิธีการขนส่งอิเล็กตรอน และตัวรับอิเล็กตรอน

ที่มา: อลิสา (2550)

การย่อยสลายสารมลพิษในสิ่งแวดล้อมที่มีออกซิเจน จุลินทรีย์ใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนสุดท้ายหากในดินมีสภาวะออกซิเจนต่ำ (Anoxic environment) จุลินทรีย์จะเปลี่ยนไปใช้ในเตรด และหากในสิ่งแวดล้อมไม่มีออกซิเจน (Anaerobic environment) ซัลเฟตจะถูกใช้เป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายแทน ในกรณีที่ตัวรับอิเล็กตรอนมากกว่าหนึ่งชนิดที่จุลินทรีย์สามารถใช้ได้ จุลินทรีย์มักเลือกใช้ตัวรับอิเล็กตรอนชนิดที่ให้พลังงานแก่เซลล์มากกว่า

3.5 การย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนโดยจุลินทรีย์

3.5.1 การย่อยสลายสารอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน (alipatic hydrocarbon) สุ่วิธีการสร้างพลังงาน

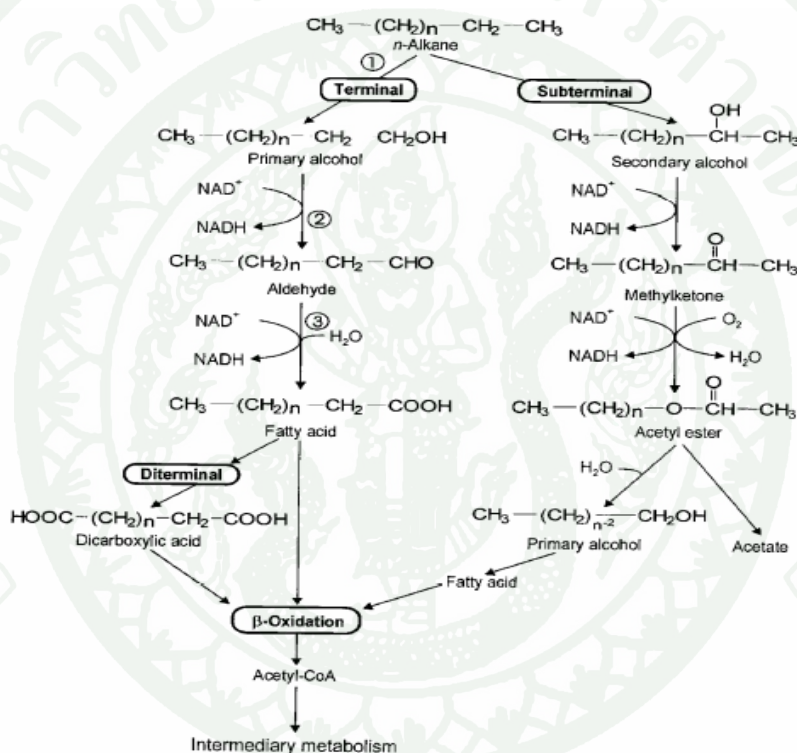
ปฏิกิริยาออกซิเดชันของการย่อยสลายสารอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนโดยจุลินทรีย์ได้สารผลิตภัณฑ์ตามลำดับดังนี้



จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถย่อยสลายสารประกอบอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนในการเจริญได้ ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้ใช้ไฮโดรคาร์บอนที่มีสายสั้นหรือยาวก็ได้ เช่น *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Pseudomonas* และ *Flavobacterium* สามารถใช้ ethane (C_2H_6) จนถึง paraffin เป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงาน แบคทีเรียที่มีรูปร่างทรงกลมหลายชนิดรวมทั้งราจำพวกราสายก็สามารถใช้ ethane ได้ อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรียกลุ่ม mycobacteria มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย ethane ได้ดีที่สุด สำหรับสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่านี้ พบว่าจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายได้ดีคือพวก acid-fast, mycobacteria, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Desulfovibrio*, *Corynebacterium* และพวกแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นทรงกลมและเชื้อราบางชนิด (สมศักดิ์, 2528)

การย่อยสลายอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนโดยจุลินทรีย์นั้น อะลิฟาติกบางชนิดที่ปลายไม่มีหมู่เมทิลเกาะอยู่เช่น Propane Cyclohexene Polyethylene เป็นต้น ถูกย่อยโดยกลไกการเกิดปฏิกิริยา oxidation และ dehydrogenation มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นกรดไขมัน ซึ่งถูกย่อยสลายต่อโดยกลไกการเกิด β -oxidation (Atlas, 1991) ในกรณีของการย่อยสลาย cyclohexane เกิดขึ้นโดย

ปฏิกิริยา hydroxylation โดยมีเอนไซม์ oxidase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา alicyclic alcohol เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อไปโดยปฏิกิริยา dehydrogenation และ oxidation ได้เป็นสารประกอบ dicarboxylic acid ซึ่งเข้าสู่กลไกการเกิด β -oxidation ซึ่งปฏิกิริยานี้จะตัดคาร์บอนอะตอมโดยเอนไซม์ dehydrogenase จะเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นอัลดีไฮด์และกรดไขมัน ตามลำดับ ซึ่งตัวกลาง (intermediate) ก่อนเข้าสู่กระบวนการ tricarboxylic acid cycle คือ acetyl-CoA และจะถูกใช้เป็น building block สำหรับสังเคราะห์องค์ประกอบเซลล์ ดังภาพที่ 13



ภาพที่ 13 วิธีการย่อยสลายสารประกอบอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน (1) n -alkane
monooxygenase, (2) alcohol dehydrogenase และ (3) aldehyde dehydrogenase

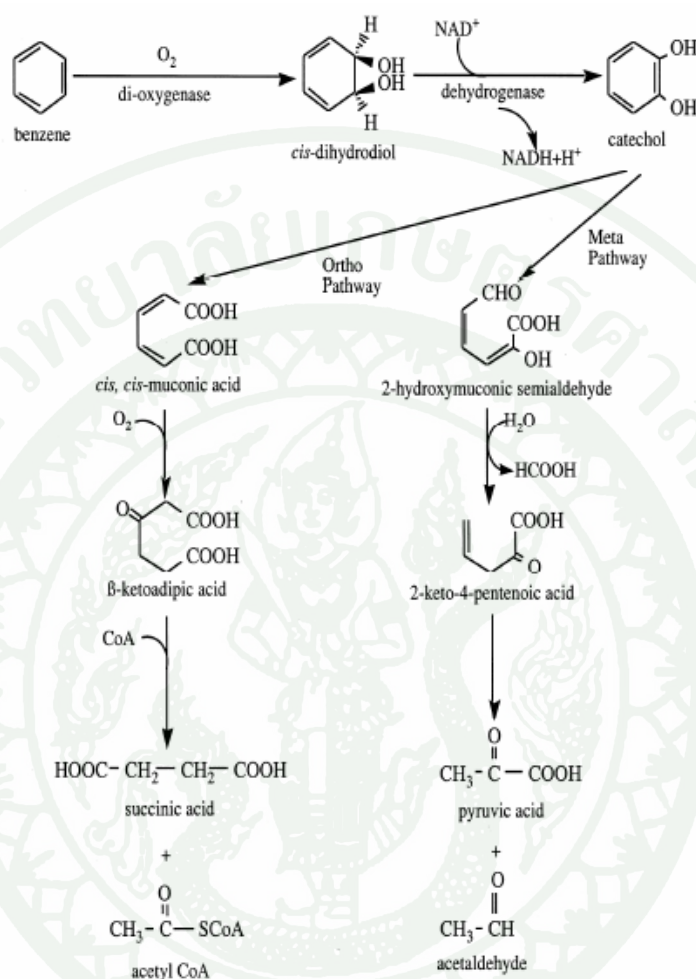
ที่มา: Fritsche and Hofrichter (2000)

3.5.2 การย่อยสลายสารอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (aromatic hydrocarbon) เข้าสู่วิถีการสร้างพลังงาน

การย่อยสลายสารประกอบในกลุ่มอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนพบว่าจุลินทรีย์หลายชนิดย่อยสลายสารเหล่านี้ได้ อย่างไรก็ตามพบว่าสารประกอบในกลุ่มนี้ที่มีโครงสร้างง่าย ๆ

หรือมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำถูกย่อยสลายได้ง่ายกว่าสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงหรือมีโครงสร้างซับซ้อน สารประกอบอะโรมาติกที่มีวงแหวนเบนซีนหนึ่ง สอง หรือสามวงอยู่ในโมเลกุล เช่น phenol naphthalene และ anthracene จะถูกย่อยสลายได้ง่าย แบคทีเรียกลุ่มที่มีรายงานว่าสามารถย่อยสลายสารเหล่านี้ได้ดี เช่น *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Achromobacter*, *Bacillus* และ *Nocardia* spp. สำหรับสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบด้วยวงแหวนเบนซีนตั้งแต่ 4 วงขึ้นไปจัดเป็นสารที่ย่อยสลายได้ยากเมื่อเปรียบเทียบกับอินทรีย์สารชนิดอื่น ๆ ที่มีอยู่ในดิน (Cerniglia, 1992)

ขั้นตอนของกระบวนการย่อยสลายสารประกอบอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนโดยจุลินทรีย์เริ่มจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเจนชัน (Oxygenation) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการเติมโมเลกุลของออกซิเจน (Molecular oxygen) ในโครงสร้างแบบวงของสารอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนส่วนที่เป็น side chain แล้วจึงย่อยส่วนของวงแหวนเบนซีน (สมศักดิ์, 2528) โดยอาศัยปฏิกิริยา hydroxylation และ dehydrogenation ในการเติมออกซิเจนเข้าไปในวงเบนซีนด้วยเอนไซม์ oxygenase ให้อยู่ในรูปของ diol จากนั้นเอนไซม์ dehydrogenase จะเปลี่ยน diol ให้อยู่ในรูปของสารที่ไม่เสถียรหรือที่เรียกว่า catechol ซึ่งการย่อยสลายโดยการแตกวงเบนซีนจะเกิดขึ้นได้ 2 แบบ คือ ortho หรือ meta cleavage ดังภาพที่ 14 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่นำสารตัวกลางไปใช้สังเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ซึ่งตัวกลางที่ได้จากการแตกวงเบนซีนแบบ ortho cleavage คือ succinate และ acetyl-CoA ส่วนการแตกวงเบนซีนแบบ meta cleavage คือ acetaldehyde และ pyruvate นอกจากนี้การย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนซึ่งมีโครงสร้างของโมเลกุลใหญ่และซับซ้อน จำเป็นต้องอาศัยจุลินทรีย์หลายๆ สายพันธุ์เพื่อสร้างเอนไซม์ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายให้เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จนได้ผลผลิตสุดท้ายคือ คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ (Atlas, 1991)



ภาพที่ 14 วิธีการย่อยสลายเบนซีน

ที่มา: Gavis *et al.* (2006)

3.6 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์

ประสิทธิภาพของการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในสิ่งแวดล้อมขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ความชื้น pH ปริมาณออกซิเจน รวมทั้งปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในบริเวณนั้นด้วย ในที่นี้จะกล่าวถึงปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนอยู่ในดินได้แก่

3.6.1 สมบัติทางประการและความเข้มข้นของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน

3.6.1.1 โครงสร้างของสารไฮโดรคาร์บอน ส่วนใหญ่สารปิโตรเลียม

ไฮโดรคาร์บอนเป็นสารไม่มีขั้ว จึงไม่ละลายน้ำหรือละลายได้น้อยมาก โดยสารที่ไม่ละลายน้ำ จุลินทรีย์จะย่อยสลายได้ยาก เนื่องจากสารไฮโดรคาร์บอนยึดเกาะกับอนุภาคดินแน่นเกิด bioavailability น้อย พื้นที่ผิวในการที่จุลินทรีย์เข้าไปยึดเกาะน้อยดังนั้นการเติมสารบางชนิดลงไป เพื่อช่วยให้ไฮโดรคาร์บอนอิมัลซิไฟด์ (emulsify) หรือทำให้มีพื้นที่ผิวมากขึ้นทำให้ง่ายแก่การย่อยสลาย

3.6.1.2 ความเข้มข้นของไฮโดรคาร์บอน หากมีความเข้มข้นสูงจะส่งผลต่อ

จุลินทรีย์เนื่องจากความเป็นพิษหรือมีการจับตัวกันของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน ส่วนใหญ่จะถูกดูดซับไว้กับอนุภาคของดินสารประกอบอินทรีย์ และซากพืชซากสัตว์ ทำให้มีความคงทนทำให้การย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนเกิดขึ้นได้ยาก และใช้เวลานาน (Ashok and Saxena, 1995)

3.6.2 สารอาหาร

จุลินทรีย์ต้องการสารอาหารเพื่อนำไปใช้สร้างส่วนประกอบของเซลล์หรือสร้างพลังงานที่จำเป็นในการดำรงชีวิต ถือเป็นส่วนสำคัญที่ส่งเสริมให้การย่อยสลายมีประสิทธิภาพสูงสุด โดยพบว่าดินที่มีการปนเปื้อนน้ำมันมีปริมาณแหล่งคาร์บอนในดินเพิ่มขึ้นในขณะที่แหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสมักไม่มีการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นการเติมแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสลงในแหล่งที่มีการปนเปื้อนช่วยให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ในการสร้าง และสลายสารเพื่อความอยู่รอด และการเจริญดำเนินไปอย่างรวดเร็ว (Bragg *et al.*, 1994; Venosa *et al.*, 1996) การเพิ่มประสิทธิภาพการบำบัดน้ำมันสามารถทำได้โดยการเติมสารอาหารเพื่อเพิ่มการเจริญของจุลินทรีย์ ทำได้ด้วยการเติมสารกระตุ้น (Activator หรือ Inducer) ให้จุลินทรีย์สร้างเอนไซม์สำหรับย่อยสลายน้ำมัน ในการบำบัดสารมลพิษต้องมีการตรวจสอบปริมาณ และการควบคุมสารอาหารต่างๆ เพื่อประสิทธิภาพการทำงานในการย่อยสลายสารมลพิษดีขึ้น โดยหลักการคือกระตุ้นให้จุลินทรีย์ย่อยสลายสารมลพิษเพื่อบำบัดให้มีปริมาณลดลงหรือหมดไปจากสิ่งแวดล้อม หากมีการเติมสารอาหารในปริมาณที่มากเกินไปทำให้จุลินทรีย์นำสารอาหารเหล่านั้นมาใช้ และหยุดการย่อยสลายสารมลพิษ ในทางปฏิบัติแล้ว การเติมสารอาหารมากเกินไปทำให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวนมากขึ้นแต่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายสารมลพิษน้อยลง โดยอัตราส่วนสารอาหารที่เหมาะสมต่อกระบวนการทางชีวภาพทางทฤษฎีได้แก่ อัตรา

คาร์บอนต่อไนโตรเจน 10 ต่อ 1 และอัตราส่วนคาร์บอนต่อฟอสฟอรัสเท่ากับ 30 ต่อ 1 ค่าอัตราส่วนเหล่านี้มีค่าแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับประเภทของสารมลพิษ ชนิดของจุลินทรีย์ ตัวอย่างการย่อยสลายน้ำมันอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสที่มีความเหมาะสมเท่ากับ 100 ต่อ 10 ต่อ 1

3.6.3 ความชื้นในดิน

ทำหน้าที่เป็นตัวส่งผ่านสารอาหาร ออกซิเจน และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลาย โดยระดับความชื้นที่เหมาะสมในการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์อยู่ที่ประมาณร้อยละ 30 – 70 ค่าความชื้นมีผลต่อการเจริญ และวิถีเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ ส่งผลต่ออัตราสารเข้าระบบชีวภาพ (bioavailability) และปริมาณน้ำอิสระที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ (water activity) หากในดินมีค่าความชื้นต่ำเกินไปมีผลจำกัดการเคลื่อนที่ของจุลินทรีย์ จำกัดการละลายของสารอาหาร จุลินทรีย์เข้าถึง และดูดซับได้จำกัด หากในดินมีปริมาณความชื้นสูงเกินไปส่งผลให้การถ่ายเทอากาศในดิน และปริมาณออกซิเจนน้อยลง เนื่องจากมีปริมาณน้ำในดินมากช่องว่างในดินลดน้อยลง ส่งผลให้อัตราการย่อยสลายน้ำมันเครื่องลดลง (Wang and Bartha, 1990 ; Baker and Herson, 1994)

3.6.4 ค่าพีเอช (pH)

ผลต่อการเจริญ และการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอน โดยมีผลต่อระบบดูดซับสารอาหาร การเจริญ การผลิตเอนไซม์ และการย่อยสลายสารมลพิษในสิ่งแวดล้อม จุลินทรีย์สามารถเจริญในสภาพที่มีค่าพีเอชสูงหรือต่ำเกินไปได้ แต่กิจกรรมของจุลินทรีย์จะถูกหยุดเนื่องจากกรด และด่างทำลายเอนไซม์ และสารต่างๆ ภายในเซลล์ทำให้จุลินทรีย์ต้องอยู่ในรูป สปอร์ หรือแคปซูล โดยค่า pH ที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญ และการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนของแบคทีเรียจะอยู่ในช่วงที่เป็นกลาง 7-9 เนื่องจากช่วงพีเอชที่เป็นกลางทำให้ธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัสเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่นำไปใช้ได้ ถ้าหากมีพีเอชที่สูง หรือต่ำมากเกินไปจะทำให้ความสามารถในการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ลดต่ำลง (Wang and Bartha, 1990; Dibble and Bartha, 1979)

3.6.5 ปริมาณออกซิเจน

โดยปริมาณออกซิเจนในดินจะขึ้นกับความพรุนของดิน และปริมาณน้ำในดินที่อยู่ตามรูพรุน ถ้าในดินมีปริมาณน้ำในดินสูงทำให้ออกซิเจนในดินน้อยลงกระบวนการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนของแบคทีเรียลดลง โดยทั่วไปพบว่าในดินมีปริมาณออกซิเจนน้อยที่สุดร้อยละ 10 ของสิ่งแวดล้อมนั้นๆ ซึ่งเพียงพอต่อความต้องการของจุลินทรีย์ในการเจริญ และเพื่อให้กระบวนการย่อยสลาย (Baker and Herson, 1994)

3.6.6 อุณหภูมิ

การเจริญของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาทางเคมีของการสร้าง (anabolism) และสลายสาร (catabolism) โดยอัตราของปฏิกิริยาทางเคมีขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิขึ้น 10 องศาเซลเซียส จากอุณหภูมิที่เหมาะสมของจุลินทรีย์แต่ละชนิดทำให้จุลินทรีย์มีเมแทบอลิซึมสูงขึ้นเป็น 2 เท่า (Baker and Hanson, 1994) อย่างไรก็ตามช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญ และการทำงานของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดด้วยดังนั้นอุณหภูมิจึงมีผลต่อการเจริญ และการย่อยสลายของจุลินทรีย์ อัตราการย่อยสลายจะลดลงเมื่ออุณหภูมิต่ำลงซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการลดลงของกิจกรรมของเอนไซม์ อุณหภูมิที่ลดต่ำลงในช่วงฤดูหนาวเป็นปัจจัยสำคัญ ที่มีผลต่อการย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนในดินตะกอนปากแม่น้ำ มีรายงานว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (Ashok and Saxena, 1995)

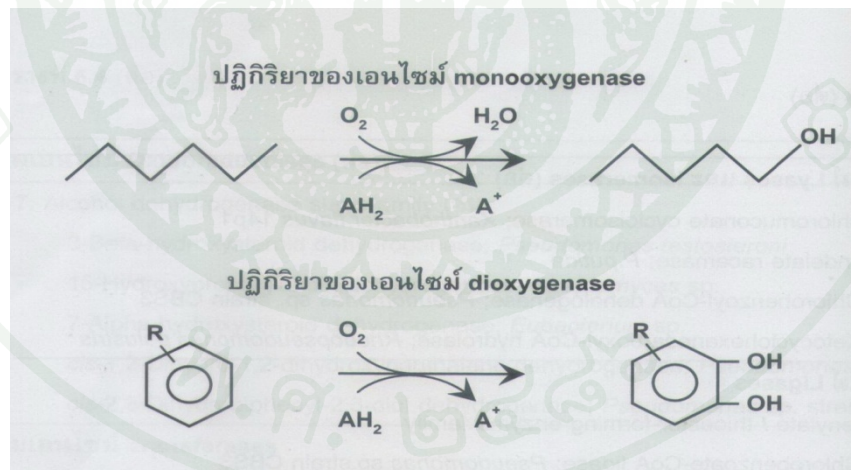
3.7 เอนไซม์

เอนไซม์ (Enzyme) เป็นสารประกอบโปรตีนชนิดก้อนกลม (Globular protein) มีการขดตัวหรือ โครงรูป (Conformation) ที่จำเพาะซึ่งถูกกำหนดโดยลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ โครงรูปของเอนไซม์อาจเปลี่ยนแปลงได้เช่นเดียวกับโปรตีนทั่วไป และขึ้นอยู่กับตัวทำละลาย pH และอุณหภูมิ เอนไซม์จำนวนมากเป็นโปรตีนประกอบด้วยหน่วยย่อย (Subunit) ซึ่งจะจับตัวกันเป็นโครงสร้างจตุรภูมิที่ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เอนไซม์ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาในทางชีวภาพ (Biological catalyst) แต่เอนไซม์มีลักษณะพิเศษที่แตกต่างจากตัวเร่งปฏิกิริยาอื่น ๆ คือ เอนไซม์มีความจำเพาะต่อปฏิกิริยาหรือสารที่เข้าทำปฏิกิริยาชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น

แบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารมลพิษมีความหลากหลายทางชีวภาพ แบคทีเรียเหล่านี้มีความสามารถในการย่อยสลายสารมลพิษด้วยประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน เนื่องจาก

มีระบบเอนไซม์ที่มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาต่างๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียแล้ว ยังขึ้นกับปฏิกิริยาในการย่อยสลายหมู่ต่างๆ ในโครงสร้างทางเคมีของสารมลพิษชนิดต่างๆ จุลินทรีย์ต้องมีการปรับตัว และเหี่ยวงำให้มีระบบเอนไซม์ที่จำเพาะในการย่อยสลายสารมลพิษ ระบบเอนไซม์ใช้ออกซิเจนในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารมลพิษสามารถแบ่งออกได้เป็นกลุ่มหลักได้ 6 กลุ่มคือ กลุ่มเอนไซม์ oxidoreductases, transferases, hydrolases, lyases หรือ isomerases และ ligases

สารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีความมิขั้วต่ำ (non-polar) มีโครงสร้างซับซ้อน และยากต่อการย่อยสลาย ดังนั้นจุลินทรีย์ต้องต้องเปลี่ยนรูปสารพิษให้มีโครงสร้างที่เหมาะสมเพื่อให้สามารถถูกย่อยสลายได้ในขั้นตอนต่อ ๆ ไป เช่น การเติมหมู่ฟังก์ชันเพื่อให้มีขั้วมากขึ้น เป็นต้น ปฏิกิริยาเปลี่ยนรูปสารไฮโดรคาร์บอนเกิดได้ในระบบที่ใช้ออกซิเจน โดยมีเอนไซม์หลักได้แก่ เอนไซม์ออกซิเจเนส (oxygenases) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนเข้าไปในโครงสร้างของสารนั้นๆ โดยเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาเติมออกซิเจนหนึ่งอะตอมมีชื่อเรียกว่า โมโนออกซิเจเนส (Monooxygenases) และเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาเติมออกซิเจนสองอะตอมมีชื่อเรียกว่า ไดออกซิเจเนส (Dioxygenases) แสดงดังภาพที่ 15



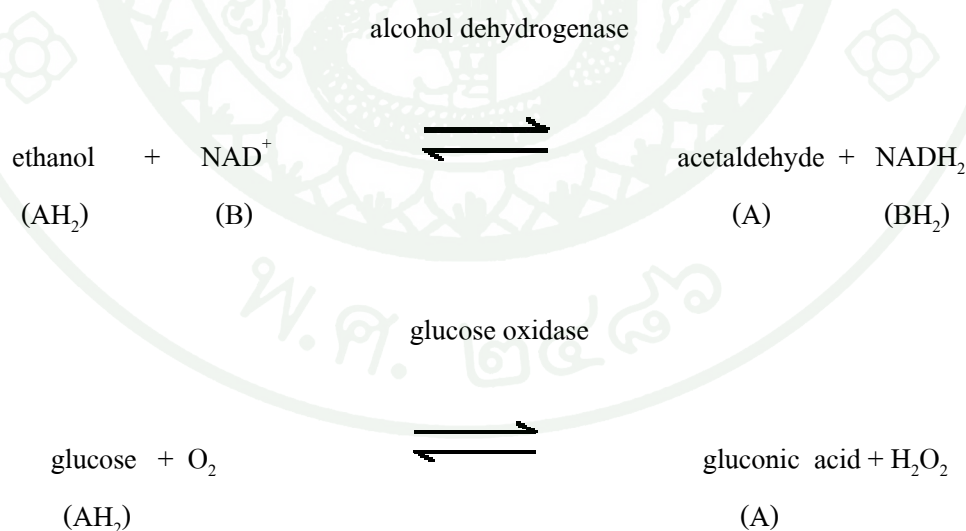
ภาพที่ 15 ปฏิกิริยาของเอนไซม์ออกซิเจเนสต่อไฮโดรคาร์บอนสายตรงและอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน

ที่มา: อลิสา (2550)

เอนไซม์ในดินเป็นกลุ่มเอนไซม์ที่เกิดจากจุลินทรีย์ที่อยู่ในดิน และมีการสร้างอย่างต่อเนื่อง มีบทบาทสำคัญในการรักษาระบบนิเวศของดิน คุณสมบัติทางกายภาพ และทางเคมี บ่งบอก

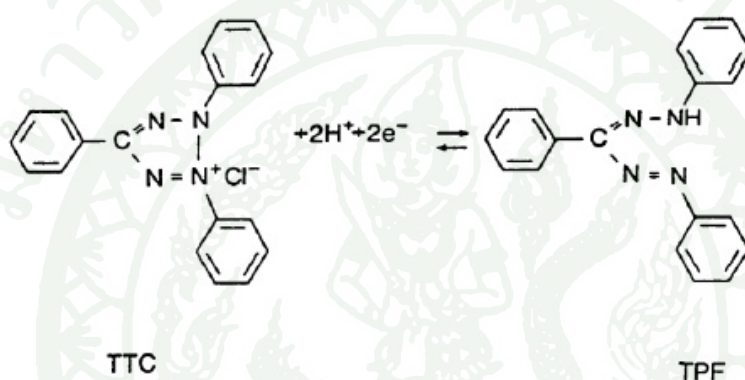
ถึงความอุดมสมบูรณ์ และสุขภาพดิน โดยเอนไซม์เหล่านี้ส่งผลทางชีวเคมีในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ในดิน มีความสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาที่สำคัญสำหรับกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในดิน และรักษาเสถียรภาพของโครงสร้างของดิน การสลายตัวของขยะอินทรีย์ รูปแบบของสารปนเปื้อน และวัฏจักรของสารอาหาร จึงมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารปนเปื้อนในดิน เอนไซม์เป็นตัวกำหนดกระบวนการเมแทบอลิซึมในดิน ซึ่งขึ้นอยู่กับคุณลักษณะทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และชีวเคมีของสารอาหาร และจุลินทรีย์ที่อยู่ในดิน ระดับและชนิดของเอนไซม์ในดินที่แตกต่างกันจะขึ้นอยู่กับดิน ชนิดและองค์ประกอบของสารอินทรีย์ และกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยเอนไซม์ที่มีความสำคัญมากต่อกระบวนการย่อยสลายสารอาหารและเปลี่ยนรูปทางชีวเคมีในดิน เอนไซม์หนึ่งคือ เอนไซม์ dehydrogenases (Sinsabaugh *et al.*, 1991; Dick, 1997)

เอนไซม์ dehydrogenase เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่มออกซิโดรีดักเตส (oxidoreductas) เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชันรีดักชัน (oxidation - reduction) และกระตุ้นการออกซิเดชันของสารอินทรีย์โดยแยกอะตอมไฮโดรเจน 2 อะตอม เช่น เอนไซม์ในปฏิกิริยาการหายใจระดับเซลล์ วัฏจักร citrate และไนโตรเจน ในดินซึ่งมีการดึงอิเล็กตรอนและไฮโดรเจนไอออนจากสารเช่น alcohol dehydrogenase และ กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) ดังสมการต่อไปนี้



เอนไซม์ dehydrogenases ทำหน้าที่ในการถ่ายโอนไฮโดรเจนอย่างเฉพาะเจาะจงมาก โดยจะแยกสารออกให้เป็นที่ nicotinamide adenine dinucleotide หรือ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

การตรวจกิจกรรมของเอนไซม์ (enzyme activity) เป็นตัวให้ข้อมูลความสัมพันธ์กับกิจกรรมทางชีวภาพและประชากรของจุลินทรีย์ในดิน นิยมใช้เป็นตัวบ่งชี้กิจกรรมทางชีวภาพในดิน ใช้ยืนยันความสามารถในการย่อยสลายสารมลพิษอินทรีย์ที่ปนเปื้อนในดินโดยจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่น สามารถตรวจพบปริมาณกิจกรรมเอนไซม์สูงในดินที่ปนเปื้อนด้วยสิ่งปฏิกูล และเชื้อโรคพิษ โดยกิจกรรมของเอนไซม์สามารถตรวจวัดได้โดยใช้การเปลี่ยนแปลงของ 2,3,5-Triphenyl-tetrazolium chloride (TTC) เป็น Triphenyl formazan (TPF) ดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 การเปลี่ยนแปลงจาก TTC เป็น TPF

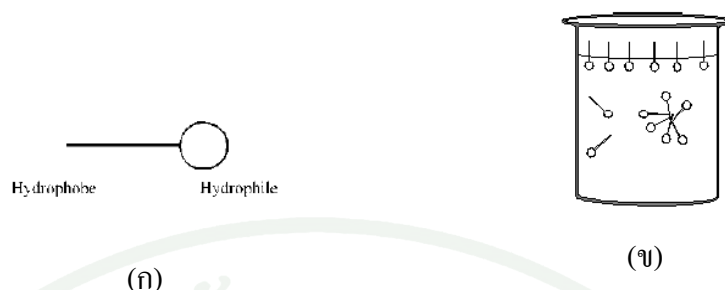
ที่มา: Alef (1995)

4. สารลดแรงตึงผิว (surfactants)

4.1 ความหมายของสารลดแรงตึงผิว

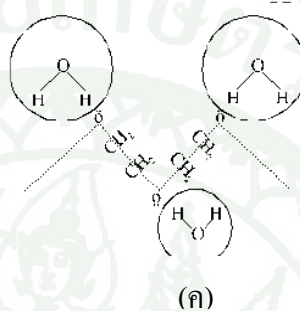
สารลดแรงตึงผิวเป็นสารประกอบที่ทำให้แรงตึงผิวของของเหลวลดลง ช่วยให้การกระจายตัวของของเหลวดีขึ้น และช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างของเหลวสองชนิด หรือระหว่างของเหลวกับของแข็ง สารลดแรงตึงผิวสามารถใช้เป็นน้ำยาซักล้าง อิมัลชัน โฟมมิงเอเจนต์ หรือ ดิสเพอร์แซนต์ สารชนิดนี้มีทั้งส่วนที่มี และไม่มีขั้ว เมื่ออยู่ในน้ำจึงมักจัดตัวเป็นไมเซลล์ สารลดแรงตึงผิวยังมีคุณสมบัติที่ทำให้เฟสสองเฟสที่ต่างกันมารวมตัวกันได้ กล่าวอยู่คนละเฟส คือ การไม่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน น้ำ และน้ำมันไม่ละลายซึ่งกัน และกันเพราะมีคุณสมบัติที่ต่างกัน โดยน้ำเป็นสารประกอบที่มีขั้ว ส่วนน้ำมันเป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้ว เมื่อใส่สารลดแรงตึงผิวเข้าไปเพียงเล็กน้อยก็สามารถทำให้สองเฟสรวมกันเป็นเฟสเดียวกันได้ (Schramm, 2000)

สารลดแรงตึงผิว (surfactants) มาจากภาษาเยอรมันว่า tensid ซึ่งตั้งโดยนักเคมีชาวเยอรมันในปี ค.ศ. 1960 เป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยสองส่วนที่สำคัญ โดยมีส่วนหัวเป็นโมเลกุลมีขั้วที่สามารถละลายน้ำได้ (hydrophilic polar head group) และส่วนหางที่ ไม่มีขั้วเป็นพวกที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobic non-polar tail group) คำว่า “Surfactant” เป็นคำย่อของคำว่า surface active agent และเป็นคำที่ใช้เรียกกันโดยทั่วไปอย่างแพร่หลาย (Boonchan, 1998) โดยภาพที่ 17 จะแสดงลักษณะโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว และ โครงสร้างโมเลกุลเมื่อละลายในน้ำ ส่วนของโมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobe)



(ก)

(ข)



(ค)

ภาพที่ 17 ลักษณะโมเลกุล และการจัดเรียงตัวของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวในน้ำ (ก) ลักษณะโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว (ข) ลักษณะการจัดเรียงตัวของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวในน้ำ ค) ลักษณะสาย (chain) ของสารลดแรงตึงผิว polyethylene glycol

ที่มา: Chemistry and New Zealand (2001)

4.2 ชนิดของสารลดแรงตึงผิว

แบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ ดังนี้

4.2.1 พวกรประจุลบ (anionic)

ส่วนของโมเลกุลที่ละลายน้ำจะมีประจุลบทำหน้าที่เป็นด่างที่สะเทิน (neutralize) ทำให้กลไกในการชะล้างเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ ได้แก่ สบู่ (soap, R-COO^-) แอลคิลซัลเฟต (alkyl sulphates, R-O-SO_3^-) แอลคิลอีเธอร์ซัลเฟต (alkyl ether sulphates, $\text{R-(OC}_2\text{H}_4)_n\text{O-SO}_3^-$) เป็นต้น

4.2.2 พวกที่ไม่มีประจุไฟฟ้า (nonionic)

ส่วนของโมเลกุลที่ละลายน้ำไม่มีประจุ แต่ก็สามารถดึงดูดกับน้ำทำให้ละลายได้ เช่น แอลกอฮอล์ เอธิกซิลเลต (alcohol ethoxylates, $R-(OC_2H_4)_n-OH$) และอื่น ๆ

4.2.3 พวกประจุบวก (cationic)

ส่วนของโมเลกุลที่ละลายน้ำมีประจุบวก ได้แก่ เกลือของแอมมิน เช่น แอลคิล ไตรเมทิลแอมมोनียมเฮไลด์ (alkyl trimethyl ammonium halides, $R-N^+(CH_3)_3$)

4.2.4 พวกที่มีทั้งสองประจุ (amphoteric)

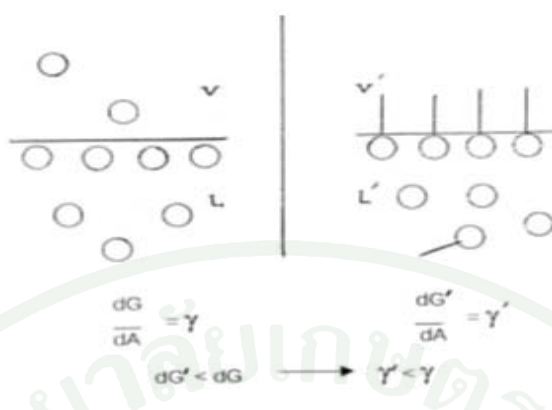
ส่วนของโมเลกุลที่ละลายน้ำอาจเป็นได้ทั้งประจุบวกหรือลบขึ้นอยู่กับความเป็นกรดเป็นด่าง เช่น แอลคิลบีเทน (alkyl betaine, $R-N^+-CH_2-COO^- (CH_3)_2$) (สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2524)

4.3 คุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวและกลไกในการทำชะล้าง

จากโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวที่มีส่วนที่ละลายได้ในน้ำ และส่วนที่ละลายได้ในน้ำมันอยู่ภายในโมเลกุลเดียวกัน เมื่อสารนี้ละลายน้ำ จะมีคุณสมบัติดังนี้

4.3.1 การลดแรงตึงผิว (lowering of surface tension) โดยปกติโมเลกุลของน้ำที่

ผิวจะอิสระต่อการเคลื่อนไหวมากกว่าโมเลกุลของน้ำที่อยู่ภายในหรืออาจกล่าวได้ว่าโมเลกุลของน้ำที่ผิวมีพลังงานอิสระ (free energy, G) มากกว่าผลต่างของพลังงานอิสระดังกล่าวต่อหน่วยพื้นที่ (A) คือ แรงตึงผิว (surface tension, γ) หรือคือแรงที่น้ำใช้ไปในการรักษาผิวของน้ำให้มีพื้นผิวน้อยที่สุด เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวลงไปส่วนของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวที่ไม่ละลายน้ำจะถูกน้ำผลักออกไป ทำให้โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวไปเรียงตัวกันอยู่ที่ผิวของน้ำทำให้ความอิสระของโมเลกุลของน้ำที่ผิวลดน้อยลงหรือพลังงานอิสระลดลง ซึ่งจะทำให้แรงตึงผิวลดลงตามมา (Karsa and porter, 1995; สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2524) ดังภาพที่ 18

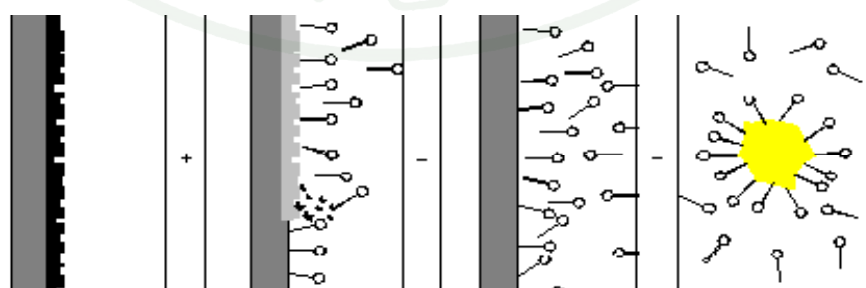


ภาพที่ 18 การลดแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิว

ที่มา: สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (2524)

4.3.2 การทำให้เปียก (wetting) เมื่อหยดน้ำลงบนกระดาษที่เคลือบด้วยไข หยดน้ำจะยังคงรักษารูปทรงของหยดเอาไว้ ต่อเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวลงไป หยดน้ำก็แผ่กว้างออกไป ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าสารลดแรงตึงผิวช่วยทำให้มุมสัมผัส (contact angle, θ) ของหยดน้ำที่มีต่อพื้นผิวลดลง และถ้ามุมนี้ยิ่งแคบลงมากเท่าไรก็เรียกว่าพื้นผิวเปียกมากขึ้นเท่านั้น

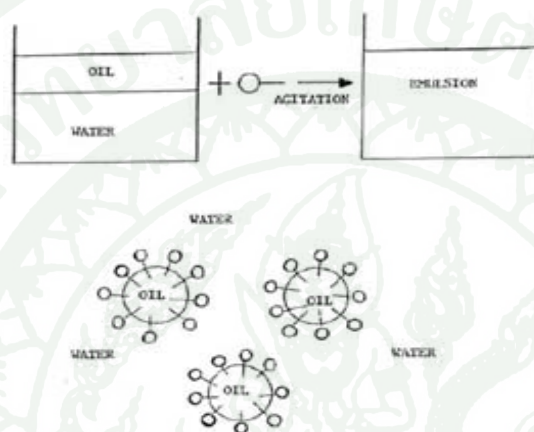
4.3.3 การดึงสิ่งสกปรกออกจากพื้นผิว (detergency) สิ่งสกปรกเช่น คราบมันหรือเขม่าควันไฟเมื่อติดอยู่ที่พื้นผิว เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวลงไป สารลดแรงตึงผิวไปลดแรงดึงดูดกันระหว่างสิ่งสกปรกและพื้นผิว นอกจากนั้นก็หั่นเอาส่วนของโมเลกุลที่ไม่ละลายน้ำไปสัมผัส และโดยที่มีการเคลื่อนไหวของโมเลกุลต่าง ๆ ภายในน้ำทำให้เกิดแรงตึงจนกระทั่งสิ่งสกปรกหลุดออกจากพื้นผิวได้ ดังภาพที่ 19



ภาพที่ 19 การดึงสิ่งสกปรกให้หลุดออกจากพื้นผิว (detergency) โดยสารลดแรงตึงผิว

ที่มา: Chemistry and New Zealand (2001)

4.3.4 การแขวนลอยในน้ำ (emulsion) น้ำมันไม่อาจผสมรวมเข้ากับน้ำได้ แต่เมื่อใส่สารลดแรงตึงผิวลงไปพร้อมทั้งคนอย่างแรง ๆ เพื่อให้น้ำมันกระจายตัวเป็นหยดเล็ก ๆ โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวก็จะไปล้อมรอบหยดน้ำมันเล็ก ๆ เหล่านี้โดยจุ่มเอาส่วนของโมเลกุลที่ละลายน้ำได้ในน้ำมันเข้าไปหยดในน้ำมัน ทำให้หยดน้ำมันเล็ก ๆ แขนงลอยอยู่ในน้ำได้ ดังภาพที่ 20

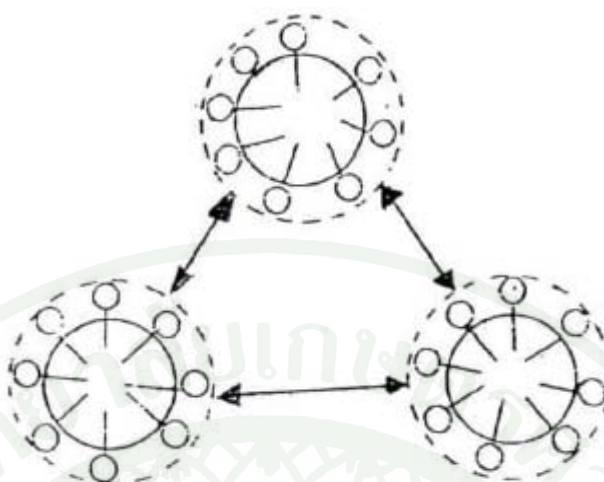


ภาพที่ 20 หยดน้ำมันเล็กๆ (Emulsion) แขนงลอยอยู่ในน้ำโดยความช่วยเหลือของสารลดแรงตึงผิว

ที่มา: สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (2524)

4.3.5 การละลาย (solubilizing) ภายในกลุ่มของสารลดแรงตึงผิวที่เกิดขึ้นมีลักษณะและคุณสมบัติคล้ายน้ำมัน ดังนั้นจึงสามารถที่ละลายน้ำมันที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก ๆ ได้

4.3.6 การกระจายตัว (dispersion) สิ่งสกปรกเมื่อถูกดึงออกจากพื้นผิวแล้วก็อาจกลับรวมตัวกันใหม่ทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งอาจสามารถกลับเข้าไปจับกับพื้นผิวได้อีก แต่การที่สารลดแรงตึงผิวไปจับรอบ ๆ สิ่งสกปรกเล็ก ๆ ที่ถูกดึงออกนั้นเกิดขึ้นบาง ๆ ของประจุไฟฟ้าหุ้มเอาไว้คล้ายกลุ่มของสารลดแรงตึงผิว (micelle) ทำให้มีการผลักระหว่างกันของสิ่งสกปรกเล็กๆ สิ่งสกปรกก็ไม่อาจรวมตัวกันใหญ่ขึ้นได้ ซึ่งก็จะกระจายอยู่ทั่วไปในน้ำ ดังภาพที่ 21



ภาพที่ 21 การผลัดกันของชั้นบาง ๆ ของประจุที่เหมือนกัน ทำให้สิ่งสกปรกเล็ก ๆ กระจายตัวอยู่ในน้ำ (Dispersion)

ที่มา: สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (2524)

4.3.7 การป้องกันการกลับเข้าไปจับใหม่ (suspension or prevention of redeposition) สิ่งสกปรกเมื่อถูกดึงออกจากพื้นผิวชั้นบาง ๆ ของประจุไฟฟ้าที่เหมือนกันที่ล้อมรอบพื้นผิวทั้งสอง ช่วยให้สิ่งสกปรกเกิดแรงผลัดกับพื้นผิวจึงไม่อาจกลับออกไปจับพื้นผิวได้อีก (สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2524)

4.4 การใช้สารลดแรงตึงผิวช่วยเร่งการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนโดยจุลินทรีย์

สารลดแรงตึงผิวถูกนำมาใช้ในการลดแรงตึงผิว หรืออิมัลซิไฟด์ (emulsify) เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายของสารที่ไม่ละลายน้ำ หรือละลายน้ำได้น้อย โดยนำไปใช้ประโยชน์ในการส่งเสริมการย่อยสลายคราบน้ำมันของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ เพิ่มความสามารถในการขนส่งสารเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์ทำให้การย่อยสลายน้ำมันเป็นไปอย่างรวดเร็ว (Karsa and Porter, 1995)

การย่อยสลายน้ำมันที่ปนเปื้อนในดินโดยจุลินทรีย์มีปัจจัยที่จำกัด ทำให้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเปลี่ยนแปลงไปจากสิ่งแวดล้อมได้อย่างช้าๆ นอกเสียจากว่าสารประกอบไฮโดรคาร์บอนนั้นสามารถส่งเสริมเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ได้ การย่อยสลายสารประกอบ

ไฮโดรคาร์บอนโดยสิ่งมีชีวิตเกิดโดยที่จุลินทรีย์จับกับสับสเตรท ได้อย่างจำเพาะเมื่อสารปนเปื้อนอยู่ในดินที่มีสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำคูดซับอยู่ การย่อยสลายที่เกิดขึ้นได้อย่างจำกัด ส่งผลต่ออัตราและขนาดของการย่อยสลายทางชีวภาพ โดยจุลินทรีย์ใช้สับสเตรทที่ละลายน้ำได้ดี แต่จุลินทรีย์ต้องใช้ความพยายามในการย่อยสลายสารที่ละลายน้ำได้ยาก โดยมี 3 กลไกที่สามารถใช้ได้ และใช้ได้แตกต่างกันไปตามชนิดของแบคทีเรียที่อาจใช้เพียง 1 กลไกหรือมากกว่า 1 กลไก คือ การย่อยสลายที่สัมพันธ์กับวัตถุที่มีการละลายต่ำ การเข้าจับโดยตรงกับหยดหรือพื้นผิวที่ไม่ละลายน้ำ สัมพันธ์กับไฮโดรคาร์บอนที่ละลายน้ำได้โดยการใช้สารลดแรงตึงผิว (Prince, 1993) โดยกลไกที่สามนี้มีความสำคัญต่อการประยุกต์ใช้ในการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (PAHs)

5. กากชีวภาพ (Biosolid)

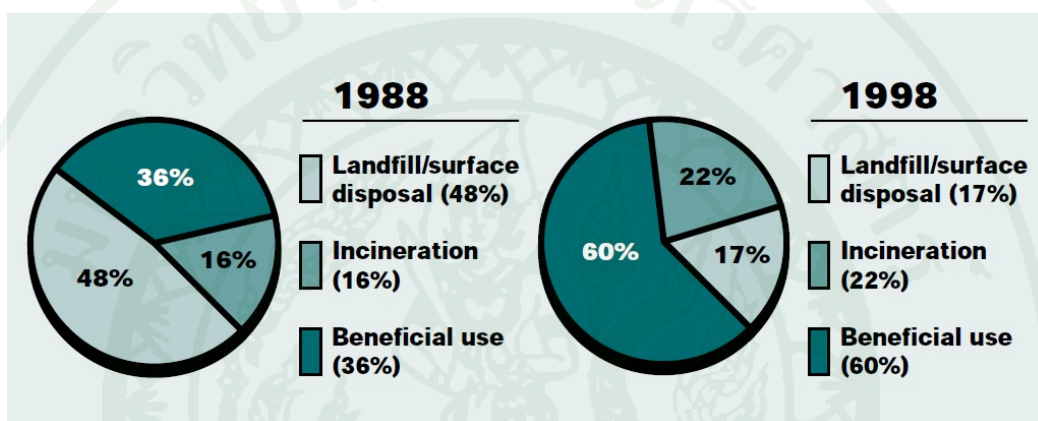
5.1 คำนิยามของกากชีวภาพ (Biosolid)

กากชีวภาพ หรือ กากตะกอนจากน้ำเสีย คือ สารของแข็งที่ถูกปล่อยออกมาจากแอกทิเวเต็ดสลัดจ์จากระบบบำบัดน้ำเสียที่มีการเติมอากาศ กากชีวภาพเป็นของผสมสารตกตะกอนได้กับจุลชีพที่สามารถแพร่พันธุ์ได้นั้นมีปริมาณสารอินทรีย์สูงถูกจัดเป็นสารชีวมวลที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อีกครั้ง (Jacob and McCreary, 2001)

กากชีวภาพที่ได้จากการบำบัดน้ำเสีย หากไม่มีการกำจัดอย่างถูกวิธี ก็ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และสุขภาพอนามัยของมนุษย์เป็นอย่างมาก ซึ่งวิธีที่ใช้ในการกำจัดกากชีวภาพที่ได้จากการบำบัดน้ำเสียโดยทั่วไป ได้แก่ การนำไปหมัก การนำไปฝังกลบ การนำไปทิ้งลงในทะเล และการนำไปเผา (Beecher *et al.*, 2005) แต่การนำกากชีวภาพไปทำการฝังกลบนั้น จำเป็นต้องมีพื้นที่ใหญ่ มีค่าใช้จ่ายสูง ต้องทำการควบคุมสัตว์ แมลงนำโรค และต้องมีการตรวจติดตามคุณภาพควบคุมกันไป ด้วย ส่วนการนำกากชีวภาพไปเผานั้น ก่อให้เกิดก๊าซ และควันพิษ ส่วนการหมักปุ๋ยทำให้เกิดเชื้อก่อโรคได้ และส่งกลิ่นเหม็นรบกวน ดังนั้นการนำกากชีวภาพไปปรับปรุงพื้นที่เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ ใน (Metcalf and Eddy, 2004)

กากชีวภาพที่มาจากน้ำเสียนั้นเป็นทรัพยากรที่มีคุณค่าต่อการนำกลับมาใช้ ในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ในพื้นที่ทางการเกษตร การฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อนน้ำมัน หรือพื้นที่หลังจากการฟื้นฟูด้วยวิธีเคมี เนื่องจากกากชีวภาพชนิดนี้มี คาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เป็นองค์ประกอบสำคัญ ซึ่งช่วยในการนำธาตุอาหารต่างๆ กลับคืนสู่สิ่งแวดล้อม และเป็นประโยชน์ต่อจุลินทรีย์และ

พืช นอกจากนี้การนำกากชีวภาพมาใช้ประโยชน์นั้นจะเสียค่าใช้จ่ายน้อย และยังสามารถใช้ในการปรับปรุงคุณภาพดินได้อีกด้วย ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นวิธีการกำจัดกากชีวภาพที่นิยมวิธีหนึ่งในหลายๆ ประเทศทั่วโลก ซึ่งเป็นที่นิยมมากกว่าการนำไปฝังกลบ และการเผา แสดงดังภาพที่ 22 กากชีวภาพที่นำมาใช้ในการทดลองนี้คือ กากตะกอนจุลินทรีย์ที่เกิดจากระบวนการของระบบบำบัดน้ำเสีย ซึ่งปริมาณของกากตะกอนที่เกิดขึ้นจากระบบบำบัดน้ำเสียนั้นขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของน้ำเสีย และชนิดของระบบบำบัดน้ำเสีย (Metcalf and Eddy, 1991; Jacob and McCreary, 2001)



ภาพที่ 22 เปรียบเทียบวิธีการกำจัดกากชีวภาพในปี 1988 และ 1998

ที่มา: Jacob and McCreary (2001)

แต่การนำกากชีวภาพมาใช้ประโยชน์ในการฟื้นฟูดินต้องมีการควบคุม และจัดการที่ดี ไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์ และไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากกากชีวภาพที่ได้จากการบำบัดน้ำเสียเต็มไปด้วยเชื้อจุลินทรีย์ ที่อาจมีเชื้อแบคทีเรีย หรือไวรัสที่ก่อโรค มีส่วนประกอบของโลหะหนัก เช่น แคดเมียม ตะกั่ว และปรอท หรืออาจมีสารพิษอินทรีย์ เช่น polychlorinated biphenyl (PCB) ถ้าสารเหล่านี้ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตเมื่อเข้าสู่ห่วงโซ่และทำให้สิ่งแวดล้อมเสื่อมโทรมลงได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกากชีวภาพที่เติมลงในดิน ถ้าเติมลงไปอัตราที่พอเหมาะจะส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ในพื้นที่ แต่ถ้าหากเติมมากเกินไปจะส่งผลตรงกันข้าม (Jacob and McCreary, 2001)

กากชีวภาพโดยทั่วไปอุดมไปด้วยสารอินทรีย์ และธาตุอาหารต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อจุลินทรีย์อยู่ในปริมาณมาก โดยมีอินทรีย์วัตถุประมาณ 40-60% มีไนโตรเจนประมาณ 3-4% และมีโพแทสเซียมประมาณ 0.3-1% นอกจากนี้ยังมีความชื้นสูง มีแหล่งคาร์บอนที่มีโครงสร้างง่ายต่อ

การย่อยสลาย เมื่อเติมลงไปดินจะเพิ่มเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ได้ทำให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินดีขึ้น (Metcalf and Eddy, 2004)

5.2 ส่วนประกอบสำคัญของกากชีวภาพ

5.2.1 ส่วนที่เป็นของแข็ง (total solids) ประกอบไปด้วยสารแขวนลอย (suspended) และ สารหรือของแข็งที่ละลายน้ำ (dissolved solids) โดยปริมาณของแข็งจะมีชนิดไหนมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กระบวนการบำบัดน้ำเสียและการเก็บรักษากากชีวภาพ โดยปริมาณการเกิดกากชีวภาพหากไม่มีการรีดน้ำออกพบตะกอน 2-12% เมื่อมีการรีดน้ำออกแล้ว (dewatered) จะมีตะกอน 12-30% และเมื่อผ่านการอบหรืออัดเป็นปุ๋ยจะมีตะกอน 50% กากชีวภาพจะมีค่าความชื้นสูงมากปกติกากชีวภาพมีความชื้นอยู่ที่ 70-95% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจัดการหรือนำไปใช้ประโยชน์หากมีการเติมโพลีเมอร์ บีบอัดรีดน้ำออก หรือเอาไปตากแดด จะทำให้ค่าความชื้นของกากชีวภาพลดลง

5.2.2 สารอาหาร (Nutrients) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งในกากชีวภาพจะอุดมไปด้วยธาตุอาหาร ส่วนใหญ่เป็น ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และ โพแทสเซียม (K) นอกจากนี้ยังมีธาตุอาหารอื่นๆด้วย เช่น แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) โซเดียม (Na) สังกะสี (Zn) และอื่นๆ ระดับความเข้มข้นของธาตุอาหารจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยและความแปรปรวนของปริมาณสารอาหารในกากชีวภาพจากการเก็บรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ในรัฐเพนซิลวาเนียระหว่างปี 1993 และ 1997

ธาตุอาหาร	Total N ^b (%)	NH ₄ -N (%)	Organic N (%)	Total P (%)	Total K (%)
ค่าเฉลี่ย	4.74	0.57	4.13	2.27	0.31
ความแปรปรวน	1.08	0.30	1.03	0.89	0.27

^aConcentrations are on a dried solids basis.

^bDetermined as total Kjeldahl nitrogen.

^cStandard deviation of the mean.

ที่มา: Stehouwer *et al.* (2000)

5.2.3 สารอินทรีย์ (organic matter) เป็นสารประกอบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบในภาคชีวภาพพบเป็นจำนวนมาก โดยมีอินทรีย์วัตถุประมาณ 40-60% อยู่ในรูปที่ย่อยสลายง่ายส่วนใหญ่อยู่นิรูปเซลล์จุลินทรีย์ มีบางส่วนที่มีการย่อยสลายยาก คือส่วนที่มาจากผลิตภัณฑ์ในครัวเรือนส่วนใหญ่ เช่น สารกำจัดศัตรูพืช น้ำยาซักผ้า น้ำยาล้างจาน เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้มีความเป็นพิษต่อจุลินทรีย์

5.2.4 จุลินทรีย์ ในภาคชีวภาพประกอบไปด้วยเซลล์จุลินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ โดยเซลล์ประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ 70-90% และส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์อีก 10-30% เห็นได้ว่าสารอินทรีย์ในระบบบำบัดน้ำเสียส่วนใหญ่ถูกเปลี่ยนมาเป็นเซลล์ของจุลินทรีย์ มีลักษณะเป็นตะกอน มีทั้งเซลล์ที่ยังมีชีวิตและเซลล์ที่ตายแล้ว เซลล์ที่ตายแล้วสามารถนำไปย่อยสลายสารมลพิษได้อีก ส่วนเซลล์ที่ตายแล้วจะเป็นแหล่งคาร์บอนให้จุลินทรีย์อื่นๆ ต่อไป

6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จิตติมา (2551) ทำการคัดแยก และเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ใช้แล้วในบริเวณอู่ซ่อมรถ และปั้มน้ำมันในจังหวัดนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และสงขลา พบว่าปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น คาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เป็นปัจจัยสำคัญในการกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน โดยทำการแยกกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน โดยวิธี enrichment culture นำตัวอย่าง 1 กรัม เติมนิอาหาร mineral salt medium ที่มีน้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้วร้อยละ 1 เป็นแหล่งคาร์บอน และตรวจสอบกิจกรรมการย่อยสลายน้ำมันโดยวิธี weight loss พบว่ากลุ่มจุลินทรีย์ที่แยกได้จากอู่ซ่อมรถจากนครศรีธรรมราช (SC-9) มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นรถยนต์ที่ใช้แล้วสูงที่สุด 40% ภายใน 5 วัน จากนั้นนำไปศึกษาความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วในดินในสภาวะที่เหมาะสม พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่สุดคือ เพิ่มปริมาณจุลินทรีย์กลุ่ม SC-9 ให้มีจำนวนเชื้อ 10^4 CFU/g ปรับระดับความชื้นให้ได้ 17% และเติมสารอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสโดยให้มีอัตราส่วน คาร์บอน ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (C:N:P) เท่ากับ 100:10:1 ให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้ 98% กำจัด aromatic hydrocarbon 64% และ asphaltene ลดลง 70% หลังจากการย่อยสลาย 30 วัน สำหรับชุดควบคุมที่ไม่มีการปรับสภาพให้เหมาะสมมีประสิทธิภาพการย่อยสลายของสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน 40% ใน 30 วัน

วิภา (2546) ศึกษาการกำจัดคราบน้ำมัน (สารประกอบอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน) โดยใช้แบคทีเรียชนิดเดียว และหลายชนิดร่วมกับการเติมสารลดแรงตึงผิว (น้ำเสียจากโรงงานน้ำยาล้างจาน) โดยทำการคัดแยกแบคทีเรียที่ย่อยสลายคราบน้ำมันจากตัวอย่างน้ำทิ้ง และดินที่ปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน จำนวนทั้งสิ้น 6 พื้นที่ พบว่าแบคทีเรียในพื้นที่ปนเปื้อนมีความสามารถในการกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนสูง และน้ำยาซักผ้าสามารถช่วยเร่งระยะเวลา และเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนให้สูงขึ้น โดยนำตัวอย่างดิน และน้ำมาเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ (enrichment) ในอาหาร basal salt medium (BSM) สามารถแยกจุลินทรีย์ได้ 40 ไอโซเลต จุลินทรีย์ *Acinetobacter* sp. ALIP ที่แยกได้ในพื้นที่ปนเปื้อน มีความสามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องในอาหารเลี้ยงเชื้อความเข้มข้น 1% ได้ดีที่สุด 45% ในเวลา 3 วัน และในวันที่ 5-7 พบว่าปริมาณอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนมีค่าน้อยมากจนตรวจไม่พบ สำหรับการทดลองเชื้อผสมพบว่าชุดที่เก็บตัวอย่างจากจุดซ่อมรถ ขสมก. บางเขน (W3 consortium) สามารถย่อยสลายได้ดีที่สุด 94% ใน 5 วัน และในวันที่ 7 พบว่าไม่สามารถตรวจพบ อะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน เมื่อนำทั้งสองชุดการทดลองมาทดลองต่อโดยการเติมสารลดแรงตึงผิวพบว่าเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวชุดการทดลอง W3 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนดีขึ้นกำจัดได้ 51% ใน 1 วัน และมีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถวัดได้ในวันที่ 3 ของการทดลอง ซึ่งตรงข้ามกับ *Acinetobacter* sp. ALIP ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอนลดลงสามารถกำจัดได้ 38% ในเวลา 7 วัน เนื่องจากการเติมสารลดแรงตึงผิวลงไปในการเลี้ยงเชื้อช่วยให้มีอัตราของการละลายน้ำมันดิบได้ดี แต่ไม่มีผลต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียเชื้อเดี่ยว ซึ่งผลการตรวจวัดการเจริญของแบคทีเรียกลับพบว่าการเจริญเพิ่มจำนวนอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 0-7 ของการทดลอง ทำให้ทราบได้ว่าแบคทีเรียอาจใช้แหล่งคาร์บอนซึ่งเป็นองค์ประกอบในสารลดแรงตึงผิวแทนการใช้ น้ำมันดิบเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงแหล่งเดียว

Chang *et al.* (2011) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการฟื้นฟูดินปนเปื้อนน้ำมันเพื่อศึกษาผลของการเติม ธาตุอาหาร (N, P, K และ S) กับจุลินทรีย์ โดยใช้วิธี Bioaugmentation เชื้อ *Acinetobacter baumannii* T30C ที่แยกได้จากพื้นที่มาเลี้ยงโดยเพิ่มจำนวน (enrichment culture) จากนั้นแบ่งการทดลอง แบ่งชุดการทดลองเป็น 4 ชุดการทดลองคือ A) ดิน + จุลินทรีย์ + ธาตุอาหาร B) ดิน + ธาตุอาหาร C) ดิน + จุลินทรีย์ D) ดิน + น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ พบว่าในระยะเวลา 35 วัน ชุด A และ B มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนไม่แตกต่างกัน 44% รองลงมาคือ ชุด C 28% และชุด D เป็นชุดที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่ำที่สุด 11% เนื่องจากในดินมีธาตุอาหารต่ำ และน้ำมันที่ปนเปื้อนในดินอยู่ในรูปที่ย่อยสลายยาก การเติมเชื้อลงไปเพียงอย่างเดียวส่งผลทำให้กระตุ้นการกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ในดินไม่ดี

นักเนื่องจากขาดสารตั้งต้นในกระบวนการย่อยสลาย โดย N, P, K และ S มีส่วนสำคัญในการผลิตเอนไซม์ และกิจกรรมในการเจริญของจุลินทรีย์ ถ้าสารข้างต้นหมดไป หรือมีค่าน้อยทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนต่ำลง สำหรับน้ำกลั่นในการทดลองนี้มีผลทำให้ความเข้มข้นสูงขึ้นแต่เป็นตัวเลือกที่ไม่ดีนักเนื่องจากน้ำมันเป็นสารที่มีความสามารถในการละลายน้ำต่ำส่งผลทำให้เกิดการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ต่ำ

Gallego *et al.* (2001) ทำการศึกษาประสิทธิภาพของการบำบัดดินที่ปนเปื้อนน้ำมันดีเซล ในเมือง Oviedo ประเทศสเปน เพื่อพัฒนาและหาวิธีการที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำมันโดยใช้วิธีทางชีวภาพแบบในพื้นที่ (in-situ) โดยการทดลองในครั้งนี้จะแบ่งชุดการทดลองเป็น 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดที่มีการเติมธาตุอาหาร (Biostimulation with nutrients) ได้แก่ ไนโตรเจน (NH_4NO_3) และฟอสฟอรัส (KH_2PO_4 and Na_2HPO_4) ชุดเติมกากชีวภาพ (Biostimulation with sludge) ไม่มีการเติมสาร (Natural attenuation) และ เติมเชื้อจุลินทรีย์ (Bioaugmentation) พบว่าชุดที่มีการเติมธาตุอาหาร ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เป็นชุดการทดลองที่ดีที่สุดโดยสามารถย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ >90% ในระยะเวลา 45 วัน รองลงมาคือชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพย่อยสลายน้ำมันดีเซลได้ 55% และชุดที่เติมเชื้อจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายน้ำมันได้ 33% สำหรับชุดควบคุมสามารถย่อยสลายน้ำมันได้ 24% ในระยะเวลา 45 วัน เนื่องจากในดินที่ปนเปื้อนน้ำมันส่วนใหญ่มีแหล่งคาร์บอนเพียงพอต่อการเจริญของจุลินทรีย์ แต่มักมีธาตุอาหาร (N, P, K และ S) ต่ำ การเติมธาตุอาหารที่ง่ายต่อการเจริญของจุลินทรีย์ส่งผลทำให้สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ และการแบ่งเซลล์สูงขึ้น การเจริญของจุลินทรีย์ดีขึ้น ประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ในดินจึงดีขึ้นด้วย

Hee *et al.* (2011) ทำการศึกษาวิธีการฟื้นฟูดินปนเปื้อนน้ำมันดีเซลทั้ง 3 วิธีคือ Natural attenuation, Bioaugmentation (BA = เติม *Rhodococcus* sp. EH831) และวิธี Biostimulation (BS = เติมไนโตรเจนและฟอสฟอรัส) ทั้งแบบเติม และไม่เติมสารลดแรงตึงผิว (Tween 80) โดยวิเคราะห์จากการลดลงของ TPH พบว่าการเติมสารลดแรงตึงผิวช่วยเร่งระยะเวลาการกำจัด TPH และส่งผลทำให้จุลินทรีย์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย TPH สูงขึ้น เนื่องจากสารลดแรงตึงผิว ทำหน้าที่ชะน้ำมันออกจากอนุภาคดิน และสารอินทรีย์ในดิน มีผลเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของน้ำมันดีเซลให้สั้นลงเหมาะสมสำหรับการย่อยสลายของจุลินทรีย์ โดยชุด BS ไม่เติมสารลดแรงตึงผิวสามารถกำจัด TPH ในระยะเวลา 7 วันได้ 20% ซึ่งต่างจากชุด BS ที่เติมสารลดแรงตึงผิวสามารถกำจัด TPH 57% เช่นเดียวกับชุด NA ที่พบว่าไม่เติมสารลดแรงตึงผิวสามารถกำจัด TPH ใน 7 วันได้ 8% แต่เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวสามารถกำจัด TPH 43% ซึ่งต่างจากชุด BA ที่พบว่าเติมกับไม่เติมสารลดแรงตึงผิว ประสิทธิภาพในการกำจัด TPH จะไม่แตกต่างกัน 43% เนื่องจาก *Rhodococcus* sp. EH831 เป็น

จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH สูง สามารถผลิต Biosurfactant เองได้ การเติมสารลดแรงตึงผิวจึงไม่มีผลต่อการทดลองชุดนี้

Jirasripongpun (2002) เก็บตัวอย่างดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่องเก่าบริเวณบริษัทเหล็กที่ สอกโกโดในประเทศญี่ปุ่น เพื่อทำการแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องเก่าจากดินที่ปนเปื้อน พบว่าจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH แตกต่างกัน หากในพื้นที่พบจุลินทรีย์หลายไอโซเลต มีโอกาสที่จุลินทรีย์ย่อยน้ำมันสูง โดยการทดลองนี้นำตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่องเก่าไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 คืน เพื่อกำจัดสารระเหยไฮโดรคาร์บอน จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหาร mineral salts medium ที่มีน้ำมันเครื่องเก่า 2000 ppm เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าจาก 26 ไอโซเลตที่แยกได้ มี 1 ไอโซเลตคือ strain W9 (*Nocardio simplex*) มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงที่สุด และสามารถใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้หลากหลาย โดยสามารถย่อยสลาย saturate, aromatic และ resin ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้ว หลังจากเลี้ยงเชื้อได้ 30 วัน ได้ 52.46%, 38.13% และ 18.81% ตามลำดับ ในขณะที่เชื้ออื่นใช้ได้เพียง saturate และ aromatic ที่มีโครงสร้าง 1-3 วง

Millioli *et al.* (2009) ทำการฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนน้ำมันทางตอนเหนือของประเทศบราซิล โดยมีการเติม rhamnolipid ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิว เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการกำจัด TPH การผลิตเอนไซม์ dehydrogenase ของจุลินทรีย์ และเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารลดแรงตึงผิวต่อการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มย่อยสลาย TPH เป็นเวลา 45 วัน พบว่าการเติม rhamnolipid มีผลส่งเสริมประสิทธิภาพการย่อยสลาย TPH และการสร้างเอนไซม์ dehydrogenase เนื่องจากมีผลทำให้ OC และ TPH ในดินอยู่ในรูปสารละลาย และมีโครงสร้างง่ายต่อการย่อยสลาย (สายสั้น หรือเบนซีน 1-3 วง) ทำให้การเจริญของจุลินทรีย์ดีขึ้น สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงขึ้น โดยการเติม rhamnolipid ความเข้มข้น 4% เป็นชุดที่ส่งเสริมการย่อยสลาย TPH ที่ดีที่สุด สร้างเอนไซม์ dehydrogenase สูงที่สุดที่ 60 $\mu\text{g/g}$ สามารถกำจัด TPH ได้ 60% และมีการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์กลุ่มที่ย่อยสลาย TPH จากเดิม 2.36×10^3 CFU/g เป็น 6.8×10^5 CFU/g ในเวลา 45 วัน สำหรับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม rhamnolipid พบว่ามีการสร้างเอนไซม์ dehydrogenase 10 $\mu\text{g/g}$ สามารถกำจัด TPH ได้ 35% พบจุลินทรีย์กลุ่มที่ย่อยสลาย TPH มีปริมาณลดลงจาก 6.2×10^3 CFU/g เป็น 1.7×10^3 CFU/g ในเวลา 45 วัน สำหรับชุดที่มีการเติม rhamnolipid ที่ความเข้มข้นสูงเกินไปถึง 15% มีการย่อยสลาย TPH ต่ำที่สุด โดยสามารถย่อยสลาย TPH ได้ 10% สร้างเอนไซม์ dehydrogenase เท่ากับ 9 $\mu\text{g/g}$ มีปริมาณจุลินทรีย์ที่ย่อยสลาย TPH ลดน้อยลงจากเดิมที่ตรวจพบในวันเริ่มต้น 3.2×10^3 CFU/g เป็น 8.5×10^2 CFU/g เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 45 วัน เนื่องจาก rhamnolipid เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีส่วนประกอบ

เป็นสารอินทรีย์ ถ้ามีการเติมที่ความเข้มข้นสูงมีผลทำให้จุลินทรีย์เลือกใช้ rhamnolipid ในการเจริญมากกว่า TPH

Namkoong *et al.* (2001) ทำการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเติมกากชีวภาพในการย่อยสลายน้ำมันดีเซลที่ปนเปื้อนในดิน โดยดินตัวอย่างมีปริมาณน้ำมันปนเปื้อนในดินประมาณ 10,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำการเติมกากชีวภาพลงไป 1%, 10%, 30% และ 50% โดยใช้ชุดที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพเป็นชุดควบคุม พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพมีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย TPH สูงกว่าชุดควบคุมชัดเจน ตั้งแต่วันที่ 15 โดยการเติมกากชีวภาพ 30% และ 50% เป็นชุดการทดลองที่ดีที่สุด โดยสามารถย่อยสลาย TPH ได้เท่ากับ 98.1% รองลงมาคือชุดเติมกากชีวภาพ 10% สามารถย่อยสลาย TPH ได้ 95.9% และชุดเติมกากชีวภาพ 1% ย่อยสลาย TPH ได้ 88.1% สำหรับชุดควบคุมที่มีดินเพียงอย่างเดียวเมื่อครบระยะเวลา 30 วันพบว่ามีการย่อยสลายสารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนได้น้อยที่สุดย่อยสลายได้เพียง 64.5% เนื่องจากดินตัวอย่างในการทดลองนี้มีแหล่งคาร์บอนส่วนใหญ่เป็นน้ำมันดีเซลที่มีโครงสร้างเป็นสายยาว จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายได้ แต่ในพื้นที่ตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ ธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่ำ เมื่อเติมกากชีวภาพที่มาจากโรงงานบำบัดน้ำเสียชุมชน (Sewage sludge) ที่อุดมไปด้วยจุลินทรีย์ แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส เป็นตัวกระตุ้นในการเจริญของจุลินทรีย์ การเติมกากชีวภาพ 1% และ 10% ในการทดลองนี้ไม่เพียงพอเนื่องจากความเข้มข้นของน้ำมันมีค่าสูง ดังนั้นการเติมที่ความเข้มข้น 30% และ 50% จึงเป็นชุดที่ดีที่สุด

Okuda and Adoki (2014) ทำการศึกษาการฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนน้ำมัน โดยหาวิธีที่เหมาะสมในการส่งเสริมการย่อยสลาย TPH ของจุลินทรีย์ โดยการเติมสารลดแรงตึงผิว (Sodium dodecyl sulfate: SDS) ธาตุอาหาร (olephilic nutrient: uric acid) ดินจากแหล่งเกษตรกรรม และเติมเอนไซม์ที่มาจากจุลินทรีย์ โดยใช้ชุดที่ไม่มีการเติมสารเป็นชุดควบคุม พบว่าการเติมสารดังกล่าวข้างต้นช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลาย TPH และ TOC ในดิน โดยชุด EUS (มีการเติมเอนไซม์ uric acid ดินจากเกษตรกรรม และ SDS เป็นชุดที่กำจัด TPH ได้ดีที่สุด เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 9 สัปดาห์ สามารถกำจัด TPH ได้ 98% และ ย่อยสลาย TOC ได้ 58% รองลงมาคือชุด SD (เติมเอนไซม์กับดินจากเกษตรกรรม) ชุด EA (เติม SDS ร่วมกับดินจากแหล่งเกษตรกรรม) และชุด UA (เติม uric acid ร่วมกับดินจากแหล่งเกษตรกรรม) เมื่อครบกำหนด 9 สัปดาห์ทั้ง 3 ชุดสามารถกำจัด TPH ได้ใกล้เคียงกันที่ 55-58% และ ย่อยสลาย TOC ได้ 30%, 43% และ 42% ตามลำดับ ซึ่งต่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสาร สามารถกำจัด TPH ได้เพียง 3% และย่อยสลาย TOC ได้ 5% นอกจากนี้ยังรายงานอีกว่าการย่อยสลายของจุลินทรีย์เกิดขึ้นได้ดี ขึ้นอยู่กับค่าความชื้น pH ชนิดของจุลินทรีย์และ

ปริมาณจุลินทรีย์ โดยที่ pH ระหว่าง 6-8 เป็นช่วงที่เกิดการย่อยสลายสลาย TPH ได้ดีที่สุด และค่าความชื้นต้องอยู่ในช่วง 25-30%

Wang and Bartha (1990) ได้รายงานอัตราส่วนระหว่างคาร์บอน ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในดิน พบว่าการปรับอัตราส่วนระหว่างคาร์บอน ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสให้ได้ประมาณ 100 : 5 : 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของดิน สามารถย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ดีที่สุด โดยย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจาก 185 mg/kg เหลือเพียง 26 mg/kg ภายใน 15 สัปดาห์ ซึ่งย่อยสลายได้ดีกว่าเดิมถึง 45% นอกจากนี้ยังรายงานอีกว่าจุลินทรีย์ทำการย่อยสลาย TPH ที่มีโครงสร้างง่ายไปหายากและการเติมแหล่งคาร์บอนในอัตราที่สูงส่งผลทำให้จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลาย TPH ได้เสียคุณสมบัติในการย่อยสลาย TPH ไปเนื่องจากในระบบมีธาตุอาหารอื่นที่มีโครงสร้างง่ายต่อการที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเจริญ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องมือ

- 1.1 เครื่องยูวี/วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์รุ่น UV1700 Pharma Spec บริษัท Shimadzu
- 1.2 เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง รุ่น AB 204-S บริษัท Mettler Toledo
- 1.3 เครื่องเขย่า (Shaker) รุ่น NR-150 บริษัท Taitec
- 1.4 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น 2420 บริษัท Kubota
- 1.5 หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) รุ่น Hiclave^{pm} HVE-50 บริษัท Hirayama
- 1.6 ไมโครเวฟ รุ่น EM-815 FW บริษัท Sanyo
- 1.7 เครื่องกวนสารให้ความร้อน (Hot plate) รุ่น HS-115 บริษัท HC Instrument
- 1.8 ตู้อบ (Hot air oven) รุ่น JSOF-100 บริษัท Jermark
- 1.9 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

2. เครื่องแก้วและอุปกรณ์การทดลอง

- 2.1 ปิเปตต์ บริษัท Precicolor HBG ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
- 2.2 บีกเกอร์ บริษัท Pyrex ขนาด 100, 250, 600 และ 1000 มิลลิลิตร
- 2.3 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) บริษัท Pyrex ขนาด 125, 250, 500 และ 1000

มิลลิลิตร

- 2.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 2.5 หลอดทดลอง
- 2.6 กระบอกตวง
- 2.7 แท่งแก้วคนสาร
- 2.8 กระบอกใส่ปิเปตต์
- 2.9 ลูป (Loop)
- 2.10 ตะแกรงใส่หลอดทดลอง
- 2.11 แท่งแก้วสามเหลี่ยม

2.12 กระบอกตวง บริษัท Witeg ขนาด 100, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

2.13 ขวดปรับปริมาตร บริษัท Witeg ขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร

2.14 ซ้อนตักสาร

2.15 ปิเปตต์อัตโนมัติ (Automatic pipette)

2.16 สำลี

2.17 ถูร้อน

2.18 ถูเย็น

2.19 กรรไกร

2.20 อลูมิเนียมฟอยล์

2.21 หนัวยาง

2.22 แผ่นปิดพาราฟิน (Paraffin)

2.23 หลอด Centrifuge

2.24 หลอดหยด (Dropper)

2.25 บิวเรต (Burette)

2.26 ฟอกกี้

3. สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1 Agar powder บริษัท Himedia

3.2 Nutrient Agar บริษัท Biomark

3.3 Sodium chloride (NaCl) บริษัท Carlo Erba Reagenti SpA

3.4 Sodium hydroxide pellets (NaOH) บริษัท Carlo Erba Reagenti SpA

3.5 Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) บริษัท Unilab

3.6 Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) บริษัท Volchem

3.7 Ammonium chloride (NH_4Cl) บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd

3.8 Ammonium sulphate ($(NH_4)_2SO_4$) บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd

3.9 Ammonium iron (II) sulphate ($(NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$) บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd

3.10 Magnesium sulphate hydrated ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd

3.11 Ethanol 99% Grade AR (C_2H_6O) บริษัท QRecTM

3.12 Methanol (CH_3OH) บริษัท Merck

3.13 Hydrochloric acid (HCL) บริษัท QRecTM

3.14 Sulphuric acid 98% Grade AR (H_2SO_4) บริษัท QRecTM

3.15 Toluene Grade AR (C_7H_8) บริษัท QRecTM

3.16 Ferrous Sulfate Heptahydrate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd

3.17 Nutrient Broth, pH 6.9 W/O NaCl บริษัท Sisco Research Laboratories PVT.Ltd

3.18 2,3,5-Triphenyl formazan (TPF) บริษัท QRecTM

3.19 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) บริษัท QRecTM

4. วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

4.1 ดินที่ปนเปื้อนน้ำมัน เก็บจากเนินดินฝั่งตรงข้ามบริษัทบุญถมโลหะกิจ ในจังหวัดสมุทรปราการ

4.2 น้ำมันเครื่องจากอุ้งซ่อมรถในพื้นที่ปนเปื้อน

4.3 บริสเอกเซล ผลิตภัณฑ์ซักผ้าชนิดน้ำสูตรเข้มข้น

4.5 ภาพชีวภาพเก็บตัวอย่างจากบริษัทโกลบอลเอ็นไวรอนเมนทัล ซึ่งควบคุมด้วยระบบบำบัดน้ำเสียแบบคลิงวอนเวียน (Oxidation ditch) ในนิคมอุตสาหกรรมบางปู

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างและการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เคมีของดินกับกากชีวภาพ

1.1 การเตรียมอุปกรณ์เครื่องแก้ว

ล้างอุปกรณ์เครื่องแก้วทุกชิ้นด้วยน้ำยาทำความสะอาดแล้วชะด้วยอะซิโตน 2 ครั้ง และเฮกเซน 1 ครั้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วปิดปากภาชนะด้วยอลูมิเนียมฟอยล์

1.2 การศึกษาดินตัวอย่างที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง

เก็บตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนน้ำมันเครื่องจากเนินดินบริษัทบุญถมโลหะกิจ ในจังหวัดสมุทรปราการ ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง 30 จุด จุดลงไปลึกประมาณ 15 ถึง 30 เซนติเมตร นำดินที่ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างมารวมกัน แยกเศษไม้และก้อนหินที่มีขนาดใหญ่ออก คัดแยกเนื้อดินโดยให้ดินมีขนาด 0.5 มิลลิเมตร (ใช้เครื่องร่อนดินเบอร์ 35) เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดมิดชิดและเย็น (4 องศาเซลเซียส) เพื่อรอการวิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมี ได้แก่ ความชื้น pH โลหะหนัก soil texture ปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (TPH) อินทรีย์คาร์บอน (OC) จุลินทรีย์ทั้งหมด ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (ภาคผนวก ค)

1.3 การศึกษาลักษณะคุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของกากชีวภาพ

กากชีวภavnนำมาจากส่วนถังตกตะกอนจุลินทรีย์ ที่ผ่านการรีดน้ำออกแล้วจากระบบบำบัดน้ำเสียแบบคลองวนเวียน จากโรงงานแห่งหนึ่งในนิคมอุตสาหกรรมบางปู วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพและทางเคมี ได้แก่ ความชื้น pH โลหะหนัก C/N ratio อินทรีย์คาร์บอน ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัส (ภาคผนวก ค)

2. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันเครื่องที่ปนเปื้อนในดินเมื่อเติมน้ำยาซักผ้า

2.1 นำตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง 100 กรัม เติมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 4 ชุดการทดลอง

2.2 เตรียมน้ำยาซักผ้า 10 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 20%) เป็น Stock solution ทำการปรับความเข้มข้นของน้ำยาซักผ้าให้ได้ความเข้มข้น 3%, 6% และ 8% จากนั้นทำการเติมลงในขวดรูปชมพู่ชุดที่ 2, 3 และ 4 ขวดละ 5 มิลลิลิตร โดยชุดการทดลองที่ 1 ไม่มีการเติมน้ำยาซักผ้าแต่เติมน้ำกลั่นลงไป 5 มิลลิลิตรแทนเพื่อเป็นชุดควบคุม แต่ละชุดการทดลองมีทั้งหมด 3 ซ้ำ

2.3 เก็บตัวอย่างวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 37, 45 และ 60 เพื่อทำการวิเคราะห์ TPH, OC และ จุลินทรีย์ทั้งหมด (ภาคผนวก ก)

3. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันเครื่องที่ปนเปื้อนในดินเมื่อเติมกากชีวภาพ

3.1 เติมกากชีวภาพปริมาณ 10, 20 และ 30 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ ปรับปริมาณด้วยตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่องทุกชุดการทดลองให้ได้น้ำหนักตัวอย่าง 100 กรัม โดยมีชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพเป็นชุดควบคุม ทุกชุดการทดลองมีทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.2 เก็บตัวอย่างวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 37, 45 และ 60 เพื่อทำการวิเคราะห์ TPH OC และ จุลินทรีย์ทั้งหมด (ภาคผนวก ก)

4. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันเครื่องที่ปนเปื้อนในดินเมื่อเติมกากชีวภาพร่วมกับน้ำยาซักผ้า

4.1 เลือกสัดส่วนกากชีวภาพที่เหมาะสมจากการทดลองก่อนหน้านี้ เติมกากชีวภาพลงในขวดรูปชมพู่ และนำตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่องเติมลงขวดรูปชมพู่ปรับปริมาณให้ได้ 100 กรัม 5 ชุดการทดลอง จากนั้นเตรียมขวดรูปชมพู่อีก 2 ชุด เติมดินปนเปื้อนน้ำมันลง 100 กรัม ไม่มีการเติมกากชีวภาพเพื่อใช้เป็นชุดควบคุม

4.2 ศึกษาเกี่ยวกับการเติมน้ำกลั่นและน้ำยาซักผ้าความเข้มข้น 3%, 6% และ 8% ปริมาณ 5 มิลลิลิตร โดยสามารถสรุปชุดการทดลองทั้งหมดได้ดังต่อไปนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ดิน

ชุดการทดลองที่ 2 ดิน+น้ำกลั่น

ชุดการทดลองที่ 3 ดิน+กากชีวภาพชุดที่ดีที่สุด

ชุดการทดลองที่ 4 ดิน+กากชีวภาพชุดที่ดีที่สุด +น้ำกลั่น

ชุดการทดลองที่ 5 ดิน+กากชีวภาพชุดที่ดีที่สุด+น้ำยาซักผ้าความเข้มข้น 3%

ชุดการทดลองที่ 6 ดิน+กากชีวภาพชุดที่ดีที่สุด+น้ำยาซักผ้าความเข้มข้น 6%

ชุดการทดลองที่ 7 ดิน+กากชีวภาพชุดที่ดีที่สุด+น้ำยาซักผ้าความเข้มข้น 8%

4.5 เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ TPH OC จุลินทรีย์ทั้งหมด และกิจกรรมเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสของจุลินทรีย์ในดิน (DHA) ตรวจสอบวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 37, 45 และ 60

5. การคัดกรองและศึกษาการย่อยสลายน้ำมันเครื่องโดยจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่แยกได้จากดินปนเปื้อน

5.1 การแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องในดินที่ปนเปื้อน

5.1.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salts agar (MSA) ที่มีส่วนประกอบของน้ำมันเครื่อง 2% โดยปริมาตร

5.1.2 นำตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนน้ำมัน 10 กรัมใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 90 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าให้ทั่วประมาณ 5 นาที

5.1.3 เจือจางดินตัวอย่างแบบ ten-fold serial dilution ให้ได้ความเข้มข้น 10^2 - 10^4 จากนั้นทำการเพาะเชื้อด้วยวิธี Spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSA ที่วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2-3 วัน

5.1.4 เลือกโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะต่างกันในที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MSA เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันเครื่องในการทดลองต่อไป

5.2 การศึกษาผลการย่อยสลายน้ำมันของจุลินทรีย์ที่แยกได้

5.2.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salts broth (MSB) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่มี ส่วนประกอบของน้ำมันเครื่อง 2%

5.2.2 เลือกจุลินทรีย์ที่แยกได้จากการทดลองที่ 5.1 มาทั้งหมด 4 ไอโซเลต แต่ละ ไอโซเลตประกอบด้วยชุดการทดลองดังต่อไปนี้

- 1) เติมจุลินทรีย์เพียงอย่างเดียว
- 2) ไม่มีการเติมใดๆ
- 3) เติมจุลินทรีย์ร่วมกับน้ำยาซักผ้าความเข้มข้น 6%
- 4) เติมน้ำยาซักผ้าความเข้มข้น 6% เพียงอย่างเดียว

5.2.3 วิเคราะห์ TPH โดยการเติมสารละลาย toluene 10 มิลลิลิตร เพื่อสกัดน้ำมันส่วนที่เหลือ เพื่อตรวจวัดเปอร์เซ็นต์การย่อยสลาย TPH ของจุลินทรีย์ ด้วยเครื่อง UV-spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ในวันที่ 3, 7 และ 15 ของการทดลอง ทั้งหมด 2 ซ้ำ

6. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

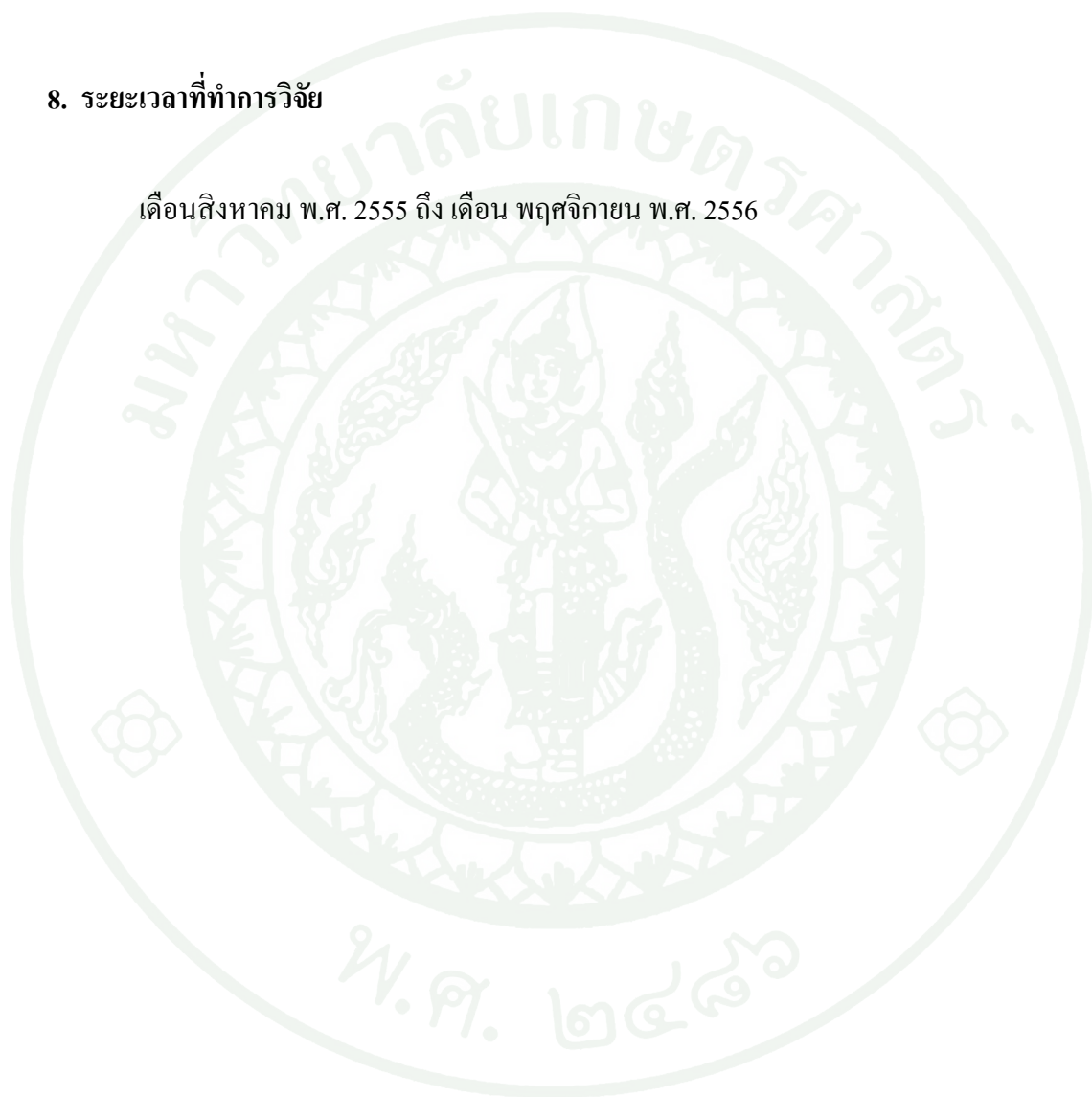
เปรียบเทียบผลการศึกษาด้วยวิธี One Way Anova ใช้วิธีการเปรียบเทียบเชิงซ้อน ซึ่งอยู่ในกรอบของ equal variances assumed (ค่าแปรปรวนของแต่ละทรีตเมนต์เท่ากัน) เลือกวิธี LSD และ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

7. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการอาคารทวิฐานสุคนธ์ ชั้น 10 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
บางเขน

8. ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2555 ถึง เดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2556



ผลและวิจารณ์

ผล

งานวิจัยนี้ศึกษาประสิทธิภาพการกระตุ้นกระบวนการฟื้นฟูทางชีวภาพของดินปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง ด้วยการเติมกากชีวภาพหรือน้ำยาซักผ้า โดยวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอน (OC) ปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด (Total Petroleum Hydrocarbon: TPH) และจุลินทรีย์ หลังจากนั้นจึงนำชุดการทดลองการเติมกากชีวภาพที่เหมาะสมไปใช้ในการทดลองกำจัดน้ำมันเครื่อง ร่วมกับน้ำยาซักผ้า โดยมีการตรวจกิจกรรมเอนไซม์ dehydrogenase (dehydrogenase activity) ของจุลินทรีย์ในดินร่วมด้วย เพื่อชี้บ่งชี้ความสัมพันธ์กับการลดลงของ TPH และ OC

1. การศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพทางเคมีของดินตัวอย่าง และกากชีวภาพที่นำมาศึกษา

1.1 ลักษณะทางกายภาพ และเคมีของดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง

ตัวอย่างดินที่นำมาใช้ในการทดลองในครั้งนี้ มีลักษณะสีดำ เนื้อดินร่วน มีกลิ่นน้ำมันชัดเจน (ภาพที่ 23) ผลการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการได้แสดงผลไว้ในตารางที่ 7



ภาพที่ 23 ดินตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 7 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของดินที่ใช้ในการทดลอง

ลักษณะทางกายภาพและเคมี	ผล
Soil Texture	
- Sand (%)	56
- Silt (%)	18
- Clay (%)	26
pH	9.41
Moisture (%)	16
Heterotrophic bacteria (MPN/g)	7.1×10^6
Total petroleum hydrocarbon (TPH) (mg/kg)	1,130
Organic carbon (OC) (%)	3.40
Potassium (K) (mg/kg)	168.46
Available phosphorus (%)	0.05
Total Nitrogen (%)	0.20
Chromium (Cr) (mg/kg)	893.66
Nickel (Ni) (mg/kg)	59.03
Cadmium (Cd) (mg/kg)	1.14
Lead (Pb) (mg/kg)	199.48

1.2 ลักษณะทางกายภาพ และทางเคมี ในกากชีวภาพ

ตัวอย่างกากชีวภาพที่ใช้ในการทดลอง (ภาพที่ 24) เมื่อตรวจสอบในห้องปฏิบัติการ ได้ผลดังตารางที่ 8 โดยกากชีวภาพที่นำมาทดสอบมีปริมาณธาตุอาหารสูง โดยตรวจพบ OC 16.67% ในโตรเจน 4.17% และฟอสฟอรัส 1.43% เทียบเป็นค่า C : N : P เท่ากับ 100 : 25 : 9 นอกจากนี้ยังมีความชื้นสูง ตรวจพบจุลินทรีย์ 7.80×10^9 MPN/g เมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับตัวอย่างดินพบว่ากากชีวภาพมีปริมาณจุลินทรีย์ สารอินทรีย์คาร์บอน และธาตุอาหารสูงกว่าตัวอย่างดิน ดังนั้นกากชีวภาพจึงเป็นตัวอย่างที่น่าสนใจในการเติมลงไปกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ในการย่อยสลายน้ำมันเครื่องในดินให้ดียิ่งขึ้น



ภาพที่ 24 ลักษณะของกากชีวภาพที่นำมาใช้ในการทดลอง

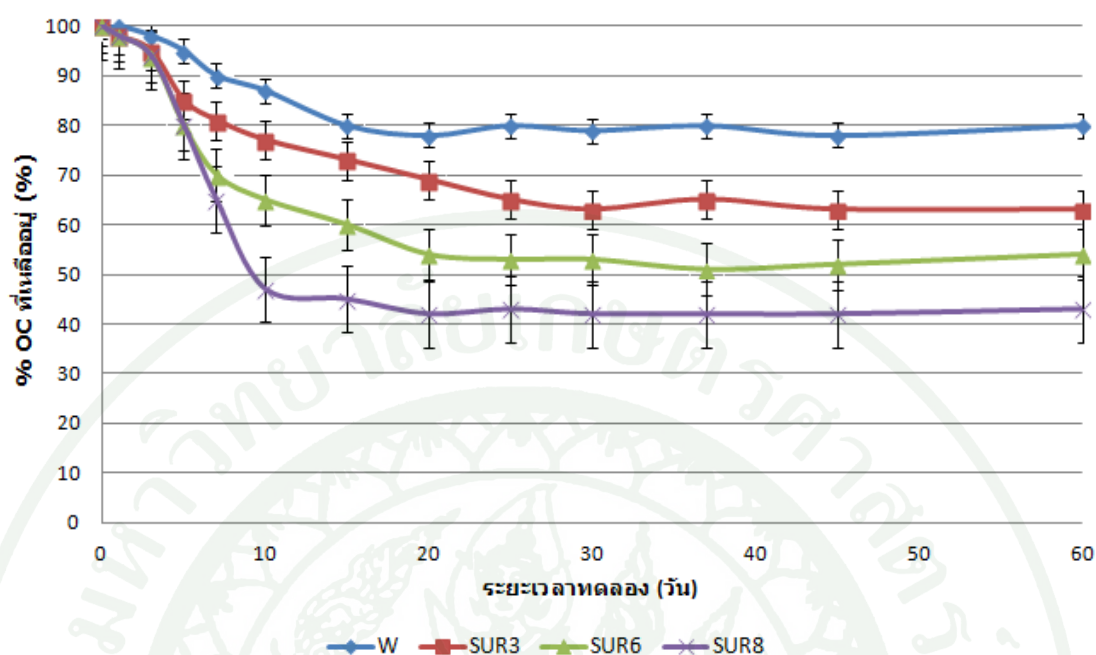
ตารางที่ 8 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของกากชีวภาพ

ลักษณะทางกายภาพและเคมี	ผล
C/N ratio	3.98:1
Moisture (%)	79
pH	7.71
Available phosphorus (%)	1.43
Organic carbon (OC) (%)	16.67
Total Nitrogen (%)	4.17
Heterotrophic bacteria (MPN/g)	7.80×10^9
Potassium (Total K ₂ O) (mg/kg)	14.00
Cadmium (Cd) (mg/kg)	1.13
Lead (Pb) (mg/kg)	118.44
Nickel (Ni) (mg/kg)	526.63
Mercury (Hg) (mg/kg)	1.25
Arsenic (AS) (mg/kg)	8.04

2. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันเครื่องที่ปนเปื้อนในดินเมื่อเติมน้ำยาซักผ้า

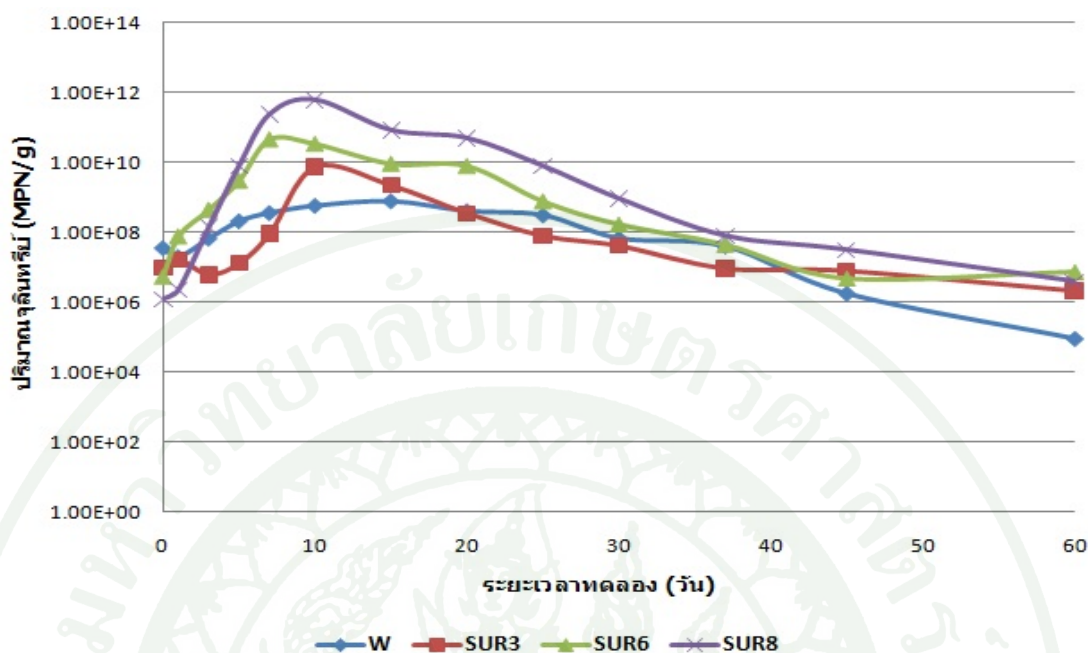
การเติมน้ำยาซักผ้าลงไปดินตัวอย่างที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง ไม่มีผลต่อ OC และ TPH โดยทุกชุดการทดลองมีค่า OC และ TPH ใกล้เคียงกันที่ 3.33 - 3.35% และ 1,057 - 1,143 mg/kg ตามลำดับ สำหรับปริมาณจุลินทรีย์พบว่าชุดที่มีการเติมน้ำยาซักผ้ามีปริมาณจุลินทรีย์แปรผันกับความเข้มข้นของน้ำยาซักผ้า โดยก่อนเติมน้ำยาซักผ้าทุกชุดมีจุลินทรีย์อยู่ในช่วง $2.10-3.60 \times 10^7$ MPN/g เมื่อเติมน้ำยาซักผ้า 3%, 6% และ 8% พบว่าจุลินทรีย์มีค่าลดลงตามสัดส่วนน้ำยาซักผ้าที่เติม ตรวจพบเท่ากับ 9.40×10^6 , 5.50×10^6 MPN/g และ 1.20×10^6 MPN/g ตามลำดับ ส่วนชุดที่มีการเติมน้ำกลั่น (W) ปริมาณจุลินทรีย์จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ตรวจวัดได้เท่ากับ 3.60×10^7 MPN/g

เมื่อนำตัวอย่างดินมาวิเคราะห์ OC ตามระยะเวลาที่กำหนดพบว่า แบบแผนการลดลงระหว่าง OC ในชุดควบคุมที่เติมน้ำกลั่น (W) และชุดที่เติมน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ มีความแตกต่างกันชัดเจน (ภาพที่ 25) โดยค่า OC ในชุดควบคุมมีการลดลงอย่างช้าๆ จนถึงวันที่ 20 ตรวจพบ OC เท่ากับ 78% จากนั้นปริมาณ OC จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงจนสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งต่างจากชุดที่เติมน้ำยาซักผ้าทุกชุดมีอัตราการย่อยสลาย OC สูงกว่า โดยชุดที่เติมน้ำยาซักผ้า 8% (SUR⁸) พบการลดลงของ OC สูงที่สุด ในวันที่ 10 ตรวจพบ OC 47% จากนั้นค่า OC ลดลงเล็กน้อยถึงวันที่ 20 ตรวจพบได้ OC 43% สำหรับชุดเติมน้ำยาซักผ้า 6% (SUR⁶) พบว่ามีการย่อยสลาย OC อย่างรวดเร็วในวันที่ 7 ตรวจพบ OC 70% จากนั้นค่า OC จะลดลงอย่างช้าๆ จนถึงวันที่ 20 ตรวจพบ OC เท่ากับ 54% จากนั้นค่า OC จะไม่เปลี่ยนแปลงจนสิ้นสุดการทดลอง ส่วนชุดเติมน้ำยาซักผ้า 3% (SUR³) มีการลดลงของ OC อย่างรวดเร็วในวันที่ 5 ตรวจพบ OC 85% จากนั้นค่า OC ยังลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 30 ตรวจพบ OC 63%



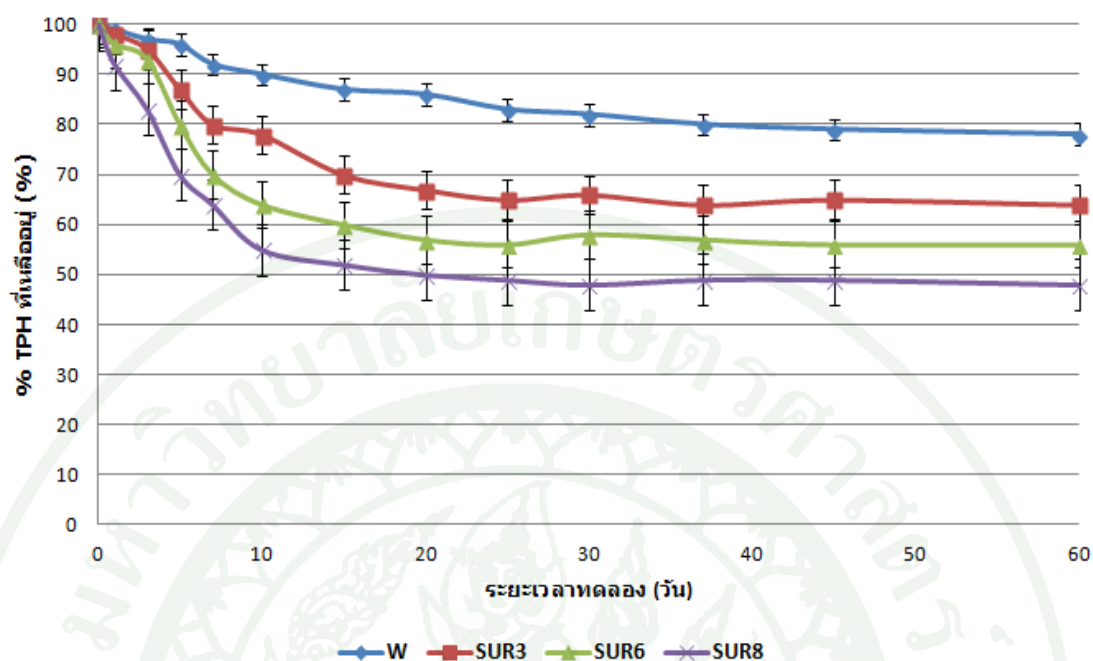
ภาพที่ 25 เปอร์เซนต์สารอินทรีย์ที่เหลืออยู่ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมน้ำยาซักผ้า (SUR) ความเข้มข้นต่างกัน

สำหรับปริมาณจุลินทรีย์พบว่าเมื่อเติมน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ ส่งผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ตอนเริ่มต้นการทดลองมีค่าลดลงตามสัดส่วนของน้ำยาซักผ้า โดยชุด SUR⁸ พบการลดลงของจุลินทรีย์มากที่สุด รองลงคือ SUR⁶ และ SUR³ ตามลำดับ ส่วนชุดเติมน้ำกลั่นไม่มีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์ เมื่อการทดลองผ่านไปพบว่าชุดที่เติมน้ำยาซักผ้าทุกชุดมีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น โดยชุดเติมน้ำยาซักผ้าทุกชุดการจะมีแนวโน้มการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์สูงกว่าชุดที่เติมน้ำกลั่น (ภาพที่ 26) โดยในช่วง 10 วันแรก ปริมาณ OC ทุกชุดการทดลองมีอัตราการลดลงสูงซึ่งสอดคล้องกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว จากนั้นจุลินทรีย์ในชุดเติมน้ำยาซักผ้าทุกชุดจะมีลดลงอย่างต่อเนื่องจนสิ้นสุดการทดลอง ต่างจากชุดเติมน้ำกลั่นที่ยังมีการเจริญของจุลินทรีย์ถึงวันที่ 25 จากนั้นปริมาณจุลินทรีย์จะมีค่าลดลงจนครบ 60 วัน



ภาพที่ 26 ปริมาณจุลินทรีย์ระยะเวลาลดลงเมื่อเติมน้ำยาซักผ้าตามความเข้มข้นต่างกัน

ในส่วนของ TPH พบว่าการลดลงของ TPH ใกล้เคียงกับ OC โดยชุดที่เติมน้ำยาซักผ้าทุกชุดมีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH สูงกว่าชุดเติมน้ำกลั่น (W) ชัดเจน (ดังภาพที่ 27) ชุดเติมน้ำกลั่นมีการลดลงของ TPH อย่างช้าๆ พบการลดลงจนถึงวันที่ 60 ตรวจพบ TPH 78% โดยชุด SUR⁸ มีการลดลงของ TPH แตกต่างจากชุดอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัดตั้งแต่วันที่ 3 ตรวจพบ TPH 83% เมื่อเทียบกับชุดอื่นๆ ตรวจพบ TPH อยู่ในช่วง 91 - 97% โดย TPH ในชุด SUR⁸ มีการลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงวันที่ 10 ตรวจพบ TPH 55% และลดลงอีกเล็กน้อยจนถึงวันที่ 20 ตรวจพบ TPH 48% สำหรับชุด SUR⁶ พบว่ามีอัตราการกำจัด TPH สูงกว่าชุด SUR³ โดยชุด SUR⁶ มีอัตราการกำจัด TPH สูงสุดในวันที่ 10 ตรวจพบ TPH 64% จากนั้น TPH มีค่าลดลงเล็กน้อยจนถึงวันที่ 25 แล้ว TPH จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงจนถึงสิ้นสุดการทดลองตรวจพบ TPH 57% ส่วนชุด SUR³ มีอัตราการกำจัด TPH สูงที่สุดในวันที่ 7 ตรวจพบ TPH 80% และยังพบการลดลงของ TPH จนถึงวันที่ 40 ของการทดลอง จากนั้น TPH จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงตรวจพบ TPH 65%



ภาพที่ 27 เปอร์เซนต์สารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (TPH) ที่เหลืออยู่ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมน้ำยาซักผ้า (SUR) ตามความเข้มข้นต่างกัน

เมื่อนำข้อมูลประสิทธิภาพการกำจัด TPH มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA ได้ผลดังตารางที่ 9 พบว่าชุดการทดลองที่เติมน้ำซักผ้าทุกชุดมีประสิทธิภาพการกำจัด TPH แตกต่างจากชุดควบคุมที่เติมน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99.5% ($p < 0.05$)

ชุด Sur⁸ และ Sur⁶ มีประสิทธิภาพการกำจัด TPH แตกต่างจากชุด Sur³ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99.5% ($p < 0.05$) ในวันที่ 10 ของการทดลอง เมื่อเข้าสู่วันที่ 20 ชุด Sur⁸ มีประสิทธิภาพการกำจัด TPH ไม่แตกต่างกันกับชุด Sur⁶

การเติมน้ำกลั่นในการทดลองนี้พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 60 วัน TPH ไม่แตกต่างกันกับในวันเริ่มต้นการทดลอง ซึ่งต่างจากชุด Sur⁸, Sur⁶ และ Sur³ ที่มี TPH แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99.5% กับวันเริ่มต้นการทดลองในวันที่ 20

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติในการเติมน้ำยาซักผ้าของ TPH

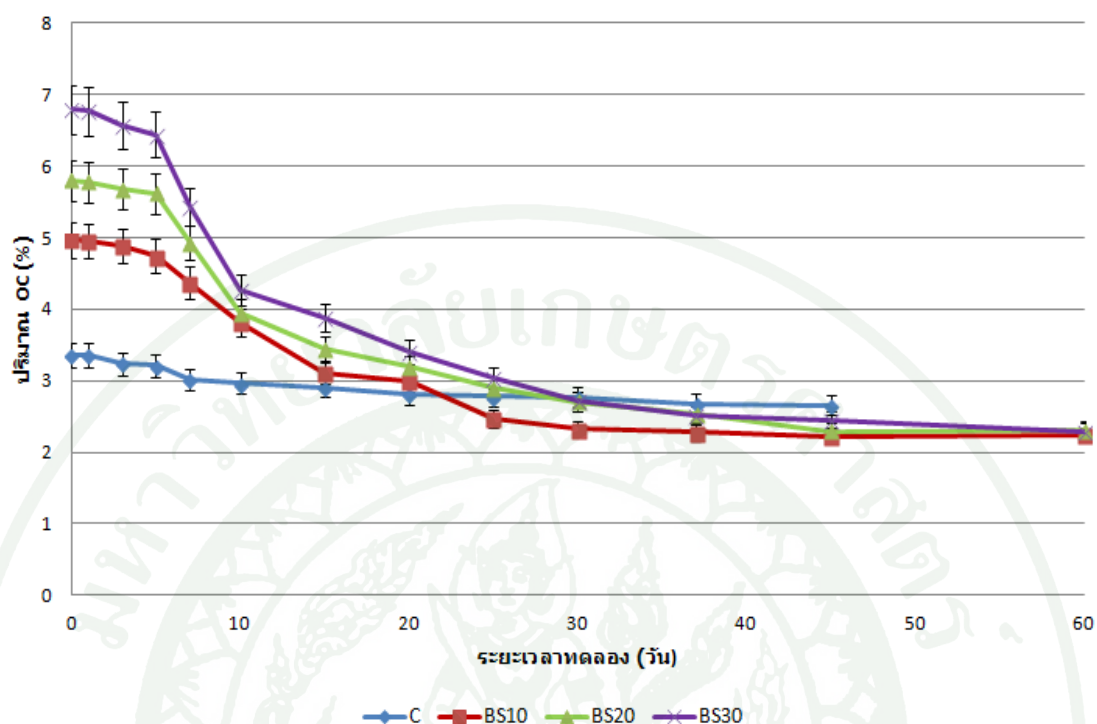
ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณ TPH (mg/kg)			
	W	ชุดการทดลอง		
		Sur ³	Sur ⁶	Sur ⁸
ก่อนเติม	1,203 ± 133 ^(a,1)	1,142 ± 138 ^(a,1)	1,163 ± 120 ^(a,1)	1,226 ± 103 ^(a,1)
หลังเติม	1,143 ± 136 ^(a,1)	1,057 ± 138 ^(a,1)	1,090 ± 131 ^(a,1)	1,103 ± 108 ^(a,1)
10	1,028 ± 72 ^(a,1)	824 ± 107 ^(a,2)	697 ± 162 ^(a,3)	606 ± 120 ^(a,3)
20	982 ± 79 ^(a,1)	708 ± 105 ^(b,2)	621 ± 123 ^(b,2,3)	551 ± 94 ^(b,3)
30	937 ± 95 ^(a,1)	697 ± 137 ^(b,2)	632 ± 103 ^(b,2,3)	529 ± 108 ^(b,3)
60	891 ± 60 ^(a,1)	673 ± 105 ^(b,2)	603 ± 46 ^(b,2,3)	522 ± 72 ^(b,3)

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
ตัวเลขที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันเครื่องที่ปนเปื้อนในดินเมื่อเติมกากชีวภาพ

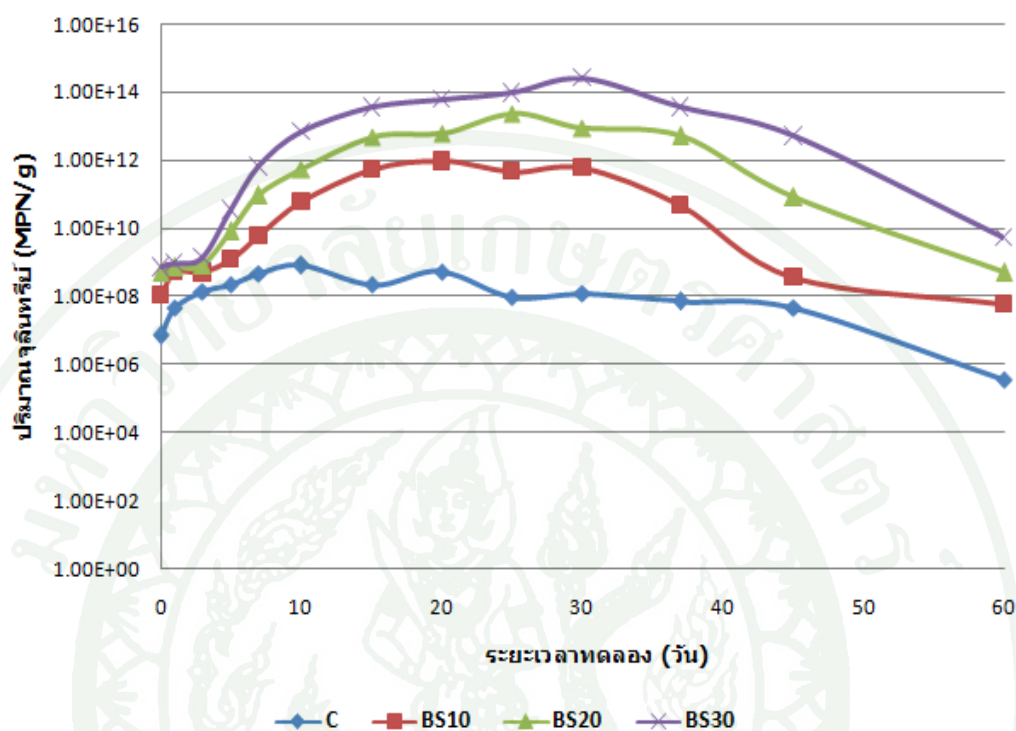
เมื่อเติมกากชีวภาพในดินที่ปนเปื้อนน้ำมันเครื่อง พบว่าปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอน (OC) และจุลินทรีย์ มีค่าสูงขึ้นตามสัดส่วนของกากชีวภาพที่เติม โดยชุดที่เติมกากชีวภาพ 30% (BS³⁰) เป็นชุดที่มี OC และจุลินทรีย์สูงที่สุด ตรวจพบ OC $6.79 \pm 0.68\%$ มีปริมาณจุลินทรีย์ 7.40×10^8 MPN/g รองลงมาคือชุดที่เติมกากชีวภาพ 20% (BS²⁰) และชุดที่เติมกากชีวภาพ 10% (BS¹⁰) ทั้ง 2 ชุดตรวจพบ OC $5.80 \pm 0.62\%$ และ $4.97 \pm 0.65\%$ มีปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ 4.90×10^8 และ 1.10×10^8 MPN/g ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุม (C) คือชุดที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพ ตรวจพบ OC และจุลินทรีย์น้อยที่สุดที่ $3.35 \pm 0.35\%$ และ 7.10×10^6 MPN/g ตามลำดับ

เมื่อทำการเก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ OC ตามระยะเวลาต่างๆ พบว่าทุกการทดลอง ค่า OC จะลดลงเล็กน้อยใน 5 วันแรก หลังจากนั้นแบบแผนการลดลงของ OC ชุดที่เติมกากชีวภาพ เริ่มมีความแตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่เติมกากชีวภาพ (C) อย่างชัดเจน (ดังภาพที่ 28) โดยชุดควบคุมมีการย่อยสลาย OC ต่ำที่สุด มีการลดลงของ OC อย่างช้าๆ จนถึงวันที่ 37 จากนั้นค่า OC จะไม่เปลี่ยนแปลง สามารถย่อยสลาย OC ได้ $0.67 \pm 0.32\%$ โดยชุด BS³⁰ และ BS²⁰ มีการลดลงของ OC อย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 5-10 สามารถย่อยสลาย OC ได้ $2.52 \pm 0.31\%$ และ $1.85 \pm 0.64\%$ ตามลำดับ จากนั้นทั้ง 2 ชุดการทดลองยังมีการลดลงของ OC แบบช้าๆ จนถึงวันที่ 45 สามารถย่อยสลาย OC ได้ $4.49 \pm 0.35\%$ และ $3.48 \pm 0.43\%$ ตามลำดับ ส่วนชุด BS¹⁰ ปริมาณ OC มีลดลงอย่างต่อเนื่อง ในช่วงวันที่ 5-15 ย่อยสลาย OC ได้ $1.86 \pm 0.41\%$ จากนั้นการย่อยสลาย OC จะต่ำลง ต้องรอถึงวันที่ 20 ถึงจะพบการลดลงของ OC อีกครั้ง โดยค่า OC จะลดลงเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 30 จากนั้นค่า OC จะไม่พบการเปลี่ยนแปลง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง 60 วัน ชุด BS¹⁰ มีการย่อยสลาย $2.73 \pm 0.95\%$



ภาพที่ 28 ปริมาณสารอินทรีย์ที่เหลืออยู่ตามระยะเวลาทดลอง เมื่อเติมกากชีวภาพ (BS) ความเข้มข้นต่างๆ กัน

สำหรับปริมาณจุลินทรีย์พบว่าในช่วง 5 วันแรกของการทดลอง ปริมาณจุลินทรีย์ทุกชุดมีการเพิ่มจำนวนอย่างช้าๆ ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของ OC (ภาพที่ 29) จากนั้นปริมาณจุลินทรีย์ทุกชุดจะเพิ่มสูงขึ้น โดยชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพ (C) พบการเจริญของจุลินทรีย์อย่างช้าๆ จนถึงวันที่ 10 จากนั้นจะมีการเจริญแบบขึ้นๆ ลงๆ และเริ่มมีปริมาณคงที่ในวันที่ 25 จนถึงวันที่ 45 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุด C จะลดลงจนถึงวันที่ 60 ต่างจากชุดที่เติมกากชีวภาพที่มีการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์อย่างรวดเร็ว ในระหว่างวันที่ 5-15 ซึ่งสอดคล้องกับ OC ที่พบว่าในช่วงนี้ OC มีการลดลงเป็นจำนวนมาก จากนั้นปริมาณจุลินทรีย์ในชุดที่เติมกากชีวภาพเริ่มมีค่าคงที่ เมื่อถึงวันที่ 37 ปริมาณจุลินทรีย์ชุด BS¹⁰, BS²⁰ และ BS³⁰ จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงวันที่ 60 ของการทดลอง

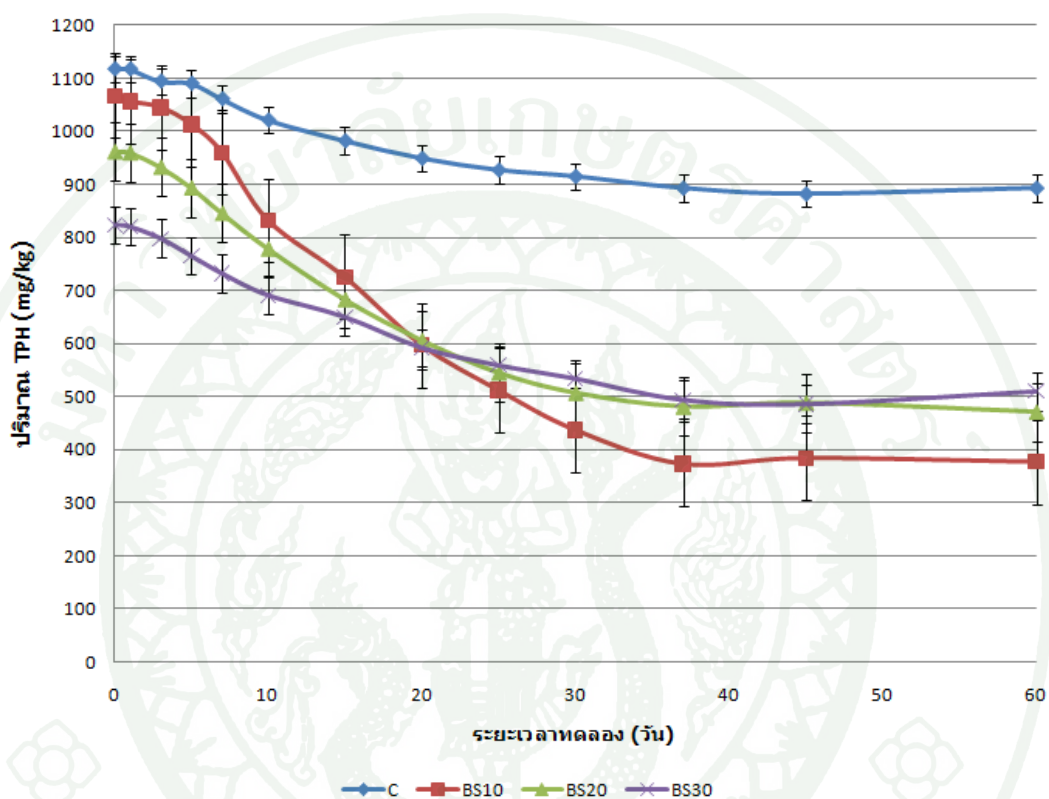


ภาพที่ 29 ปริมาณจุลินทรีย์ที่พบตามระยะเวลาในการทดลองเมื่อเติมกากชีวภาพ (BS) ความเข้มข้นต่างกัน

การเติมกากชีวภาพสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ได้ดีขึ้นทุกชุดการทดลอง (ดังภาพที่ 30) ก่อนการทดลองพบว่าเมื่อเติมกากชีวภาพในสัดส่วนที่ต่างกัน TPH จะลดลงตาม สัดส่วนของกากชีวภาพที่เติมลงไป ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพ (C) จะมีค่า TPH สูงที่สุด $1,117 \pm 157$ mg/kg รองลงมาคือชุดเติมกากชีวภาพ 10% (BS^{10}), 20% (BS^{20}) และ 30% (BS^{30}) มีค่า TPH $1,067 \pm 134$ mg/kg, 962 ± 116 mg/kg และ 823 ± 120 mg/kg ตามลำดับ เนื่องจากปริมาณ ตัวอย่างดินที่ใช้ในการทดลองลดลง ปริมาณ TPH จึงลดลงตามอัตราส่วนกากชีวภาพที่เติมลงไป

การกำจัด TPH ชุดที่เติมกากชีวภาพทุกชุดมีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH สูงกว่าชุด ควบคุมที่ไม่เติมกากชีวภาพ (C) ชัดเจน ชุด C มีการกำจัด TPH อย่างช้าๆ จนถึงวันที่ 37 สามารถ กำจัด TPH ได้ 224 ± 82.62 mg/kg โดยชุด BS^{10} เป็นชุดที่มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH สูงที่สุด พบการลดลงของ TPH สูงในช่วงวันที่ 5-37 กำจัด TPH ได้ 694 ± 62.50 mg/kg จากนั้นค่า TPH จะไม่ มีการเปลี่ยนแปลงจนครบ 60 วัน แตกต่างจากชุด BS^{20} และ BS^{30} ที่พบว่ามีความโน้มการกำจัด TPH

ต่ำกว่าชุด BS¹⁰ โดยในวันที่ 37 ชุด BS²⁰ และ BS³⁰ กำจัด TPH ได้ 482 ± 97.01 mg/kg และ 327 ± 94.40 mg/kg ตามลำดับ จากนั้นค่า TPH ทุกชุดการทดลองจะมีค่าคงที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงจนครบ 60 วัน



ภาพที่ 30 ปริมาณสารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (TPH) ที่ถูกกำจัดตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมกากชีวภาพ (BS) ความเข้มข้นต่างๆกัน

เมื่อนำข้อมูลการทดลองของ TPH มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA ได้ผลดังตารางที่ 10 พบว่าชุดที่เติมกากชีวภาพทุกชุดการทดลองมีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH สูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่เติมกากชีวภาพ (C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99.5% ($P < 0.05$) โดยชุด BS¹⁰ มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ไม่แตกต่างกับชุด BS²⁰ ทั้ง 60 วัน แต่จะมีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99.5% ($P < 0.05$) กับชุด BS³⁰ ในวันที่ 20 และ BS²⁰ มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ไม่แตกต่างกับชุด BS³⁰ ทั้ง 60 วัน และชุด BS¹⁰, BS²⁰ และ BS³⁰ เห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99.5% ($P < 0.05$) ในการกำจัด TPH ในวันที่ 20 ของการทดลอง ซึ่งต่างจากชุด C ที่ทั้ง 60 วันนั้นไม่พบความแตกต่าง

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติในการเติมกากชีวภาพของ TPH

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณ TPH (mg/kg)			
	ดิน (C)	ชุดการทดลอง		
		BS ¹⁰	BS ²⁰	BS ³⁰
ก่อนเติม	1,117 ± 157 ^(a,1)	1,213 ± 185 ^(a,1)	1,140 ± 96 ^(a,1)	1,106 ± 120 ^(a,1)
หลังเติม	-	1,067 ± 134 ^(a,1)	962 ± 116 ^(a,1)	823 ± 120 ^(a,1)
10	1,021 ± 112 ^(a,1)	832 ± 105 ^(a,1)	775 ± 105 ^(a,1)	691 ± 126 ^(a,1)
20	949 ± 95 ^(a,1)	597 ± 93 ^(b,2)	606 ± 80 ^(b,2)	592 ± 151 ^(b,2)
30	915 ± 120 ^(a,1)	437 ± 106 ^(b,2)	507 ± 64 ^(b,2,3)	534 ± 81 ^(b,3)
60	893 ± 86 ^(a,1)	377 ± 93 ^(b,2)	471 ± 77 ^(b,2,3)	510 ± 91 ^(b,3)

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

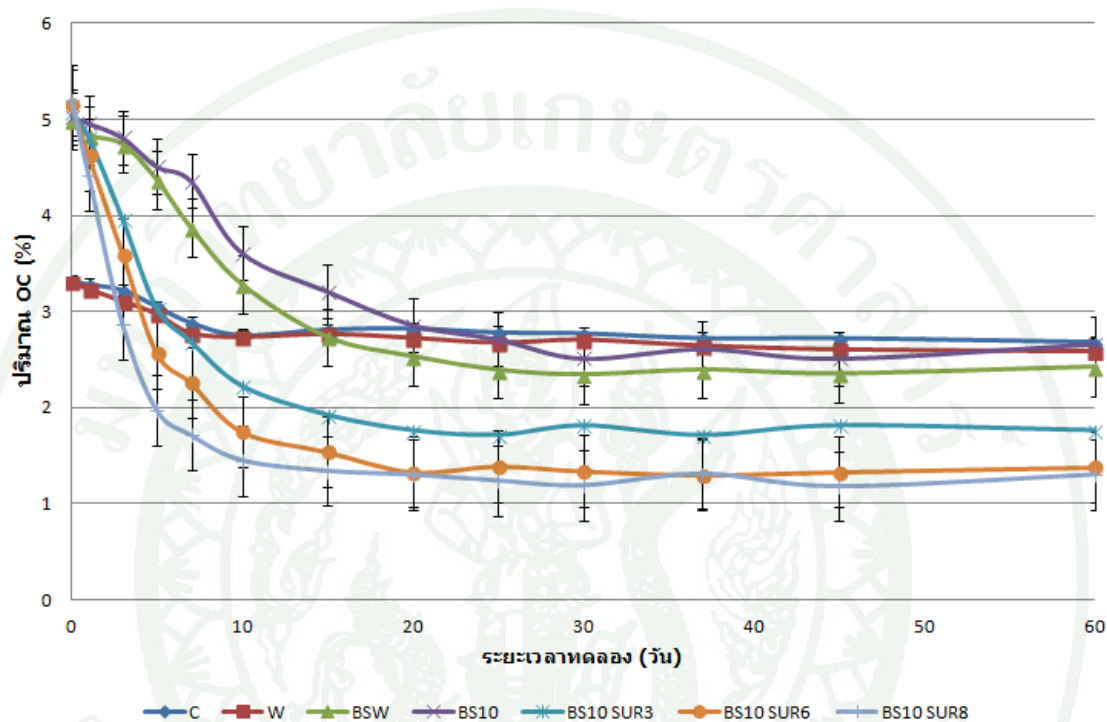
ตัวเลขที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันเครื่องที่ปนเปื้อนในดินเมื่อเติมกากชีวภาพร่วมกับน้ำยาซักผ้า

การเติมน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ (3%, 6% และ 8%) และน้ำกลั่น ร่วมกับกากชีวภาพ 10% ซึ่งเป็นชุดที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการกำจัด TPH ในการทดลองที่ 3 (การเติมกากชีวภาพ) พบว่าก่อนเติมกากชีวภาพ น้ำยาซักผ้า และน้ำกลั่น ทุกชุดมีค่า OC เท่ากับ 3.30-3.35% เมื่อเติมสารทั้ง 3 ชนิด พบว่าปริมาณ OC ชุดที่เติมกากชีวภาพ 10% ทุกชุดการทดลองมีค่า OC สูงขึ้น ตรวจวัด OC ได้เท่ากับ 4.98% - 5.20% ส่วนชุดควบคุมที่เติมน้ำกลั่นชนิดเดียว (W) พบว่ามี OC ไม่แตกต่างจากชุดที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพ (C) โดยตรวจพบ OC เท่ากับ 3.30% และ 3.32% ตามลำดับ นอกจากนี้การเติมกากชีวภาพยังมีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์และกิจกรรม dehydrogenase activity (DHA) ในดิน ก่อนการทดลองทุกชุดมีปริมาณจุลินทรีย์ และ DHA ใกล้เคียงกันประมาณ $1.80 - 6.10 \times 10^6$ MPN/g และ $33-37 \mu\text{g TPF/g}$ ตามลำดับ หลังจากเติมกากชีวภาพ 10% พบว่าทุกชุดมีจุลินทรีย์ และ DHA เพิ่มขึ้น ตรวจวัดจุลินทรีย์ได้ $3.7 \times 10^7 - 1.8 \times 10^8$ MPN/g และ DHA $50-67 \mu\text{g TPF/g}$ ซึ่งต่างจากชุด W ที่พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ และ DHA ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

เมื่อทำการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ OC พบว่าแบบแผนการลดลงของ OC (ดังภาพที่ 31) สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มคือ 1) กลุ่มที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพ 2) กลุ่มที่เติมกากชีวภาพแต่ไม่มีการเติมน้ำยาซักผ้า และ 3) กลุ่มที่เติมกากชีวภาพร่วมกับน้ำยาซักผ้า โดยกลุ่มที่เติมกากชีวภาพร่วมกับน้ำยาซักผ้าพบการลดลง OC สูงกว่าอีก 2 กลุ่ม ซึ่งสามารถเห็นถึงความแตกต่างตั้งแต่สัปดาห์แรกของการทดลอง โดยชุดที่เติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8% ($BS^{10}SUR^8$) เป็นชุดพบการลดลงของ OC สูงที่สุด รองลงมาคือชุดเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 6% ($BS^{10}SUR^6$) และ ชุดเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 3% ($BS^{10}SUR^3$) โดยพบการลดลงของ OC อย่างรวดเร็วในช่วง 10 วันแรกของการทดลอง มีการย่อยสลาย OC เท่ากับ $3.77 \pm 0.23\%$, $3.40 \pm 0.14\%$ และ 2.85 ± 0.16 ตามลำดับ จากนั้น OC ทั้ง 3 ชุด มีค่าลดลงเล็กน้อยจนถึงวันที่ 20 ตรวจวัดการย่อยสลายของ OC ได้ $3.90 \pm 0.12\%$, $3.85 \pm 0.15\%$ และ $3.31 \pm 0.30\%$ ตามลำดับ ต่างจากกลุ่มที่เติมกากชีวภาพแต่ไม่เติมน้ำยาซักผ้าที่มีช่วงการย่อยสลาย OC นาน ในช่วง 5 วันแรกของการทดลองพบการลดลงของ OC ต่ำ หลังจากนั้นจะพบการลดลงของ OC อย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 5-30 โดยชุดเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำกลั่น (BSW) มีการลดลงของ OC ไม่แตกต่างจากชุดเติมกากชีวภาพ 10% ชนิดเดียว (BS^{10}) ชุด BSW มีการย่อยสลาย OC เท่ากับ $2.63 \pm 0.18\%$ ส่วนชุด BS^{10} ย่อยสลาย OC ได้ $2.59 \pm 0.24\%$ ตามลำดับ จากนั้นปริมาณ OC ทั้ง 2 จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงจนถึงวันที่ 60 ของการทดลอง ในส่วนกลุ่มที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพ พบว่าชุดควบคุม C และชุด W มีการลดลงของ OC ไม่

ต่างกันทั้ง 60 วัน โดยชุด W และชุด C มีย่อยสลาย OC อย่างช้าๆ จนถึงวันที่ 10 ของการทดลอง จากนั้น ค่า OC จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงจนครบ 60 วัน โดยทั้ง 2 ชุด สามารถย่อยสลาย OC ได้ $0.75 \pm 0.22\%$ และ $0.63 \pm 0.14\%$ ตามลำดับ

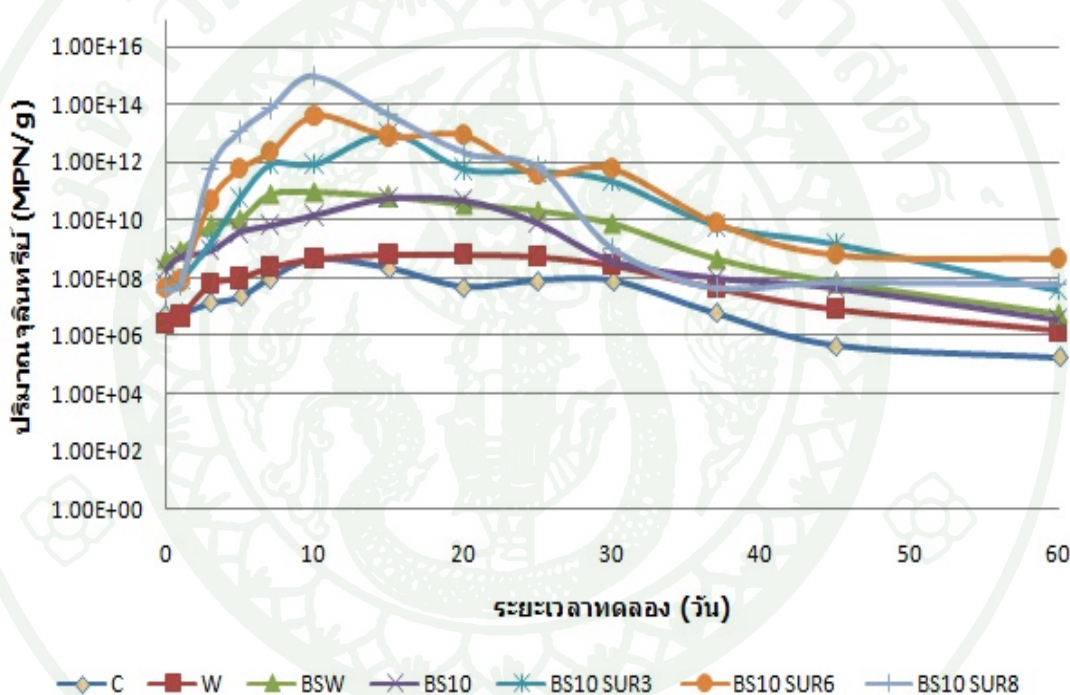


ภาพที่ 31 ปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอนที่เหลืออยู่ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมกากชีวภาพ น้ำกลั่น และ น้ำยาซักผ้าตามความเข้มข้นต่างกัน

ส่วนปริมาณจุลินทรีย์แสดงผลดังภาพที่ 32 พบว่าปริมาณจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับ OC แบบผกผัน คือปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นในขณะที่ OC ลดลง โดยทั้ง 3 กลุ่ม (1)ไม่มีการเติมกากชีวภาพ 2) เติมกากชีวภาพแต่ไม่มีการเติมน้ำยาซักผ้า และ 3) เติมกากชีวภาพร่วมกับน้ำยาซักผ้า มีการเจริญของจุลินทรีย์แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยชุดกากชีวภาพ 10% และน้ำยาซักผ้าทุกความเข้มข้น จะพบการเจริญของจุลินทรีย์สูงตั้งแต่ต้นของการทดลอง และพบการเจริญจนถึงวันที่ 15 ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของ OC ที่หายไปสูงมาก โดยชุด BS¹⁰SUR⁸ เป็นชุดที่มีการเจริญของจุลินทรีย์ดีที่สุด รองลงมาคือ ชุด BS¹⁰SUR⁶ และ BS¹⁰SUR³ ตามลำดับ จากนั้นจุลินทรีย์ในชุด BS¹⁰SUR⁸ จะลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่วันที่ 15 แตกต่างจากชุด BS¹⁰SUR⁶ และ BS¹⁰SUR³ ที่ยังพบการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย และลดลงจนถึงวันที่ 60 สำหรับชุดที่เติมกากชีวภาพแต่ไม่มีการเติมน้ำยาซักผ้าพบว่า ชุด BSW และ BS¹⁰ ในช่วง 5 วันแรกมีการเจริญของจุลินทรีย์อย่างช้าๆ ซึ่งสอดคล้องกับ

การลดลงของ OC จากนั้นการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชุดจะมีค่าใกล้เคียงกัน พบการเจริญของจุลินทรีย์ถึงวันที่ 15 จากนั้นปริมาณจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชุดจะมีค่าคงที่ และลดลงอย่างต่อเนื่องในวันที่ 25 จนถึงสิ้นสุดการทดลอง 60 วัน

ในส่วนของชุด W และชุด C พบการเจริญของจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกัน พบการเจริญของจุลินทรีย์จนถึงวันที่ 10 จากนั้นชุด W มีปริมาณจุลินทรีย์คงที่จนถึงวันที่ 30 ปริมาณจุลินทรีย์จึงลดลง แต่ชุด C พบว่ามีการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์เร็วกว่าชุด W ตั้งแต่วันที่ 15

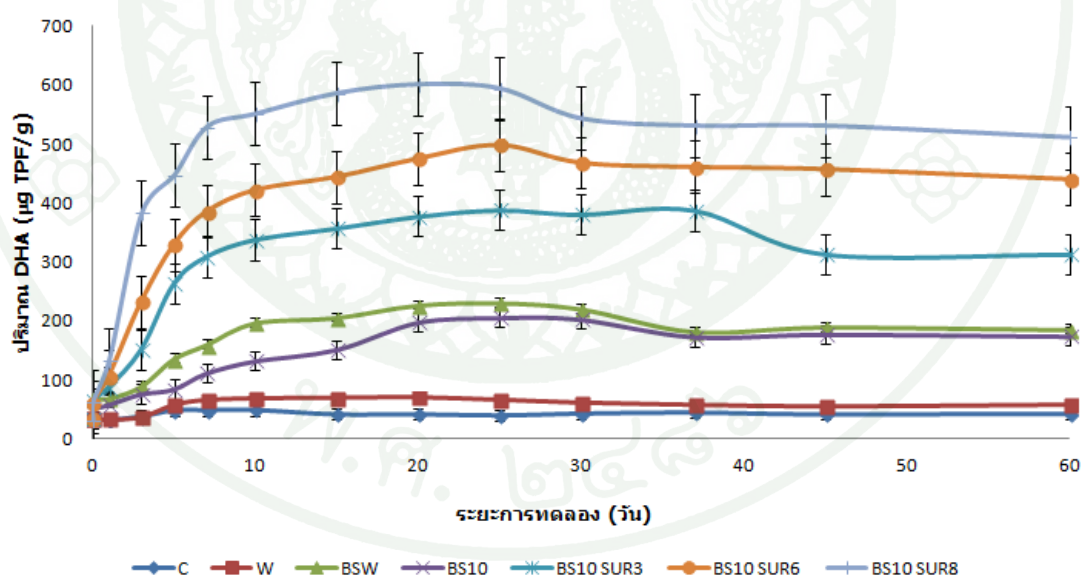


ภาพที่ 32 ปริมาณจุลินทรีย์ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมกากชีวภาพ น้ำกลั่น และน้ำยาซักผ้าตามความเข้มข้นต่างๆกัน

ในการทดลองนี้มีการตรวจ dehydrogenase activity (DHA) เพิ่มเติม โดยพิจารณาจากการเปลี่ยนแปลงของ 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) เป็น triphenyl formazan (TPF) เพื่อตรวจสอบแนวโน้มการเกิดกิจกรรมการย่อยสลายสารของจุลินทรีย์ในดิน โดยคาดว่าเมื่อตรวจพบปริมาณ DHA สูงขึ้น ประสิทธิภาพในการย่อยสลาย OC และการกำจัด TPH จะสูงขึ้น โดยชุดที่มีการเติมน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับกากชีวภาพ 10% มีอัตราการผลิต DHA สูงกว่าชุดอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 33) โดยปริมาณ DHA จะเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 25 ของการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับ OC และปริมาณจุลินทรีย์ที่มีการเปลี่ยนแปลงสูง โดยชุด BS¹⁰Sur⁸ เป็นชุดที่มีการ

ตรวจพบ DHA สูงที่สุด โดยตรวจพบ $600.21 \pm 85.05 \mu\text{g TPF/g}$ ในวันที่ 20 รองลงมาคือชุด BS¹⁰SUR⁶ ที่ตรวจพบ DHA สูงที่สุดในวันที่ 25 ตรวจพบ $498.60 \pm 86.54 \mu\text{g TPF/g}$ และ BS¹⁰SUR³ ที่ตรวจพบ DHA สูงที่สุดในวันที่ 25 ตรวจพบ $388.91 \pm 85.03 \mu\text{g TPF/g}$ หลังจากนั้น DHA จะลดลงเล็กน้อยและมีค่าคงที่จนสิ้นสุดการทดลอง 60 วัน

สำหรับชุดที่เติมกากชีวภาพชนิดเดียวพบว่าชุด BSW และ BS¹⁰ มีการเพิ่มขึ้นของ DHA อย่างช้าๆ จนถึงวันที่ 25 ของการทดลอง ชุด BSW ตรวจพบ DHA สูงที่สุด $229.60 \pm 79.01 \mu\text{g TPF/g}$ เช่นเดียวกับชุด BS¹⁰ ตรวจพบ DHA สูงที่สุดในวันที่ 25 ตรวจพบ DHA เท่ากับ $203.93 \pm 61.74 \mu\text{g TPF/g}$ จากนั้น DHA ทั้ง 2 ชุดจะมีค่าคงที่ จากนั้นมีค่าลดลงเล็กน้อย และไม่พบการเปลี่ยนแปลงจนสิ้นสุดการทดลอง 60 วัน ส่วนชุดที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพและน้ำยาชักฟ้าวชุด W และ C มีสร้างปริมาณ DHA ไม่แตกต่างกัน ในช่วงวันที่ 7-10 เป็นช่วงที่พบ DHA สูงที่สุด โดยชุด W ตรวจได้ $70.58 \pm 9.82 \mu\text{g TPF/g}$ ส่วน C ตรวจพบ $50.87 \pm 13.55 \mu\text{g TPF/g}$ จากนั้นค่า DHA ทั้งสองชุดการทดลองมีค่าคงที่และไม่มีการเปลี่ยนแปลงจนถึงวันที่ 60 ของการทดลอง

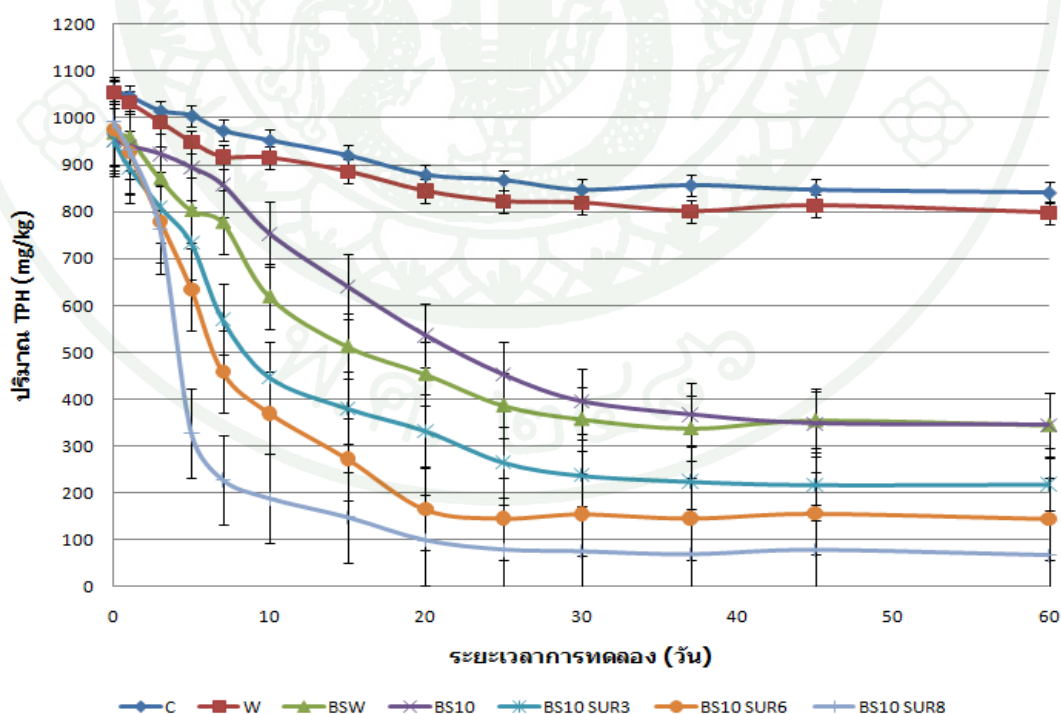


ภาพที่ 33 ปริมาณ dehydrogenase activity (DHA) ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมกากชีวภาพ น้ำกลั่น และน้ำยาชักฟ้าวตามความเข้มข้นต่างๆกัน

สำหรับการกำจัด TPH พบว่ามีแบบแผนคล้ายคลึงกับ OC (ดังภาพที่ 34) โดยชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาชักฟ้าวเป็นชุดที่มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH สูงที่สุด โดยเฉพาะชุด BS¹⁰SUR⁸ มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วใน 5 วันแรก สามารถกำจัด TPH ได้ $665 \pm 87 \text{ mg/kg}$

จากนั้น TPH ในชุด BS¹⁰SUR⁸ ยังพบการลดลงอย่างต่อเนื่อง จนถึงวันที่ 30 สามารถกำจัด TPH ได้เท่ากับ 925 ± 82 mg/kg รองลงมาคือชุด BS¹⁰SUR⁶ ที่ตรวจพบการลดลงของ TPH จนถึงวันที่ 20 กำจัด TPH ได้ 833 ± 73 mg/kg และชุด BS¹⁰SUR³ พบการลดลงของ TPH จนถึงวันที่ 30 กำจัด TPH ได้ 714 ± 48 mg/kg ต่างจากชุดที่เติมกากชีวภาพ 10% แต่ไม่มีการเติมน้ำยาซักผ้า พบว่าในสัปดาห์แรกการลดลงของ TPH ไม่แตกต่างจากกลุ่มไม่เติมกากชีวภาพ เมื่อถึงวันที่ 10 เริ่มเห็นถึงความแตกต่างของ TPH ที่ลดลง โดยชุด BSW มีอัตราการลดลงของ TPH ใกล้เคียงกันกับชุด BS¹⁰ พบการลดลงของ TPH จนถึงวันที่ 45 ของการทดลอง โดยชุด BSW กำจัด TPH ได้ 629 ± 43 mg/kg และชุด BS¹⁰ กำจัด TPH ได้ 604 ± 69 mg/kg

ในส่วนของการทดลองที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพ ชุด W และ C มีการลดลงของ TPH ไม่มากนัก ชุด W มีการลดลงของ TPH ดีกว่าชุด C ในช่วงอาทิตย์แรก โดยชุด W กำจัด TPH ได้ 138 ± 33 mg/kg และ ชุด C กำจัด TPH ได้ 85 ± 24 mg/kg จากนั้น TPH ทั้ง 2 ชุด ยังมีค่าลดลงต่อเนื่องจนถึงวันที่ 25 และจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงจนถึงวันที่ 60 โดยชุด W และ C มีการกำจัด TPH ได้ไม่ต่างกัน เท่ากับ 256 ± 41 mg/kg และ 218 ± 50 mg/kg ตามลำดับ



ภาพที่ 34 ปริมาณ TPH ที่เหลืออยู่ตามระยะเวลาทดลองเมื่อเติมกากชีวภาพ น้ำกลั่น และ น้ำยาซักผ้าตามความเข้มข้นต่างๆกัน

เมื่อนำการลดลงของ TPH มาหาความสัมพันธ์วิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA ได้ผลดังตารางที่ 11 พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ มีประสิทธิภาพการกำจัด TPH สูงกว่าชุด C, W, BS¹⁰ และ BSW อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99.5% ($p < 0.05$) ซึ่งจะเห็นความแตกต่างจากกลุ่มที่เติมกากชีวภาพแต่ไม่เติมน้ำยาซักผ้า และไม่มีการเติมกากชีวภาพตั้งแต่วันที่ 10 ของการทดลอง โดยชุด BS¹⁰ Sur⁸ เป็นชุดการทดลองที่มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ได้ดีที่สุด โดยมีความแตกต่างกับชุด BS¹⁰ Sur⁶ และ BS¹⁰ Sur³ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99.5% ($p < 0.05$) ในวันที่ 10 จนถึงสิ้นสุดการทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่าชุด BS¹⁰ Sur⁶ และ BS¹⁰ Sur³ มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ไม่แตกต่างกันจนถึงวันสุดท้ายในการทดลอง

สำหรับชุดที่เติมกากชีวภาพแต่ไม่มีการเติมน้ำยาซักผ้า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99.5% ($p < 0.05$) จากกลุ่มไม่มีการเติมกากชีวภาพตั้งแต่วันที่ 20 โดยชุด BS¹⁰ และ BSW มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 60 วัน เช่นเดียวกับชุด C และ W ที่ทั้ง 60 วัน ทั้ง 2 ชุดมีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ไม่มีความแตกต่าง

ชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ จะเห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของ TPH จากวันเริ่มต้นการทดลองได้ตั้งแต่วันที่ 10 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99.5% ($p < 0.05$) แตกต่างจากกลุ่มสำหรับชุดที่เติมกากชีวภาพแต่ไม่มีการเติมน้ำยาซักผ้าที่เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของ TPH จากวันเริ่มต้นการทดลองได้ตั้งแต่วันที่ 20 โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99.5% ($p < 0.05$) และชุด W และ C พบว่าปริมาณ TPH ของทั้ง 2 ชุดจะไม่มี ความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกันตั้งแต่วันแรกจนถึงวันที่ 60

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติในการกำจัด TPH โดยการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณ TPH (mg/kg)						
	C	ชุดการทดลอง					
		W	BS ¹⁰	BSW	BS ¹⁰ Sur ³	BS ¹⁰ Sur ⁶	BS ¹⁰ Sur ⁸
ก่อนเติม	1,058 ± 131 ^(a,1)	1,055 ± 71 ^(a,1)	1,060 ± 67 ^(a,1)	1,080 ± 113 ^(a,1)	1,044 ± 72 ^(a,1)	1,060 ± 114 ^(a,1)	1,083 ± 129 ^(a,1)
หลังเติม		1,055 ± 61 ^(a,1)	952 ± 110 ^(a,1)	968 ± 50 ^(a,1)	953 ± 43 ^(a,1)	976 ± 99 ^(a,1)	992 ± 74 ^(a,1)
10	952 ± 113 ^(a,1)	915 ± 75 ^(a,1)	753 ± 56 ^(a,1)	619 ± 99 ^(a,1)	447 ± 59 ^(b,2)	370 ± 43 ^(b,2)	188 ± 33 ^(b,3)
20	878 ± 72 ^(a,1)	844 ± 63 ^(a,1)	536 ± 80 ^(b,2)	454 ± 51 ^(b,2)	333 ± 63 ^(b,3)	165 ± 22 ^(b,3)	99 ± 43 ^(b,4)
30	846 ± 79 ^(a,1)	819 ± 87 ^(a,1)	395 ± 90 ^(b,2)	358 ± 89 ^(b,2)	238 ± 60 ^(b,3)	155 ± 47 ^(b,3)	75 ± 21 ^(b,4)
60	840 ± 82 ^(a,1)	798 ± 98 ^(a,1)	345 ± 56 ^(b,2)	345 ± 83 ^(b,2)	219 ± 35 ^(b,3)	145 ± 28 ^(b,3)	67 ± 20 ^(b,4)

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตัวเลขที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

5. การคัดกรองและศึกษาการย่อยสลายน้ำมันเครื่องโดยจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่แยกได้จากดินปนเปื้อน

5.1 การแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องในดินที่ปนเปื้อน

การแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่องเก่าที่อาศัยอยู่ในดินตัวอย่าง ในการทดลองนี้ ทำโดยใช้วิธี colony forming unit (CFU/g) นำดินตัวอย่าง 10 mg เติมนลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml จากนั้นเติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อลงไป 90 ml จากนั้นทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 10^2 - 10^4 ทำการ spread plate ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ mineral salt agar ที่มีน้ำมันเครื่องเก่าที่เก็บจากอู่ซ่อมรถในพื้นที่ปนเปื้อน 2 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 100 ml ความเข้มข้นละ 3 plate ทั้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น ได้ผลดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยสลายน้ำมันเครื่องเก่าที่แยกได้จากดินตัวอย่าง

ความเข้มข้น	plate 1 (CFU/g)	plate 2 (CFU/g)	plate 3 (CFU/g)	เฉลี่ย (CFU/g)
10^1	TNTC	TNTC	TNTC	TNTC
10^2	90	56	87	77
10^3	11	15	3	9
10^4	0	0	1	1

จากผลการทดลองพบว่าในดินตัวอย่างที่นำมาใช้ในการทดลองสามารถตรวจพบจุลินทรีย์ย่อยสลายน้ำมันเครื่อง 7.7×10^3 CFU/g และสามารถแยกจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด 14 ไอโซเลต ซึ่งแสดงดังตารางที่ 13 จากนั้นทำการคัดเลือกไอโซเลตของจุลินทรีย์ 4 ไอโซเลต โดยดูลักษณะโคโลนี สี และระยะเวลาในการเจริญที่มีลักษณะแตกต่างกัน ทำให้บริสุทธิ์โดยเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MSA ที่มีน้ำมันเครื่องเก่าเป็นแหล่งคาร์บอน 2% ไปใช้ในการทดลอง 5.2 ต่อไป

ตารางที่ 13 ลักษณะโคโลนีของจุลินทรีย์ที่แยกได้ทั้ง 14 ไอโซเลต

รหัส	ลักษณะโคโลนี	รูปภาพ
1	โคโลนีขาว หรือ ใส คล้าย หยดน้ำเป็นปื้น อาหาร เลียงเชื้อรอบๆ โคโลนีใส	
2	โคโลนีชมพู มั่น รอบ โคโลนีใส ขนาดใหญ่โต ซ้ำ	
4	โคโลนีสีเหลืองเข้มตรง กลาง รอบๆ ใส ลักษณะ มัน	

ตารางที่ 13 (ต่อ)

รหัส	ลักษณะโคโลนี	รูปภาพ
5	โคโลนีมีขนาดเล็กสีขาวขุ่น ติดกันเป็นปื้น โตเร็ว	
6	โคโลนีสีขาวมัน โตเร็ว รอบ โคโลนี อาหารเลี้ยงเชื้อใสน้ำมัน หายไป	
7	โคโลนีมีขนาดเล็ก สีขาวขุ่น รอบอาหารที่โคโลนีเจริญใส อาหารหายไป ติดกันเป็นปื้น	

ตารางที่ 13 (ต่อ)

รหัส	ลักษณะโคโลนี	รูปภาพ
8	โคโลนี สีขาวออกชมพูอ่อน มัน โดซ์	
9	โคโลนีสีครีมติดกันเป็นปื้นๆ ขนาดใหญ่	
10	โคโลนีเป็นจุดเล็กๆ สีขาวใส รอบอาหารที่โคโลนีใสเป็น วงกว้าง	

ตารางที่ 13 (ต่อ)

รหัส	ลักษณะโคโลนี	รูปภาพ
11	โคโลนีขนาดใหญ่ ระยะแรกสีขาวมัน พอแก่ (3วัน) สีชมพู	
12	โคโลนีขนาดเล็กใส ระยะแรกไม่มีคล้ายหยดน้ำ พบวันที่ 3 โคโลนี เปลี่ยนเป็นสีชมพู	
13	โคโลนีสีขาวใส รอบๆ โคโลนีมีสีเทา รอบๆ อาหารที่โคโลนีใส	

ตารางที่ 13 (ต่อ)

รหัส	ลักษณะโคโลนี	รูปภาพ
15	โคโลนีสีขาว มั่น ติดกันเป็น ปื้นโตเร็ว มีสีน้ำตาลรอบ โคโลนี	
16	โคโลนีครีมออกขาว มั่น โต เร็ว โคโลนีใหญ่ติดกันเป็นปื้น มีสีน้ำตาลรอบโคโลนี	

5.2 การศึกษาผลการย่อยสลายน้ำมันของจุลินทรีย์ที่แยกได้

ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ 4 ไอโซเลต จากการทดลองที่ 5.1 ที่มีคุณสมบัติต่างกันมาใช้ในการทดลองนี้

- ก) ไอโซเลต 10 เป็นตัวแทนของจุลินทรีย์ที่รอบอาหารใส
- ข) ไอโซเลต 2 เป็นตัวแทนของจุลินทรีย์ที่สร้างรงควัตถุ (pigment) สีชมพู
- ค) ไอโซเลต 16 เป็นตัวแทนของจุลินทรีย์โตเร็ว
- ง) ไอโซเลต 6 เป็นตัวแทนของจุลินทรีย์โตเร็ว รอบอาหารใส

นำจุลินทรีย์ทั้ง 4 ไอโซเลตเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mineral salts broth (MSB) ที่เติมน้ำมันเครื่องความเข้มข้น 2% ทุกไอโซเลตแบ่งการทดลองเป็น 4 ชุดการทดลอง คือ 1) ไม่เติมจุลินทรีย์และน้ำยาซักฟอก 2) เติมจุลินทรีย์ชนิดเดียว 3) เติมน้ำยาซักฟอกอย่างเดียวไม่เติมจุลินทรีย์ (โดยเลือกใช้น้ำยาซักฟอก 6%) และ 4) เติมน้ำยาซักฟอก 6% ร่วมกับจุลินทรีย์ โดยการทดลองทั้ง 4 ชุดได้ผลดังตารางที่ 14

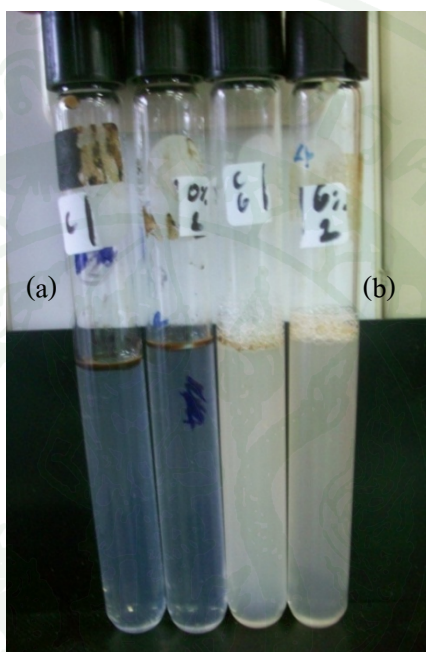
ตารางที่ 14 การกำจัด TPH ของจุลินทรีย์จุลินทรีย์ทั้ง 4 ไอโซเลต

ชุดการทดลอง	%การกำจัด TPH ในวันที่ 3	%การกำจัด TPH ในวันที่ 7	%การกำจัด TPH ในวันที่ 15
ไม่เติมจุลินทรีย์	1	1	3
ไม่เติมจุลินทรีย์ + Sur 6%	5	7	8
จุลินทรีย์ไอโซเลต 10	3	17	43
จุลินทรีย์ไอโซเลต 10 + Sur 6%	21	56	88
จุลินทรีย์ไอโซเลต 2	5	23	36
จุลินทรีย์ไอโซเลต 2 + Sur 6%	33	49	60
จุลินทรีย์ไอโซเลต 16	6	31	40
จุลินทรีย์ไอโซเลต 16 + Sur 6%	45	55	68
จุลินทรีย์ไอโซเลต 6	4	33	40
จุลินทรีย์ไอโซเลต 6 + Sur 6%	47	67	74

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเติมน้ำมันเครื่องลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSB น้ำมันเครื่องจะรวมกันเป็นวงอยู่เหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ (ดังภาพที่ 37ก) เมื่อทำการเติมเชื้อลงไปพบว่าการย่อยสลายของจุลินทรีย์จะถูกจำกัด เนื่องจากจะพบการเจริญของจุลินทรีย์ที่ผิวรอบน้ำมันเครื่องในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่านั้น แต่เมื่อเติมน้ำยาซักฟอกลงไปพบว่าน้ำยาซักฟอกจะช่วย emulsion น้ำมันเครื่องที่รวมตัวเป็นวงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้น้ำมันละลาย เกิด micelle ผสมอยู่ทั่วในหลอดอาหาร (ดังภาพที่ 37ข) พบการเจริญของจุลินทรีย์ทั่วทั้งหลอดทดลอง

โดยชุดการทดลองที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์แต่ไม่มีการเติมน้ำยาซักฟอกทุกไอโซเลต มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ได้ใกล้เคียงกัน เมื่อครบระยะเวลา 15 วัน สามารถกำจัดได้ 36%-43% แต่เมื่อเติมน้ำยาซักฟอกความเข้มข้น 6% ลงไปในหลอด พบว่าทุกไอโซเลตมีประสิทธิภาพในการกำจัด

TPH สูงขึ้นในทุกช่วงเวลา เมื่อครบระยะเวลา 15 วัน สามารถกำจัดได้ 60%-88% โดยไอโซเลตที่ 10 เป็นไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพสูงสุดที่สุดในการย่อยสลาย TPH พบว่าหลังจากเติมน้ำยาซักผ้า 6% แล้ว 15 วัน สามารถกำจัด TPH ได้ถึง 88% รองลงมาคือจุลินทรีย์เบอร์ 6, 16 และเบอร์ 2 หลังเติมน้ำยาซักผ้า 15 วัน สามารถกำจัด TPH ได้ 74%, 68% และ 60% ตามลำดับ



ภาพที่ 35 เปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลองที่ไม่เติมน้ำยาซักผ้า (a) กับเติมน้ำยาซักผ้า (b)

วิจารณ์

ดินตัวอย่างเก็บจากเนินดินตรงข้ามโรงงานบุญถมโลหะกิจในจังหวัดสมุทรปราการ ถูกดัดแปลงเป็นลานจอดรถ และที่ซ่อมรถ จึงมีการปนเปื้อนน้ำมันเครื่องในดินตรวจพบ TPH ที่ปนเปื้อนในดินได้ 1,130 mg/kg เมื่อทำการตรวจวัดคุณสมบัติทางเคมี และทางชีวภาพอื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ พบว่าดินตัวอย่างมีเนื้อดินส่วนใหญ่เป็นดินทราย ซึ่งเป็นชนิดดินที่มีการถ่ายเทน้ำและอากาศได้ดี อุดมไปด้วยแหล่งคาร์บอน ธาตุอาหาร (N, P และ K) โดยมีค่า C: N: P เท่ากับ 100: 5.88: 1.47 ทั้งนี้ Wang and Bartha (1990) ได้รายงานว่าดินปนเปื้อนน้ำมันที่เหมาะสมสำหรับการฟื้นฟูด้วยวิธีทางชีวภาพควรมีค่า C: N: P เท่ากับ 100: 5: 1 ดินตัวอย่างมีค่าความชื้นค่อนข้างต่ำ 17% และมีค่า pH 9.41 ซึ่งค่อนข้างไปทางด่าง อาจส่งผลทางลบต่ออัตราการย่อยสลายน้ำมันของจุลินทรีย์ โดยค่าความชื้นมีผลต่อการเจริญ และวิถีเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ หากในดินมีค่าความชื้นต่ำเกินไปจะมีผลจำกัดการเคลื่อนที่ของจุลินทรีย์ จำกัดการละลายของสารอาหาร จุลินทรีย์เข้าถึงและดูดซับน้ำมันได้จำกัด (Wang and Bartha, 1990 ; Baker and Herson, 1994) ในส่วนของค่า pH มีผลต่อระบบดูดซับสารอาหาร การผลิตเอนไซม์ และการย่อยสลายสาร หาก pH อยู่นอกช่วงที่จุลินทรีย์เจริญได้ กิจกรรมของจุลินทรีย์จะหยุดลงเนื่องจากกรด หรือด่างจะทำลายเอนไซม์ และสารต่างๆ ภายในเซลล์ (อลิสรา, 2550) ดินตัวอย่างยังมีการตรวจพบโลหะหนักที่อาจส่งผลต่อการย่อยสลายน้ำมันของจุลินทรีย์ เช่น แคดเมียม โครเมียม และตะกั่ว ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทำให้ความหลากหลายในสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ในดินลดลงได้ (Baath, 1989) โดยจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มมีความไวต่อปัจจัยเหล่านี้ไม่เหมือนกัน ปัจจัยทางลบนี้อาจส่งผลต่อจุลินทรีย์กลุ่มที่ย่อยสลาย TPH

อย่างไรก็ตามดินตัวอย่างตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ 7.1×10^6 MPN/g อยู่ในช่วงของดินปกติทั่วไปซึ่งแสดงว่าจุลินทรีย์มีชีวิต และเจริญได้ แม้ว่าจะอยู่ในสภาพแวดล้อมที่อาจส่งผลต่อการเจริญดังที่กล่าวมาแล้ว เพื่อพิจารณาพร้อมกับค่า C : N : P แล้ว ดินตัวอย่างนี้มีศักยภาพที่จะทำการฟื้นฟูด้วยวิธีทางชีวภาพได้โดย Ashok and Saxena (1995) ได้อธิบายว่าการย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทำได้โดยจุลินทรีย์ในกลุ่มหลักๆ คือแบคทีเรีย และราการย่อยสลายจะเกิดขึ้นสูงถ้าจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นในดินมีประมาณ 10^6 - 10^9 cell/g soil แต่ถึงอย่างนั้นการมีอยู่ของจุลินทรีย์ในพื้นที่ปนเปื้อนสูง ไม่ได้บ่งชี้ดินนั้นมีการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ ดังจะเห็นได้จากการที่มีสารไฮโดรคาร์บอนตกค้างในดินตัวอย่าง รวมถึงผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการในชุดการทดลองที่ศึกษาการฟื้นฟูในดินปนเปื้อนอย่างเดียวและดินปนเปื้อนที่เติมน้ำกลั่นซึ่งพบว่า TPH ลดลงประมาณ 20% ของความเข้มข้นเริ่มต้น ทั้งนี้อาจเกิดหลายสาเหตุ เช่น ในดินอาจขาดธาตุอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญ หรือ สารประกอบไฮโดรคาร์บอนมีขนาดโมเลกุลขนาดใหญ่หรือมี

โครงสร้างซับซ้อน (non biodegradable) หรือ อยู่ในรูปที่จุลินทรีย์ไม่สามารถเข้าถึง และไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ (non bioavailable) จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายได้มีจำนวนน้อยเกินไป เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้เพียงประการเดียวย่อมส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการฟื้นฟูโดยวิธีทางชีวภาพ ซึ่งในธรรมชาติมักพบเป็นผลร่วมกันของหลายๆ ปัจจัย การย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในดิน อาจเพิ่มขึ้นได้โดยการเติม สารลดแรงตึงผิว แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และสารอาหารอื่นๆ หรือจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดนั้นๆ ลงไปโดยตรง (Van Hamme *et al.*, 2003) การจำแนกปัจจัยจำกัด (limiting factor) ที่ควบคุมอัตราการย่อยสลายมลสาร โดยจุลินทรีย์ และการศึกษาความเป็นไปได้ในห้องปฏิบัติการจึงเป็นวิธีที่กำหนดแนวทางที่เหมาะสมในการกระตุ้นการย่อยสลายของจุลินทรีย์อย่างมีประสิทธิภาพ และประสิทธิผล

เมื่อพิจารณาตัวอย่างในการศึกษานี้พบว่าเนื้อดินเป็นดินทราย ดังนั้นน้ำมันที่ปนเปื้อนในดินส่วนใหญ่จะเป็นน้ำมันอิสระเคลือบอยู่บนอนุภาคดินทราย หรือเป็นน้ำมันอิสระอยู่ในช่องว่างของดิน มีส่วนน้อยที่ดูดซับกับแร่ดินเหนียวและสารอินทรีย์ในดิน น้ำมันเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้น้อย จึงมีอยู่ในรูปที่มี bioavailability ต่ำ สามารถถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์ได้น้อย เนื่องจากจุลินทรีย์มีกลไกการย่อยสลายโดยการดูดซึมสารเข้าสู่เซลล์เมื่อสารอยู่ในรูปสารละลายได้เท่านั้น (Ghosh and Tick, 2013; Ashok and Saxena, 1995; อลิสา, 2550) นอกจากนี้ดินตัวอย่างมีการปนเปื้อนน้ำมันเครื่องที่ใช้แล้วมายาวนาน สารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีโมเลกุลเล็กจึงถูกจุลินทรีย์ย่อยสลาย หรือระเหยไปก่อนหน้านี้แล้ว เหลือเพียงสารไฮโดรคาร์บอนโมเลกุลขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ รวมถึงไฮโดรคาร์บอนที่มีโครงสร้างซับซ้อน (แอลเคนสายยาวหรือประกอบด้วยวงเบนซีน 4 วงขึ้นไป) ยากที่จุลินทรีย์จะเข้าย่อยสลายได้ จึงเป็นข้อจำกัดในการกำจัดสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนของจุลินทรีย์ในดินนี้ (Atlas, 1991)

การทดลองการเติมน้ำยาซักผ้าเพียงอย่างเดียวพบว่าน้ำยาซักผ้าช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการกำจัด TPH ออกจากดินปนเปื้อน น้ำยาซักผ้าความเข้มข้น 8% มีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH สูงที่สุด โดยกำจัดได้ 52% ขณะที่หาคควบคุมกำจัด TPH ได้เพียง 20 % โดยมากกว่า 85% ของ TPH ที่ถูกกำจัดทั้งหมดของชุดการทดลองนี้เกิดขึ้นในช่วง 10 วันแรกของการทดลอง แตกต่างจากชุดการทดลองอื่นๆ ที่อัตราการสลาย TPH ต่ำกว่า และใช้เวลาในการทำปฏิริยานานกว่า (ดังภาพที่ 27) แสดงให้เห็นว่าสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในดิน มีส่วนที่จุลินทรีย์ในดินสามารถย่อยสลายได้ทันที (readily biodegradable) เพียงแต่การที่ไฮโดรคาร์บอนดังกล่าว เนื่องจากอยู่ในรูปที่จุลินทรีย์ไม่สามารถดูดซึมไปใช้ได้ซึ่งข้อจำกัดนี้ถูกทำให้เบาบางลง หรือหมดไป ด้วยการเติมน้ำยาซักผ้าซึ่งจะทำหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิว ส่งผลให้เกิดการดึงน้ำมันที่ปนเปื้อนออกจากผิวดิน

(detergency) ทำให้น้ำมันเกิดการกระจายตัว (dispersion) และป้องกันการกลับเข้าไปจับใหม่ (suspension or prevention of redeposition) กับอนุภาคดินหรือเกิดการรวมตัวกันทำให้มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยน้ำยาซักผ้าจะเอาส่วนหางซึ่งไม่ละลายน้ำ (hydrophobic) ไปเกาะจับกับน้ำมัน แล้วหันส่วนหัวไปที่สามารถละลายน้ำได้ดี (hydrophilic) ไปด้านนอกเมื่อเติมน้ำยาซักผ้าที่ความเข้มข้นสูงจนถึงจุดที่ทำให้เกิดไมเซลล์ (critical micelle concentration: CMC) จะทำให้มีการรวมตัวกันของโมเลกุลน้ำยาซักผ้าไปจับล้อมรอบอนุภาคของน้ำมันเกิดเป็นไมเซลล์ส่งผลทำให้น้ำมันเปลี่ยนรูปจากของเหลว (liquid phase) ให้อยู่ในรูปสารละลาย (solution phase) ได้มากขึ้น แบบที่เรียสามารถนำเข้าสู่เซลล์เพื่อทำการย่อยสลายได้ดีขึ้น (Millioli *et al.*, 2009; Karsa and Porter, 1995) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นสูง (ภาพที่ 28) โดยวิภา (2546) ได้รายงานว่าการเติมน้ำเสียจากโรงงานผลิตน้ำยาล้างจาน สารไฮโดรคาร์บอนในดินเริ่มเปลี่ยนรูปจากของเหลว เป็นรูปสารละลายในส่วนที่ยึดเกาะกับอนุภาคดิน และสารอินทรีย์ถูกชะออกมาได้มาก ส่งผลทำให้การย่อยสลายของจุลินทรีย์เกิดได้ดี Hee *et al.* (2011) ได้รายงานว่าการเติมสารลดแรงตึงผิวช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการฟื้นฟูโดยวิธี Natural attenuation (NA) และ Biostimulation (BS) โดยชุด BS ที่ไม่เติมสารลดแรงตึงผิวสามารถกำจัด TPH ในระยะเวลา 7 วันได้ 20% ซึ่งต่างจากชุด BS ที่เติมสารลดแรงตึงผิวสามารถกำจัด TPH 57% เช่นเดียวกับชุด NA ที่พบว่าไม่เติมสารลดแรงตึงผิวสามารถกำจัด TPH ใน 7 วันได้ 8% แต่เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวสามารถกำจัด TPH ได้ 43%

อัตราการย่อยสลาย TPH ในการทดลองนี้สัมพันธ์กับความเข้มข้นของน้ำยาซักผ้าที่เติมลงไป โดยชุดการทดลองที่เติมน้ำยาซักผ้า 8% มีประสิทธิภาพสูงสุด รองลงมาได้แก่ น้ำยาซักผ้า 6% และ 3% ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นผลจากความเข้มข้นน้ำยาซักผ้าต่ำเกินไปทำให้เกิดไมเซลล์ได้อีกประการหนึ่งการละลายถูกควบคุมด้วยความเข้มข้น ณ จุดสมดุล (equilibrium concentration) น้ำยาซักผ้าที่ความเข้มข้นสูงกว่าจะสามารถละลายสารปนเปื้อนในปริมาณมากกว่า จนกว่าความเข้มข้นจะบรรลุ equilibrium concentration นอกจากนี้การย่อยสลายของของจุลินทรีย์ยังขึ้นอยู่กับรูป หรือลักษณะทางกายภาพของมลสาร โดยน้ำมันที่เคลือบอยู่บนอนุภาคดินทราย และช่องว่างดินจะถูกน้ำยาซักผ้าชะออกมาได้ง่ายกว่าเนื่องจากเป็นน้ำมันอิสระ มีการจับกันระหว่างโมเลกุลด้วยแรงอย่างอ่อนๆ แต่น้ำมันในส่วนที่ถูกดูดซับกับแร่ดินเหนียวหรือสารอินทรีย์ซึ่งมีอยู่มากในดินตัวอย่างอยู่ในลักษณะการละลายหรือ partition อาจจำเป็นต้องใช้น้ำยาซักผ้าที่ความเข้มข้นสูงกว่าเพื่อชะน้ำมันส่วนนี้ออกมาได้

การเติมกากชีวภาพมีผลทำให้ประสิทธิภาพการกำจัด TPH ในชุดการทดลองสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่เติมกากชีวภาพ แสดงให้เห็นว่าไฮโดรคาร์บอนบางส่วนที่ปนเปื้อนอยู่ในดิน อยู่ในรูป

ทางกายภาพที่จุลินทรีย์ใช้ได้ (bioavailable) เพียงแต่จุลินทรีย์ชนิดที่สามารถย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเหล่านั้นมีปริมาณน้อยเกินไป ทำให้เกิดการตกค้างของไฮโดรคาร์บอนในดิน ดังที่ในการศึกษานี้ได้ทำการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญบนอาหารแข็งที่มีน้ำมันเครื่องเป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงานเพียงแหล่งเดียวได้ 7.7×10^3 CFU/g และสามารถแยกจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด 14 ไอโซเลต (แสดงดังตารางที่ 13) นอกจากนี้ได้ทำแยกจุลินทรีย์บริสุทธิ์จากดินตัวอย่างแล้วเลือกมาทดสอบการย่อยสลายน้ำมันเครื่อง 4 ไอโซเลต พบว่าจุลินทรีย์ทั้ง 4 ไอโซเลตสามารถย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันเครื่องได้ Jirasripongpun (2002) ได้กล่าวว่าจุลินทรีย์ที่พบในพื้นที่ปนเปื้อนนั่น บ่งบอกถึงกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดิน หากในดินมีการตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ในพื้นที่สูง หรือพบจุลินทรีย์ในพื้นที่หลายไอโซเลต แสดงว่าดินนั้นมีกิจกรรมในการย่อยสลายของจุลินทรีย์สูง และมีโอกาสพบจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย TPH สูงได้หลายชนิด

จากชีวภาพที่เติมลงไปทำหน้าที่หลายประการ ได้แก่ เพิ่มแหล่งคาร์บอน ธาตุอาหาร และเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ รวมทั้งเพิ่มความหลากหลายทางชีวภาพด้วย ส่งผลให้อัตราการย่อยสลาย TPH ในชุดเติมจากชีวภาพเพิ่มขึ้น (วิชุดา และคณะ, 2553; จิตติมา, 2551; Beecher *et al.*, 2005) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้พบว่าสัดส่วนการเติมจากชีวภาพ 20% และ 30% เป็นสัดส่วนที่สูงเกินไปทำให้มีประสิทธิภาพการฟื้นฟูต่ำกว่าชุดการทดลองจากชีวภาพ 10% ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างและหน้าที่ของชุมชนจุลินทรีย์มีความซับซ้อน จึงเป็นไปได้ที่การเติมจากชีวภาพเป็นอาหารจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นทำให้เกิดการยับยั้งแบบแข่งขัน (competitive inhibition) โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในดินหันไปใช้สารอินทรีย์ในจากชีวภาพเพื่อการเจริญมากกว่า TPH ส่งผลให้สารอินทรีย์ในดินลดลงอย่างมาก รวมทั้งเพิ่มความเข้มข้นจุลินทรีย์ในดินแต่ไม่ส่งผลทางบวกต่อการฟื้นฟูพื้นที่ปนเปื้อน เนื่องจากผลกระทบที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างชุมชนจุลินทรีย์ดังกล่าวไม่สามารถคาดเดาได้ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อกำหนดความเข้มข้นจากชีวภาพที่เหมาะสมที่สุด

การทดลองทั้งสองชุดแรกแสดงให้เห็นว่าในดินปนเปื้อนมีส่วนของน้ำมันที่มีโครงสร้างที่จุลินทรีย์ในดินย่อยสลายได้ เพียงแต่อยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำหรือถูกดูดซับในดิน ในขณะเดียวกันในดินยังมีส่วนของน้ำมันที่อยู่ในรูปที่จุลินทรีย์ใช้ได้เพียงแต่ในดินมีชนิด และปริมาณของจุลินทรีย์ที่ไม่เหมาะสมซึ่งทั้งสองประเด็นสามารถแก้ไขได้เมื่อเติมจากชีวภาพกับน้ำยาซักผ้าร่วมกัน ซึ่งเมื่อทำการทดลองการเติมจากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8% โดยกำจัด TPH ได้ถึง 71% ในเวลา 5 วันแรก และเมื่อสิ้นสุดการทดลองสามารถกำจัด TPH ได้ 925 ± 82 mg/kg ซึ่งสอดคล้องกับค่าตรวจวัด

กิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (DHA) ที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าชุดควบคุมชี้ให้เห็นว่าการลดลงของสารอินทรีย์คาร์บอน และปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนนั้นเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ เป็นที่น่าสนใจว่าชุดการทดลองที่เติมน้ำยาซักผ้าตรวจค่า DHA ได้ในช่วง 388 – 600 $\mu\text{g TPF/g}$ ส่วนชุดที่ไม่เติมน้ำยาซักผ้าสามารถตรวจวัด DHA ได้ 50 - 229 $\mu\text{g TPF/g}$ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ผ่านมาว่าการเติมน้ำยาซักผ้าสามารถชะสารอินทรีย์รวมถึงไฮโดรคาร์บอนออกมาในความเข้มข้นที่สูงทำให้อัตราการย่อยสลายสูงในช่วงระยะเวลาอันสั้นส่งผลถึงการเพิ่มจำนวนที่สูงขึ้นของจุลินทรีย์ โดย Millioli *et al.* (2009) ได้รายงานว่าการเติมสารลดแรงตึงผิว ส่งผลทำให้จุลินทรีย์มีกิจกรรม DHA สูงขึ้น เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวมีผลเปลี่ยนรูป TPH ให้อยู่ในรูปสารละลายได้มากขึ้นส่งผลทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ดีขึ้น โดยชุดควบคุมที่ไม่มีการเติม rhamnolipid พบว่าตรวจพบ DHA 10 $\mu\text{g/g}$ สามารถกำจัด TPH ได้ 35% แต่เมื่อเติม rhamnolipid ความเข้มข้น 4% พบว่ามีการตรวจพบ DHA สูงขึ้น 60 $\mu\text{g/g}$ และสามารถกำจัด TPH ได้ขึ้น 60%

สรุป และข้อเสนอแนะ

สรุป

ดินตัวอย่างที่นำมาใช้ในการทดลองนี้มีแหล่งคาร์บอน และธาตุอาหาร เพียงพอที่สนับสนุนการฟื้นฟูทางชีวภาพ แต่สารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในการทดลองนี้ พร้อมทั้งจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ แต่ในดินมีปริมาณ และชนิดของจุลินทรีย์ไม่เพียงพอในการย่อยสลาย TPH ที่ปนเปื้อนเป็นเหตุผลที่ทำให้ชุดควบคุมมีการย่อยสลายของจุลินทรีย์ต่ำ

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการเติมกากชีวภาพ และน้ำยาซักผ้าช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ของจุลินทรีย์ให้ดีขึ้น โดยชุดการทดลองที่เติมน้ำยาซักผ้าชนิดเดียวทุกชุดการทดลองมีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH ดีกว่าชุดที่เติมน้ำกลั่น เนื่องจาก TPH เป็นสาร ไม่มีขั้ว สามารถละลายน้ำได้น้อย แต่สามารถละลายได้ดีในน้ำยาซักผ้า โดยน้ำยาซักผ้าทำหน้าที่ชะ TPH ออกมาจากดิน ทำให้ TPH อยู่ในรูปสารละลายไมเซลล์ ซึ่งจุลินทรีย์ดูดซึมเข้าสู่เซลล์ได้ดีขึ้น พบว่าชุดเติมน้ำกลั่นสามารถกำจัด TPH ได้ 22% โดยชุดการทดลองที่เติมน้ำยาซักผ้า 8% เป็นชุดการทดลองที่ดีที่สุดสามารถกำจัด TPH ได้ 52% รองลงมาคือ ชุดการทดลองที่เติมน้ำยาซักผ้า 6% และ 3% สามารถกำจัด TPH ได้ 44% และ 36% ตามลำดับ เนื่องจากการเติมน้ำยาซักผ้า 8% สามารถชะ TPH ออกมาจากดินได้มากที่สุด และเกิดไมเซลล์ได้มากกว่าชุดเติมน้ำยาซักผ้า 6% และ 3%

สำหรับการเติมกากชีวภาพชนิดเดียวสามารถกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ในดิน โดยทำหน้าที่เพิ่ม OC ธาตุอาหาร และจุลินทรีย์ในดิน การเติมกากชีวภาพ 10% เป็นสัดส่วนที่ดีที่สุดในการกระตุ้นการกำจัด TPH ได้ดีที่สุดกำจัด TPH ได้ 65% รองลงมาคือชุดการทดลองที่เติมกากชีวภาพ 20% และ 30% สามารถกำจัด TPH ได้ 51% และ 40% ตามลำดับ เนื่องจากดินตัวอย่างมีแหล่งคาร์บอนเพียงพออยู่แล้ว หากเติมกากชีวภาพมากเกินไป ส่งผลทำให้จุลินทรีย์เลือกใช้ OC อื่นในการเจริญมากกว่า TPH สำหรับชุดควบคุมมีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH 20%

เมื่อทำการศึกษาผลของการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า และน้ำกลั่น พบว่าชุดที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% และน้ำยาซักผ้าทุกชุดมีประสิทธิภาพในการกำจัด TPH สูงกว่าชุดที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพ และชุดที่เติมกากชีวภาพชนิดเดียวหรือควบคู่กับน้ำกลั่น เนื่องจากชุดเติมกากชีวภาพร่วมกับน้ำยาซักผ้าช่วยชะ TPH ออกมาจากดิน ทำให้ TPH อยู่ในรูปสารละลายไมเซลล์ที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ อีกทั้งในดินยังมี แหล่งคาร์บอน ธาตุอาหาร และปริมาณจุลินทรีย์

ที่สามารถย่อยสลาย TPH ได้จากการเติมกากชีวภาพเพิ่มมากขึ้น ส่งผลทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญ และผลิต DHA สูงขึ้น กำจัด TPH ได้มากขึ้น โดยชุดการทดลองที่เติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยา ชักฟ้ 8% เป็นชุดที่ดีที่สุดสามารถกำจัด TPH ได้ 93% รองลงมาคือ ชุดที่เติมน้ำยาชักฟ้ 6% และ 3% ที่กำจัด TPH ได้ 85% และ 77% ตามลำดับ เนื่องจากชุดที่เติมน้ำยาชักฟ้ 3% และ 6% ไม่สามารถจะ ชะ TPH ออกมาจากดิน และเปลี่ยนรูป TPH ให้อยู่ในรูปสารละลายได้หมด

ในดินสามารถตรวจพบจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันเครื่อง 7.7×10^3 CFU/g และ สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ TPH เป็นแหล่งคาร์บอนได้ 14 ไอโซเลต ประสิทธิภาพการย่อย สลายของจุลินทรีย์จะสูงขึ้นทุกไอโซเลตเมื่อทดสอบร่วมกับน้ำยาชักฟ้ 6% โดยไอโซเลตที่ 10 มี ประสิทธิภาพสูงสุดที่สุดในการกำจัด TPH ก่อนเติมน้ำยาชักฟ้ 6% สามารถกำจัด TPH ได้ 43% ใน 15 วัน หลังจากเติมน้ำยาชักฟ้ 6% สามารถกำจัด TPH ได้ถึง 88% โดยน้ำยาชักฟ้มีผลเพิ่ม ความสามารถในการละลาย (solubility) ของน้ำมันเครื่องที่รวมตัวเป็นวงอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ กระจายเป็นอนุภาคๆ ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสภาวะที่ง่ายต่อการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์

ข้อเสนอแนะ

1. ควรนำมาประยุกต์ใช้จริงกับสถานที่ปนเปื้อนจริง
2. ควรมีการศึกษาเอนไซม์อื่นๆ หรือมีการตรวจแก๊สที่เกิดขึ้นภายในระบบเพื่อยืนยันผลการย่อยสลายของจุลินทรีย์
3. ควรมีการศึกษาความเข้มข้นของกากชีวภาพและน้ำยาซักผ้าให้มากกว่านี้
4. การศึกษาการย่อยสลาย TPH เป็นเพียงการศึกษาแบบคร่าวๆ ไม่สามารถระบุได้ว่า จุลินทรีย์ย่อยสลายสารปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนชนิดใดได้ดี หรือย่อยสลายไม่ได้ อีกทั้งไม่ทราบว่า OC และ TPH ที่เหลือในดินเมื่อสิ้นสุดการทดลองเป็นสารอินทรีย์กลุ่มใด ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการวิเคราะห์อย่างละเอียดหรือใช้เครื่องมือขั้นสูงเช่น GC/MS
5. ควรมีการศึกษาชนิดของจุลินทรีย์ก่อนเดิมกับหลังเดิมกากชีวภาพ และน้ำกลั่นเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงชนิดของจุลินทรีย์ในดิน

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กองวิเคราะห์ดิน. 2540. คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีดินกับการวิเคราะห์ดินในห้องปฏิบัติการ. กรมพัฒนาที่ดิน, กรุงเทพฯ.

จิตติมา แก้วเรือง. 2551. การแยกและคัดเลือกกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชรัตน์ รุ่งเรืองศิลป์. 2533. น้ำมัน. กองวิเคราะห์ผลกระทบสิ่งแวดล้อมสำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

การฟื้นฟูดินที่มีการปนเปื้อนด้วยวิธีชีวภาพ. 2557. **Biostimulation และ Bioaugmentation** แหล่งที่มา: http://www.ecocycle.co.jp/e_bioremediation/e_bioremediation.html, 1 มีนาคม 2557.

วิชุดา เกตุใหม่, เสาวภา แก้วสุกใส และ ลิษา แชนา. 2553. การคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยทักษิณ.

วิภา ตันแพง. 2546. การกำจัดคราบน้ำมัน (สารประกอบอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน) ด้วยวิธีผสมผสานระหว่างใช้แบคทีเรียและสารลดแรงตึงผิว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สารานุกรมไทยฉบับเยาวชน. 2542. ปิโตรเลียมและการผลิต. โครงการสารานุกรมไทยฯ, กรุงเทพฯ.

สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ. 2524. รายงานสัมมนาทางวิชาการ เรื่องผงซักฟอกกับปัญหาสิ่งแวดล้อม. สำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

สมศักดิ์ วังโน. 2528. จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน. ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ.

อลิสา วังโน. 2553. การบำบัดสารมลพิษทางชีวภาพ. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Alef, K. 1995. **Method in applied soil microbiology and biochemistry**. Academic Press, New York.

Ashok, B.T. and S. Saxena. 1995. Biodegradation of polycyclic-a review. **Journal Science Indian Research** 54: 443-451.

Atlas, R.M. and J.C. Philp. 2005. **Bioremediation: applied microbial solutions for real-world environmental cleanup**. ASM press, Washington DC.

Atlas, M.R. 1991. Microbial hydrocarbon degradation-bioremediation of oil spills. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology** 52: 149-156.

Alexander, M. 1999. **Biodegradation and Bioremediation**, Academic Press, San Diego.

Baath, E. 1989. Effect of heavy metals in soil on microbial processes and populations. **Water Air Soil Pollution** 47: 335-379.

Baker, H. and S.D. Herson. 1994. Bioremediation. McGraw-Hill, New York.

Beecher, N. E. Harrison, N. McDaniel. P. Field and L. Susskind. 2005. Risk Perception, Risk Communication, and Stakeholder Involvement for Biosolids Management and Research. **Environmental Quality** 34: 122-128.

Boonchan, S, M.L. Britz and G.A. Stanley. 1998. Surfactant-enhanced biodegradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Stenotrophomonas maltophilia*. **Biotechnology and Bioengineering** 59: 482-494.

Bragg, J.R., R.C. Prince, E.J. Harner and R.M. Atlas. 1994. Effectiveness of bioremediation for the Exxon Valdez oil spill. **Nature** 368: 413-418.

Cerniglia, C.E. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Biodegradation** 3: 351-368.

Chang, L.K., D. Ibrahim and I.C. Omar. 2011. A laboratory scale bioremediation of Tapis crude oil contaminated soil by bioaugmentation of *Acinetobacter baumannii* T30C. **African Journal of Microbiology Research** 5(18): 2,609-2,615.

Chemistry and New Zealand. 2001. **Fabric guide and stain removal**. Available Source: <http://www.chemistry.co.nz/introduction.htm>., November 1, 2013.

Churchill, P.F., J.D. Richard and S.A. Churchill. 1995. Surfactant-Enhanced bioremediation. **Waste Management** 15: 371-377.

Dibble, J. T. and R. Bartha. 1979. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. **Applied and Environmental Microbiology** 37: 729-739.

Dick, R.P., 1997. **Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health**. In: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR (eds) **Biological indicators of soil health**. CABI, Wallingford.

Fritsche, W. and M. Hofrichter. 2000. **Aerobic degradation by microorganisms: Principles of bacterial degradation**. **International Biotechnology Environmental Processes II**. Wiley-Vch Verlage, Weinheim.

Gallego, J. L. R., J. Lorego, J.F. Llamas, F. Vazquez and J. Sanchez. 2001. Bioremediation of diesel-contaminated soils: evolution of potential in situ techniques by study of bacterial degradation. **Biodegradation** 12: 323-333.

- Galvis, L.A.B., D.A. Bernal, A.C.R. Valdivia and L. Dendooven. 2006. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated saline-alkaline soils of the former Lake Texcoco. **Chemosphere** 62: 1,749-1,760.
- Gan, S., E.V. Lau and H.K. Ng. 2009. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). **Journal of Hazardous Materials** 172: 532-549.
- Ghosh, J. and G.R. Tick. 2013. A pore scale investigation of crude oil distribution and removal from homogeneous porous media during surfactant-induced remediation. **Journal of Contaminant Hydrology** 155: 20-30.
- Haigh, S. D. 1996. A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil. **The Science of the Total Environment** 185: 161-170.
- Hee, L.E., Y.S. Kang and K.S. Cho. 2011. Bioremediation of Diesel-Contaminated Soils by Natural Attenuation, Biostimulation and Bioaugmentation Employing *Rhodococcus* sp. EH831. **Korean Journal Microbiol Biotechnol** 39(1): 86-92.
- Hughes, J.B., D.M. Beckles, S.D. Chandra and C.H. Ward. 1997. Utilization of bioremediation processes for the treatment of PAH-contaminated sediments. **Journal of Industrial Microbiology Biotechnology** 18: 152-160.
- Jacop, L.W. and D.S. McCreary. 2001. **Utilizing Biosolids on Agricultural Land**. Department of Crop and Soil Sciences, Michigan State University.
- Jirasripongpun, K. 2002. The characterization of oil-degrading microorganisms from lubricating oil contaminated (scale) soil. **Letters in Applied Microbiology** 35: 296-300.
- Karsa, D.R. and M.R. Porter. 1995. **Biodegradability of surfactants**. Blackie academic and professional, London.

- Kosaric, N. 2001. Biosurfactants for soil bioremediation. **Food Technology and Biotechnology** 39: 295–304.
- Mandri, T. and Lin, J. 2007. Isolation and Characterization of engine oil degrading indigenous microorganism in Kwazulu-Natal South Africa. **Journal of Biotechnology** 6: 23-27.
- Mehrasbi, M. R., B. Haghighi, M. Shariat, S. Naseri and K. Naddafi. 2003. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil. **Iranian Journal of Public Health** 32: 28-32.
- Metcalf and Eddy. 1991. **Wastewater engineering-treatment, disposal and reuse**. McGraw Hill, New York.
- Metcalf and Eddy. 2004. **Biosolid generation, use and disposal in the United States, Wastewater engineering treatment and reuse**. McGraw Hill, New York.
- Ministry for the Environment. 1999. **Guidelines for Assessing and Managing Petroleum Hydrocarbon Contaminated Sites in New Zealand: Tier 1 Soil Acceptance Criteria**. Wellington, New Zealand.
- Millioli, V.S., E.L.C. Servulo, J.G.S. Sobral and D.D.D. Carvalho. 2009. Bioremediation of crude oil- bearing soil : evaluating the effect of rhamnolipid addition to soil toxicity and to crude oil biodegradation efficiency. **Global NEST Journal** 11: 181-188.
- Mishra, S., J. Jyot and B. Lal. 2001. In situ bioremediation potential of an oily sludge-degrading bacterial consortium. **Current Microbiology** 43(5): 328-35.
- Namkoong, W., E.Y. Hwang, J.S. Park and J.Y. Choi. 2002. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. **Environmental Pollution** 119: 23-31.
- Nathanail, P and P. Bardos. 2004. **Reclamation of Contaminated Land**. John Wiley & Sons, West Sussex.

- Okuda, S.E and A. Adoki. 2014. Bioremediation of crude oil impacted soil utilizing surfactant, nutrient and enzyme amendments. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences** 4(4): 41-50.
- Prince, R.C. 1993. Petroleum spill bioremediation in marine environments. **Critical Reviews in Microbiology** 19: 217-242.
- Schramm, L. L. 2000. **Surfactants Fundamentals and Applications in the Petroleum Industry**. Cambridge University press, United Kingdom.
- Showell, M.S. 1998. **Powdered Detergents**. Marcel Dekker, New York.
- Singer, M.J. and D. N. Munn. 1989. **Soil an introduction**. Macmillan publishing company, New York.
- Sinsabaugh R.L., R.K. Antibus and A.E. Linkins. 1991. An enzymic approach to the analysis of microbial activity during plant litter decomposition. **Agriculture Ecosystems and Environment** 34: 43-54.
- Silver, S. 1996. Bacterial heavy metal resistance: New surprises. **Annual Review of Microbiology** 50: 753-789.
- Stehouwer, R.C., A.M. Wolf and W.T. Doty. 2000. Chemical monitoring of sewage sludge in Pennsylvania: Variability and application uncertainty. **Journal of Environmental Quality** 29: 1686-1695.
- Szulc, A., D. Ambrozewicz, M. Sydow, L. Lawniczak, C.P. Piotrowska, R. Marecik and L. Chrzanowski. 2014. The influence of bioaugmentation and biosurfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil: feasibility during field studies. **Journal of Environmental Management** 132: 121-128.

Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group (TPHCWG). 1998. **Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series Volume 2: Composition of Petroleum Mixtures**. Amherst Scientific, Massachusetts.

United States Environment Protection Agency. 2001. **A Citizen's Guide to Soil Washing**.

EPA. Available Source: <http://www.epa.gov/tio/download/remed/soilwash.pdf>, January 15, 2012.

U.S. Department of Health and Human Services. 1985. **Occupational Safety and Health**

Guidance Manual for Hazardous Waste Site Activities. Available Source: <http://www.osha.gov/Publications/complinks/OSHG-HazWaste/all-inone.Pdf>, January 15, 2012.

Van Hamme, J., D. A. Singh and O.P. Ward. 2003. Recent advances in petroleum microbiology.

Microbiology and Molecular Biology 67: 503-549.

Venosa, A. D., M.T. Suiden, B.A. Wrenn, K.L. Strohmeier, J.R. Haines, B.L. Eberhart, D. King and E.L. Holder. 1996. Bioremediation of an experimental oil spill on shoreline of Delaware Bay. **Environmental Science and Technology** 30: 1,764-1,775.

Vidali, M. 2001. Bioremediation. **Pure and Applied Chemistry** 73: 1,163-1,172.

Wang, X. and R. Bartha. 1990. Effect of bioremediation on residues, activity and toxicity in soil contaminated by fuel spills. **Soil Biology and Biochemistry** 22: 501-505.





ภาคผนวก ก

กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของสารประกอบปีโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (TPH), 2,3,5-Triphenyl formazan (TPF) และตารางมาตรฐาน MPN 5 หลด

1. วิธีการเตรียมกราฟความเข้มข้นมาตรฐานของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (TPH)

1.1 เตรียมน้ำมันเครื่องที่ทำการศึกษา มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ความเข้มข้น 0.2, 0.175, 0.150, 0.125, 0.100, 0.075 และ 0.050 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.2 นำไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

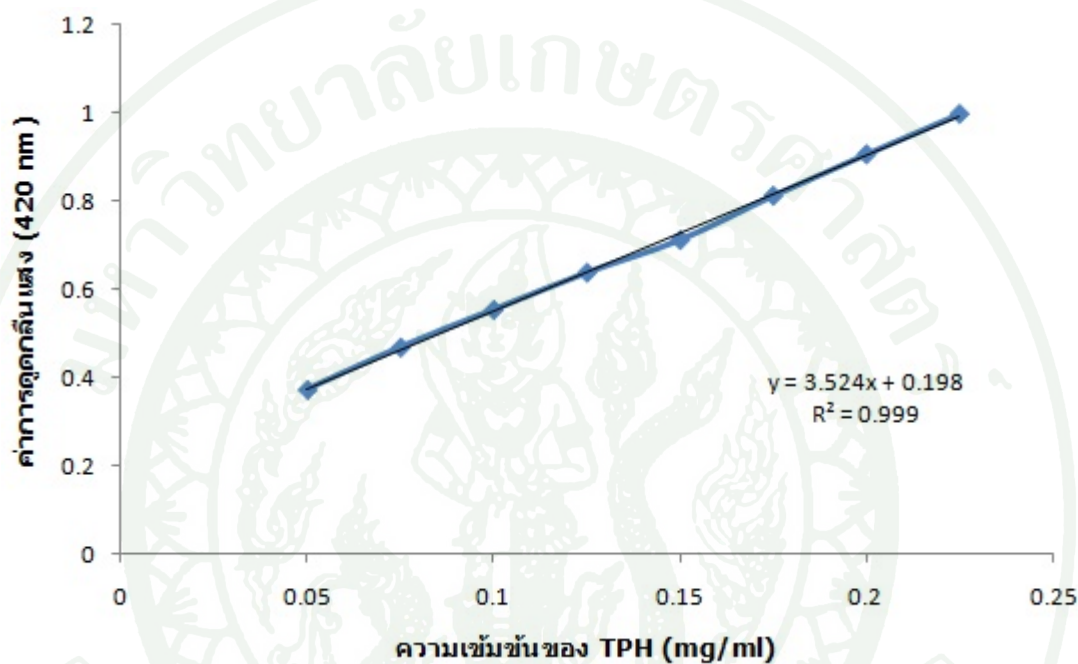
1.3 นำค่าที่อ่านได้มาคำนวณความเข้มข้นของสารประกอบ TPH แต่ละความเข้มข้น จากนั้นนำไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าที่วัดได้ เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ TPH ที่ทำการศึกษาต่อไป

2. ผลการทดลองการสร้างกราฟมาตรฐานของสารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

ตารางผนวกที่ ก1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบ TPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของ TPH (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ (420 นาโนเมตร)
1	0.050	0.373
2	0.075	0.469
3	0.100	0.554
4	0.125	0.638
5	0.150	0.712
6	0.175	0.812
8	0.200	0.906
9	0.225	0.997

ผลของการวัดค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันเครื่องที่ความเข้มข้น 0.2, 0.175, 0.150, 0.125, 0.100, 0.075 และ 0.050 มิลลิกรัมต่อลิตรด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร พบว่าเส้นกราฟความเข้มข้นมาตรฐานของสารประกอบ TPH มีลักษณะเป็นเส้นตรง ซึ่งมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9999 และอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ค่า R^2 เป็นที่ยอมรับมีค่ามากกว่า 0.9995)



ภาพผนวกที่ ก1 กราฟมาตรฐานของสารประกอบ TPH

3. วิธีการเตรียมกราฟความเข้มข้นมาตรฐานของ 2,3,5-Triphenyl formazan (TPF)

1.1 เตรียม 2,3,5-Triphenyl formazan (TPF) มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ความเข้มข้น 0.10, 0.09, 0.08, 0.07, 0.06, 0.05, 0.04, 0.03, 0.02, 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.2 นำตัวอย่างที่ได้ไปตรวจวัดด้วยเครื่อง Uv-spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 484 นาโนเมตร โดยใช้ Methanol เป็นแบล็ก

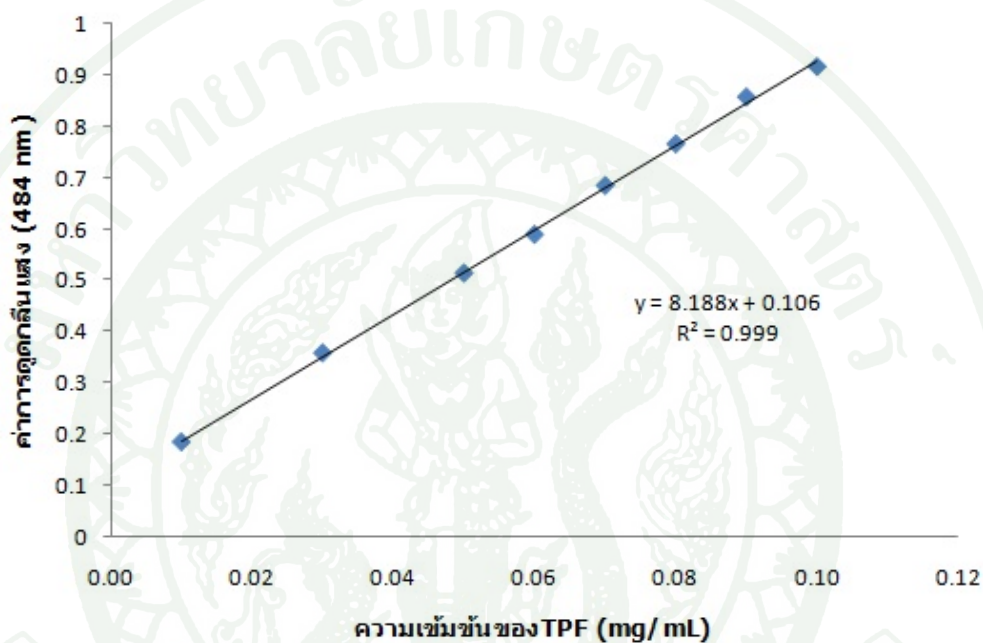
1.3 นำค่าที่อ่านได้มาคำนวณความเข้มข้นของ TPF แต่ละความเข้มข้น จากนั้นนำไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าที่วัดได้ เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของ TPF ที่ทำการ ศึกษาต่อไป

4. ผลการทดลองการสร้างกราฟมาตรฐานของสารประกอบปีโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน

ตารางผนวกที่ ก2 ค่าการดูดกลืนแสงของ TPF ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของ TPF (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ (484 นาโนเมตร)
1	0.010	0.186
2	0.030	0.359
3	0.050	0.514
4	0.060	0.589
5	0.070	0.684
6	0.080	0.765
8	0.090	0.856
9	0.100	0.915

ผลของการวัดค่าการดูดกลืนแสงของ TPF ที่ความเข้มข้น 0.10, 0.09, 0.08, 0.07, 0.06, 0.05, 0.04, 0.03, 0.02, 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 484 นาโนเมตร พบว่าเส้นกราฟความเข้มข้นมาตรฐานของสารประกอบ TPF มีลักษณะเป็นเส้นตรง ซึ่งมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9999 และอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ค่า R^2 เป็นที่ยอมรับมีค่ามากกว่า 0.9995)



ภาพผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานของสารประกอบ TPF

5. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ด้วยวิธี Most probable number (MPN) และตารางมาตรฐาน MPN 5 หลอด

5.1 ใช้ช้อนตักตัวอย่างดินที่ทำการทดลองปริมาตร 5 กรัม เติมลงในสารละลาย 0.85% Normal saline ปริมาตร 45 มิลลิลิตร (เจือจางแบบ Ten-fold dilution) โดยทำการเจือจางดินที่ปนเปื้อนที่ระดับความเจือจางตามต้องการ

5.2 ทำการเจือจางให้เป็น 1:10, 1:100, 1:1000 ตามลำดับ โดยใช้สารละลาย 0.85% Normal saline

5.3 เตรียมหลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth (NB) 9 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นถ่ายตัวอย่างดินในแต่ละความเข้มข้นปริมาณ 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองความเข้มข้นละ 5 หลอด

5.4 นำหลอดอาหาร ไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

5.5 นำหลอดทดลองที่ไม่พบการเจริญของเชื้อเทียบในตาราง MPN แบบ 5 หลอด

ตารางผนวกที่ ก3 MPN สำหรับ 5 หลอดทดลอง ความเข้มข้น 0.1, 0.01 และ 0.001 MPN/g ที่ระดับ
นัยสำคัญ 95%

Pos. tubes				MPN/g	Pos. tubes				MPN/g
0.1	0.01	0.1			0.1	0.01	0.1		
0	0	0		<1.8	2	2	0		9.2
0	0	1		1.8	2	2	1		12
0	1	0		1.8	2	2	2		14
0	1	1		3.6	2	3	0		12
0	2	0		3.7	2	3	1		14
0	2	1		5.5	2	4	0		15
0	3	0		5.6	3	0	0		7.8
1	0	0		2	3	0	1		11
1	0	1		4	3	0	2		13
1	0	2		6	3	1	0		11
1	1	0		4	3	1	1		14
1	1	1		6.1	3	1	2		17
1	1	2		8.1	3	2	0		14
1	2	0		6.1	3	2	1		17
1	2	1		8.2	3	2	2		20
1	3	0		8.3	3	3	0		17
1	3	1		10	3	3	1		21
1	4	0		11	3	3	2		24
2	0	0		4.5	3	4	0		21
2	0	1		6.8	3	4	1		24
2	0	2		9.1	3	5	0		25
2	1	0		6.8	4	0	0		13
2	1	1		9.2	4	0	1		17
2	1	2		12	4	0	2		21

ตารางผนวกที่ ก3 (ต่อ)

Pos. tubes				MPN/g	Pos. tubes				MPN/g
0.1	0.01	0.1			0.1	0.01	0.1		
4	0	3		25	5	2	0		49
4	1	0		17	5	2	1		74
4	1	1		21	5	2	2		94
4	1	2		26	5	2	3		120
4	1	3		31	5	2	4		150
4	2	0		22	5	3	0		79
4	2	1		26	5	3	1		110
4	2	2		32	5	3	2		140
4	2	3		38	5	3	3		180
4	3	0		27	5	3	4		210
4	3	1		33	5	4	0		130
4	3	2		39	5	4	1		170
4	4	0		34	5	4	2		220
4	4	1		40	5	4	3		280
4	4	2		47	5	4	4		350
4	5	0		41	5	4	5		430
4	5	1		48	5	5	0		240
5	0	0		23	5	5	1		350
5	0	1		31	5	5	2		540
5	0	2		43	5	5	3		920
5	0	3		58	5	5	4		1600
5	1	0		33	5	5	5		>1600
5	1	1		46					
5	1	2		63					
5	1	3		84					



ภาคผนวก ข
ข้อมูลจากการทดลอง

1. การศึกษา pH และความชื้น

ตารางผนวกที่ ข1 ค่า pH และความชื้น ในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ เติมน้ำยาซักผ้า และเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ

ชุดการทดลอง	วันที่	pH			ความชื้น (%)		
		เฉลี่ย	เฉลี่ย	เฉลี่ย	เฉลี่ย	เฉลี่ย	เฉลี่ย
ควบคุมเติมดิน	0	10.68	10.84	10.71	16	16	16
	1	10.50	10.91	10.70	16	17	16
	10	9.80	10.77	10.24	14	14	14
	20	9.87	9.85	9.83	13	13	13
	30	9.63	9.71	9.68	12	12	12
	60	9.27	9.21	9.24	11	11	11
ชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10%	ก่อน	10.61	10.75	10.70	15	16	15
	หลัง	9.60	9.48	9.54	25	23	24
	10	9.12	9.22	8.17	19	20	19
	20	8.20	8.48	8.39	13	14	13
	30	7.55	7.64	7.58	9	11	10
	60	7.73	7.58	7.64	9	9	9
ชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 20%	ก่อน	10.70	10.71	10.70	17	16	16
	หลัง	9.21	8.82	8.96	29	31	30
	10	9.18	9.04	9.06	25	24	24
	20	8.37	8.30	8.34	20	19	19
	30	7.40	7.47	7.43	13	12	12
	60	7.65	7.45	7.56	10	10	10
ชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 30%	ก่อน	10.73	10.71	10.72	16	16	16
	หลัง	8.74	8.50	8.65	38	35	36
	10	8.08	8.53	8.26	32	31	31
	20	7.73	7.13	7.33	27	25	26
	30	7.42	7.44	7.43	23	22	22
	60	7.91	7.98	7.95	13	12	12

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่	pH		เฉลี่ย	ความชื้น (%)		เฉลี่ย
ควบคุมเติมน้ำกลั่น	ก่อน	10.61	10.67	10.64	16	16	16
	หลัง	10.59	10.61	10.60	19	21	20
	10	10.20	10.17	10.14	15	15	15
	20	9.87	9.82	9.84	13	13	13
	30	9.43	9.41	9.42	10	10	10
	60	9.07	9.01	9.03	9	9	9
	ก่อน	10.51	10.55	10.53	19	18	18
ชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 3%	หลัง	10.39	10.28	10.32	19	21	20
	10	7.12	7.22	7.17	16	14	15
	20	7.50	7.58	7.54	13	14	13
	30	7.55	7.64	7.58	8	9	8
	60	8.13	8.08	8.10	10	8	9
	ก่อน	10.61	10.53	10.57	17	15	16
	หลัง	10.01	10.02	10.01	20	22	21
ชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 6%	10	8.00	7.98	7.99	19	19	19
	20	8.47	8.60	9.54	16	16	16
	30	8.00	7.97	7.98	13	14	13
	60	8.15	8.17	8.16	10	10	10
	ก่อน	10.80	10.63	10.71	16	14	15
	หลัง	9.84	9.80	9.92	20	21	20
	10	8.38	8.33	8.30	17	17	17
ชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 8%	20	8.53	8.43	8.46	14	14	14
	30	8.22	8.34	8.28	12	12	12
	60	8.21	8.28	8.26	12	12	12

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่	pH	เฉลี่ย	ความชื้น (%)	เฉลี่ย
ควบคุมเติมดิน	0	10.71	10.71	10.71	16
	1	10.80	10.81	10.80	16
	10	10.00	10.17	10.09	14
	20	9.57	9.55	9.53	13
	30	9.43	9.71	9.58	10
	60	9.27	9.21	9.24	9
ควบคุมเติมน้ำกลั่น	ก่อน	10.91	10.76	10.82	16
	หลัง	10.79	10.61	10.64	20
	10	10.40	10.37	10.38	17
	20	9.77	9.72	9.74	14
	30	9.33	9.31	9.32	13
	60	9.17	9.08	9.12	8
ชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10%	ก่อน	10.81	10.85	10.83	15
	หลัง	9.99	10.18	10.04	26
	10	9.89	9.72	9.82	21
	20	8.06	8.58	8.30	15
	30	7.55	7.64	7.58	9
	60	7.13	7.08	7.10	10
ชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำกลั่น	ก่อน	10.71	10.73	10.72	15
	หลัง	9.81	10.05	9.91	28
	10	8.88	9.00	8.92	16
	20	7.27	7.20	7.23	12
	30	7.50	7.97	7.78	10

ตารางผนวกที่ ข1 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่	pH		เฉลี่ย	ความชื้น (%)		เฉลี่ย
ชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 3%	ก่อน	10.91	10.95	10.93	16	16	16
	หลัง	9.69	9.89	9.73	29	29	29
	10	7.88	8.02	7.90	21	19	20
	20	7.60	7.68	7.64	15	14	14
	30	7.35	7.34	7.34	12	12	12
	60	7.66	7.68	7.67	7	7	7
ชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 6%	ก่อน	10.61	10.65	10.63	17	14	15
	หลัง	9.70	9.68	9.64	28	28	28
	10	7.52	7.82	7.66	18	16	17
	20	7.40	7.18	7.29	15	14	14
	30	7.45	7.44	7.45	12	12	12
	60	7.83	7.88	7.86	9	9	9
ชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8%	ก่อน	10.91	10.85	10.88	15	13	14
	หลัง	9.60	9.71	9.64	28	27	27
	10	6.85	7.12	6.94	14	14	14
	20	6.59	6.78	6.69	12	11	11
	30	7.15	7.14	7.39	11	11	11
	60	7.53	7.58	7.55	10	10	10

2. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันเครื่องที่ปนเปื้อนในดินของจุลินทรีย์โดยกากชีวภาพ

2.1 ข้อมูลปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอน (OC)

ตารางผนวกที่ ข2 ปริมาณ OC ที่เหลืออยู่ในชุดควบคุมที่ไม่เติมกากชีวภาพ

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
0	3.73	3.17	3.16	3.35 ± 0.33	
1	3.86	3.14	3.04	3.35 ± 0.45	100
3	3.49	3.05	3.17	3.24 ± 0.23	97
5	3.29	3.29	3.05	3.21 ± 0.14	96
7	3.46	2.77	2.81	3.01 ± 0.39	90
10	2.85	2.75	3.29	2.96 ± 0.29	88
15	2.46	2.95	3.31	2.91 ± 0.43	87
20	2.89	3.31	2.22	2.81 ± 0.55	84
25	2.47	3.29	2.58	2.78 ± 0.45	83
30	2.45	2.57	3.29	2.77 ± 0.45	83
37	2.73	2.81	2.51	2.68 ± 0.16	80
45	2.98	2.59	2.52	2.66 ± 0.46	80
60	2.97	2.79	2.45	2.74 ± 0.66	82

ตารางผนวกที่ ข3 ปริมาณ OC ที่เหลืออยู่หลังการเติมกากชีวภาพในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 10%

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.55	3.51	3.03	3.36 ± 0.29	
หลัง	4.39	4.85	5.68	4.97 ± 0.65	100
1	4.45	4.91	5.51	4.95 ± 0.53	100
3	4.49	4.57	5.48	4.88 ± 0.66	98
5	4.55	4.56	5.14	4.74 ± 0.52	95
7	3.74	4.27	5.09	4.37 ± 0.68	88
10	3.22	3.61	4.64	3.82 ± 0.73	77
15	2.96	2.59	3.77	3.11 ± 0.60	63
20	2.85	2.58	3.55	2.99 ± 0.50	60
25	2.05	2.11	3.25	2.47 ± 0.68	50
30	2.04	1.81	3.11	2.32 ± 0.69	47
37	1.61	2.14	3.08	2.28 ± 0.74	46
45	1.34	2.61	2.72	2.22 ± 0.77	45
60	1.85	2.29	2.58	2.24 ± 0.36	45

ตารางผนวกที่ ข4 ปริมาณ OC ที่เหลืออยู่หลังการเติมกากชีวภาพในชุดทดลองเติมกากชีวภาพ 20%

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.72	3.28	3.01	3.34 ± 0.36	
หลัง	6.35	5.91	5.13	5.80 ± 0.62	100
1	6.24	5.85	5.25	5.78 ± 0.50	100
3	6.08	5.82	5.14	5.68 ± 0.49	98
5	6.01	5.61	5.25	5.62 ± 0.38	97
7	5.48	4.97	4.35	4.93 ± 0.57	85
10	4.62	3.85	3.35	3.94 ± 0.64	68
15	4.06	3.25	3.04	3.45 ± 0.54	60
20	3.83	3.06	2.68	3.19 ± 0.59	55
25	3.44	2.55	2.71	2.90 ± 0.47	50
30	3.21	2.55	2.35	2.70 ± 0.45	47
37	3.08	2.29	2.21	2.53 ± 0.48	44
45	2.75	2.55	1.87	2.29 ± 0.44	40
60	2.67	2.45	1.92	2.31 ± 0.40	40

ตารางผนวกที่ ข5 ปริมาณ OC ที่เหลืออยู่หลังการเติมกากชีวภาพในชุดการทดลองเติมกากชีวภาพ 30%

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.78	3.18	3.16	3.37 ± 0.35	
หลัง	6.44	7.57	6.36	6.79 ± 0.68	100
1	6.49	7.38	6.44	6.77 ± 0.53	100
3	6.13	7.18	6.41	6.57 ± 0.54	97
5	6.41	7.02	5.89	6.44 ± 0.57	95
7	5.05	6.25	5.01	5.43 ± 0.70	80
10	3.55	5.22	4.05	4.27 ± 0.85	63
15	3.24	4.81	3.45	3.87 ± 1.04	57
20	3.25	4.12	2.85	3.41 ± 0.80	50
25	3.04	3.54	2.50	3.03 ± 0.52	45
30	2.55	3.49	2.10	2.71 ± 0.68	40
37	2.45	3.05	2.05	2.52 ± 0.57	37
45	2.36	3.16	1.79	2.44 ± 0.69	36
60	2.15	3.18	1.55	2.29 ± 0.82	34

2.2 ข้อมูลปริมาณสารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (TPH)

ตารางผนวกที่ ข6 เปอร์เซ็นต์ TPH ที่เหลืออยู่ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพ

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
0	1,082	1,290	980	$1,117 \pm 157$	
1	980	1,251	954	$1,117 \pm 134$	100
3	1,030	1,270	982	$1,094 \pm 170$	98
5	1,075	1,241	954	$1,090 \pm 129$	98
7	954	1,251	980	$1,061 \pm 164$	95
10	975	1,150	940	$1,021 \pm 112$	92
15	912	1,145	890	982 ± 141	88
20	877	1,058	914	949 ± 95	85
25	981	1,028	774	927 ± 135	83
30	998	970	777	915 ± 120	82
37	947	992	740	893 ± 134	80
45	941	975	732	882 ± 131	79
60	874	987	818	893 ± 86	80

ตารางผนวกที่ ข7 เปอร์เซ็นต์ TPH ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 10%

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	1,020	1,390	1,230	1,213 ± 185	
หลัง	936	1,205	1,062	1,067 ± 134	100
1	945	1,204	1,021	1,056 ± 133	99
3	914	1,178	1,044	1,045 ± 132	98
5	925	1,171	944	1,013 ± 136	95
7	940	1,100	840	960 ± 131	90
10	764	953	780	832 ± 105	78
15	645	845	685	725 ± 105	68
20	496	681	614	597 ± 93	56
25	410	695	431	512 ± 158	48
30	354	557	401	437 ± 106	41
37	304	511	305	373 ± 119	35
45	286	485	382	384 ± 99	36
60	321	523	314	377 ± 93	35

ตารางผนวกที่ ข8 เปอร์เซ็นต์ TPH ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองเดิมกากีวภาพ 20%

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	1,100	1,070	1,250	1,140 ± 96	
หลัง	990	835	1,062	962 ± 116	100
1	845	980	1,055	960 ± 106	100
3	885	835	1,080	933 ± 129	97
5	795	894	985	894 ± 95	93
7	745	843	951	846 ± 103	88
10	720	717	901	779 ± 105	81
15	620	615	815	683 ± 114	71
20	609	525	685	606 ± 80	63
25	612	475	650	545 ± 92	57
30	510	442	570	507 ± 64	53
37	412	451	580	481 ± 87	50
45	395	498	573	488 ± 89	51
60	445	410	558	471 ± 77	49

ตารางผนวกที่ ข9 เปอร์เซ็นต์ TPH ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 30%

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	1,200	970	1,150	1,106 ± 120	
หลัง	933	695	842	823 ± 120	100
1	920	789	751	820 ± 88	100
3	850	715	823	798 ± 71	97
5	825	685	786	765 ± 72	93
7	836	644	715	732 ± 97	89
10	840	635	610	691 ± 126	84
15	720	631	600	650 ± 62	79
20	731	430	616	592 ± 151	72
25	650	412	620	559 ± 129	68
30	560	445	602	534 ± 81	65
37	550	477	462	494 ± 64	60
45	608	458	389	486 ± 111	59
60	589	412	540	510 ± 91	62

2.3 ข้อมูลปริมาณจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ ข10 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพ

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส (1: 0.1: 0.01)			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
0	2	5	5	7.10×10^6
1	4	4	2	4.70×10^7
3	2	2	2	1.40×10^8
5	3	3	1	2.10×10^8
7	2	0	0	4.50×10^8
10	1	3	0	8.30×10^8
15	4	0	2	2.10×10^8
20	5	5	2	5.40×10^8
25	0	0	2	9.20×10^7
30	3	2	5	1.20×10^8
37	4	4	4	7.10×10^7
45	4	5	5	4.60×10^7
60	5	4	4	3.50×10^5

ตารางผนวกที่ ข11 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 10%

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
	(1: 0.1: 0.01)			
ก่อนเดิม	2	5	4	1.10x10 ⁶
หลังเดิม	3	5	5	1.10x10 ⁸
1	0	2	1	5.50x10 ⁸
3	5	0	3	5.80x10 ⁸
5	5	2	3	1.20x10 ⁹
7	5	1	2	6.30x10 ⁹
10	5	1	2	6.30x10 ¹⁰
15	5	0	3	5.80x10 ¹¹
20	3	1	0	1.20x10 ¹¹
25	4	4	2	4.70x10 ¹¹
30	2	0	1	6.80x10 ¹¹
37	2	0	0	4.50x10 ¹⁰
45	4	4	0	3.40x10 ⁸
60	5	1	2	6.30x10 ⁷

ตารางผนวกที่ ข12 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดทดลองเดิมกากชีวภาพ 20%

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส (1: 0.1: 0.01)			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
ก่อนเติม	2	5	4	1.10×10^6
หลังเติม	0	3	5	4.90×10^8
1	4	4	1	7.10×10^8
3	5	1	3	8.40×10^8
5	1	1	2	8.10×10^9
7	2	0	2	9.10×10^{10}
10	0	2	1	5.50×10^{11}
15	5	2	0	4.90×10^{12}
20	5	1	2	6.30×10^{12}
25	3	4	1	2.40×10^{13}
30	5	5	3	9.20×10^{12}
37	0	2	1	5.50×10^{12}
45	1	2	1	8.20×10^{10}
60	5	2	0	4.90×10^{08}

ตารางผนวกที่ ข13 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 30%

วันที่	จำนวนหลอดที่โต			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
	(1: 0.1: 0.01)			
ก่อนเติม	1	0	0	2.00x10 ⁶
หลังเติม	5	2	1	7.40x10 ⁸
1	5	2	2	9.40x10 ⁸
3	5	3	2	1.40x10 ⁹
5	0	0	4	3.50x10 ¹⁰
7	0	4	3	6.30x10 ¹¹
10	2	5	5	7.80x10 ¹²
15	1	1	5	3.40x10 ¹³
20	0	1	3	6.30x10 ¹³
25	0	0	2	9.20x10 ¹³
30	1	4	3	2.60x10 ¹⁴
37	0	0	4	3.50x10 ¹³
45	0	5	2	5.80x10 ¹²
60	5	3	4	5.50x10 ⁹

3. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันเครื่องที่ปนเปื้อนในดินของจุลินทรีย์โดยนํายาชักฟ้า

3.1 ข้อมูลปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอน (OC)

ตารางผนวกที่ ข14 ปริมาณ OC ในชุดควบคุมเติมนํ้ากลั่น

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.24	3.15	3.68	3.36 ± 0.28	
หลัง	3.24	3.13	3.68	3.35 ± 0.29	100
1	3.24	3.15	3.66	3.35 ± 0.27	100
3	3.42	2.93	3.52	3.29 ± 0.32	98
5	3.19	2.95	3.43	3.19 ± 0.24	95
7	2.98	2.66	3.39	3.02 ± 0.37	90
10	2.95	2.51	3.26	2.92 ± 0.38	87
15	2.67	2.27	3.09	2.68 ± 0.41	80
20	2.59	2.39	2.86	2.62 ± 0.24	78
25	2.76	2.39	2.93	2.69 ± 0.28	80
30	2.77	2.33	2.87	2.66 ± 0.29	79
37	2.58	2.48	2.99	2.68 ± 0.27	80
45	2.57	2.35	2.82	2.59 ± 0.23	78
60	2.58	2.48	2.98	2.68 ± 0.26	80

ตารางผนวกที่ ข15 ปริมาณ OC ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 3%

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.32	3.82	3.06	3.40 ± 0.39	
หลัง	3.05	3.83	3.18	3.35 ± 0.42	100
1	3.07	3.72	3.06	3.28 ± 0.38	98
3	3.03	3.51	3.01	3.18 ± 0.28	95
5	3.01	2.91	2.61	2.84 ± 0.21	85
7	2.95	2.96	2.22	2.71 ± 0.42	81
10	2.57	3.09	2.05	2.57 ± 0.52	77
15	2.59	2.81	1.93	2.44 ± 0.46	73
20	2.25	2.74	1.94	2.31 ± 0.40	69
25	1.81	2.25	2.46	2.17 ± 0.33	65
30	1.89	2.32	2.11	2.11 ± 0.22	63
37	1.98	2.48	2.07	2.18 ± 0.27	65
45	2.06	2.65	1.62	2.11 ± 0.52	63
60	1.85	2.44	2.02	2.10 ± 0.30	63

ตารางผนวกที่ ข16 ปริมาณ OC ในชุดทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 6%

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.55	3.15	3.35	3.35 ± 0.20	
หลัง	3.65	3.17	3.16	3.33 ± 0.28	100
1	3.52	3.08	3.18	3.26 ± 0.23	98
3	3.42	2.58	3.41	3.14 ± 0.48	94
5	3.01	2.55	2.42	2.66 ± 0.31	80
7	2.82	2.01	2.15	2.33 ± 0.21	70
10	2.39	1.99	2.11	2.16 ± 0.19	65
15	2.15	1.78	2.03	1.99 ± 0.32	60
20	2.11	1.47	1.78	1.79 ± 0.21	54
25	2.05	1.67	1.72	1.81 ± 0.27	53
30	2.07	1.68	1.54	1.76 ± 0.27	53
37	1.91	1.39	1.77	1.69 ± 0.37	51
45	2.16	1.49	1.55	1.73 ± 0.49	52
60	2.35	1.65	1.41	1.80 ± 0.43	54

ตารางผนวกที่ ข17 ปริมาณ OC ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 8%

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.13	3.37	3.55	3.35 ± 0.21	
หลัง	3.04	3.41	3.54	3.33 ± 0.26	100
1	3.06	3.18	3.59	3.28 ± 0.37	98
3	2.46	3.39	3.58	3.14 ± 0.60	94
5	2.41	2.62	3.01	2.68 ± 0.30	80
7	1.78	2.27	2.46	2.17 ± 0.35	65
10	1.17	1.45	2.09	1.57 ± 0.47	47
15	1.06	1.47	1.98	1.50 ± 0.46	45
20	1.05	1.33	1.71	1.39 ± 0.34	42
25	1.04	1.21	2.04	1.43 ± 0.54	43
30	1.08	1.18	2.07	1.40 ± 0.58	42
37	1.11	1.21	1.87	1.40 ± 0.43	42
45	1.15	1.12	1.91	1.39 ± 0.46	42
60	1.15	1.35	2.13	1.44 ± 0.53	43

3.2 ข้อมูลปริมาณสารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (TPH)

ตารางผนวกที่ ข18 ปริมาณ TPH ในชุดควบคุมเติมน้ำกลั่น

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	1,290	1,050	1,270	$1,203 \pm 133$	
หลัง	1,254	990	1,185	$1,143 \pm 136$	100
1	1,210	1,010	1,175	$1,131 \pm 106$	99
3	1,114	987	1,225	$1,108 \pm 119$	97
5	1,158	957	1,177	$1,097 \pm 121$	96
7	1,072	960	1,121	$1,051 \pm 82$	92
10	1,025	957	1,102	$1,028 \pm 72$	90
15	1,125	908	950	994 ± 115	87
20	1,056	898	993	982 ± 79	86
25	1,045	953	848	948 ± 98	83
30	995	827	989	937 ± 95	82
37	954	856	932	914 ± 51	80
45	815	956	936	902 ± 76	79
60	831	890	952	891 ± 60	78

ตารางผนวกที่ ข19 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 3%

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	1,183	988	1,257	1,142 ± 138	
หลัง	990	965	1,217	1,057 ± 138	100
1	1,005	974	1,127	1,035 ± 80	98
3	940	985	1,088	1,004 ± 75	95
5	1,032	824	902	919 ± 105	87
7	835	750	950	845 ± 100	80
10	871	701	900	824 ± 107	78
15	740	621	861	740 ± 120	70
20	788	588	748	708 ± 105	67
25	709	567	785	687 ± 110	65
30	755	540	797	697 ± 137	66
37	707	547	775	676 ± 117	64
45	687	579	796	687 ± 108	65
60	680	565	775	673 ± 105	64

ตารางผนวกที่ ข20 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 6%

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	1,018	971	1,200	1,163 ± 120	
หลัง	1,210	950	1,110	1,090 ± 131	100
1	1,001	967	1,171	1,046 ± 109	96
3	1,008	870	1,162	1,013 ± 146	93
5	849	765	1,002	872 ± 120	80
7	715	599	976	763 ± 193	70
10	622	586	884	697 ± 162	64
15	612	501	850	654 ± 178	60
20	560	541	763	621 ± 123	57
25	590	545	695	610 ± 76	56
30	630	530	737	632 ± 103	58
37	650	521	705	625 ± 94	57
45	582	530	705	605 ± 89	56
60	601	508	701	603 ± 96	56

ตารางผนวกที่ ข21 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 8%

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	1026	1201	1350	1226 ± 103	
หลัง	987	1125	1201	1103 ± 108	100
1	981	964	1095	1014 ± 71	92
3	941	755	1050	915 ± 149	83
5	658	859	815	772 ± 105	70
7	685	806	620	705 ± 94	64
10	725	485	608	606 ± 120	55
15	630	475	625	573 ± 88	52
20	635	450	576	551 ± 94	50
25	415	593	620	540 ± 111	49
30	545	412	625	529 ± 107	48
37	620	425	586	545 ± 104	49
45	598	601	431	543 ± 97	49
60	504	459	601	522 ± 72	48

3.3 ข้อมูลปริมาณจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ ข22 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดควบคุมเติมน้ำกลั่น

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส (1: 0.1: 0.01)			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
ก่อน	0	1	1	3.60×10^7
หลัง	0	1	1	3.60×10^7
1	3	2	2	2.00×10^7
3	5	3	2	6.70×10^7
5	4	1	1	2.10×10^8
7	3	0	0	3.60×10^8
10	0	1	1	5.80×10^8
15	5	0	3	7.80×10^8
20	4	5	0	4.10×10^8
25	4	1	3	3.10×10^8
30	2	0	1	6.80×10^7
37	1	1	0	4.00×10^7
45	0	1	0	1.80×10^6
60	2	2	1	9.20×10^4

ตารางผนวกที่ ข23 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 3%

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส (1: 0.1: 0.01)			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
ก่อน	0	1	1	3.60×10^7
หลัง	5	2	2	9.40×10^6
1	4	1	0	1.70×10^7
3	4	2	0	6.10×10^6
5	1	1	2	1.30×10^7
7	2	0	2	9.10×10^7
10	5	2	1	7.40×10^9
15	5	4	2	2.20×10^9
20	5	4	4	3.50×10^8
25	5	3	0	7.90×10^7
30	4	5	0	4.10×10^7
37	2	2	0	9.20×10^6
45	3	0	0	7.80×10^6
60	3	3	1	2.10×10^6

ตารางผนวกที่ ข24 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 6%

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส (1: 0.1: 0.01)			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
ก่อน	3	3	1	2.10×10^7
หลัง	0	2	1	5.50×10^6
1	3	0	1	7.80×10^7
3	2	0	0	4.50×10^8
5	4	1	3	3.10×10^9
7	4	4	2	4.70×10^{10}
10	0	2	1	3.50×10^{10}
15	5	4	4	9.40×10^9
20	1	1	2	8.10×10^9
25	3	0	0	7.80×10^8
30	4	0	1	1.70×10^8
37	2	0	0	4.50×10^7
45	4	5	1	4.80×10^6
60	5	2	1	7.40×10^6

ตารางผนวกที่ ข25 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเติมน้ำยาซักผ้า 8%

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส (1: 0.1: 0.01)			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
ก่อน	0	1	1	3.60×10^7
หลัง	2	1	2	1.20×10^6
1	1	1	1	2.20×10^6
3	2	2	2	1.40×10^8
5	5	4	0	8.10×10^9
7	3	3	2	2.40×10^{11}
10	1	2	0	6.10×10^{11}
15	1	3	0	8.30×10^{10}
20	5	2	0	4.90×10^{10}
25	3	0	0	7.80×10^9
30	2	0	2	9.10×10^8
37	3	0	0	7.80×10^7
45	4	1	3	3.10×10^7
60	4	3	2	3.90×10^6

4. การศึกษาประสิทธิภาพการกำจัดน้ำมันเครื่องที่ปนเปื้อนในดินของจุลินทรีย์โดยกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้าความเข้มข้นต่างๆ

4.1 ข้อมูลปริมาณสารอินทรีย์คาร์บอน (OC)

ตารางผนวกที่ ข26 ปริมาณ OC ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมกากชีวภาพ

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.73	2.91	3.33	3.32 ± 0.41	
หลัง	3.51	3.33	3.12	3.32 ± 0.20	100
1	3.49	3.22	3.15	3.28 ± 0.18	99
3	3.43	3.15	3.08	3.22 ± 0.19	97
5	3.29	2.85	3.02	3.05 ± 0.22	92
7	3.08	2.81	2.76	2.88 ± 0.17	87
10	3.01	2.59	2.66	2.75 ± 0.23	83
15	3.02	2.96	2.46	2.81 ± 0.31	85
20	3.01	2.81	2.66	2.82 ± 0.18	85
25	3.01	2.69	2.64	2.78 ± 0.20	84
30	3.08	2.86	2.37	2.77 ± 0.36	84
37	3.08	2.86	2.24	2.72 ± 0.44	83
45	3.01	2.57	2.59	2.72 ± 0.25	83
60	3.03	2.58	2.45	2.68 ± 0.30	81

ตารางผนวกที่ ข27 ปริมาณ OC ชุดเติมน้ำกลั่น

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.50	3.11	3.30	3.30 ± 0.20	
หลัง	3.01	3.33	3.55	3.30 ± 0.27	100
1	3.05	3.06	3.59	3.23 ± 0.31	98
3	2.91	3.05	3.33	3.10 ± 0.21	94
5	2.75	2.94	3.32	2.97 ± 0.24	90
7	2.46	2.84	3.01	2.77 ± 0.28	84
10	2.39	2.66	3.15	2.73 ± 0.39	83
15	2.51	2.76	3.02	2.76 ± 0.26	84
20	2.59	2.55	3.01	2.72 ± 0.25	83
25	2.29	2.79	2.94	2.67 ± 0.34	81
30	2.58	2.57	2.95	2.70 ± 0.22	82
37	2.21	2.80	2.21	2.64 ± 0.38	80
45	2.15	2.82	2.84	2.60 ± 0.39	79
60	2.00	2.73	2.91	2.58 ± 0.31	79

ตารางผนวกที่ ข28 ปริมาณ OC ชุดที่มีการเติมกากชีวภาพ 10%

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.71	3.01	3.33	3.35 ± 0.35	
หลัง	5.62	4.53	4.91	5.02 ± 0.55	100
1	5.55	4.52	4.82	4.96 ± 0.53	99
3	5.23	4.43	4.78	4.81 ± 0.40	96
5	4.91	4.21	4.42	4.51 ± 0.36	90
7	4.74	3.96	4.38	4.36 ± 0.39	87
10	4.07	3.31	3.46	3.61 ± 0.40	72
15	3.55	2.76	3.32	3.21 ± 0.41	64
20	3.06	2.53	2.99	2.86 ± 0.29	57
25	3.04	2.59	2.49	2.71 ± 0.29	54
30	3.05	2.21	2.26	2.51 ± 0.47	50
37	3.02	2.14	2.71	2.61 ± 0.45	52
45	2.95	2.11	2.51	2.51 ± 0.42	50
60	3.03	2.21	2.73	2.66 ± 0.41	53

ตารางผนวกที่ ข29 ปริมาณ OC ชุดที่มีการเติมกากชีวภาพ 10%ร่วมกับน้ำกลั่น

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.73	3.01	3.31	3.35 ± 0.36	
หลัง	5.52	4.51	4.91	4.98 ± 0.51	100
1	5.35	4.38	4.76	4.83 ± 0.49	97
3	5.03	4.68	4.52	4.74 ± 0.26	95
5	4.85	3.83	4.42	4.37 ± 0.51	88
7	4.22	3.54	3.86	3.87 ± 0.34	78
10	3.76	2.96	3.11	3.28 ± 0.43	66
15	3.22	2.32	2.66	2.73 ± 0.45	55
20	3.01	2.05	2.53	2.53 ± 0.48	51
25	2.81	2.01	2.31	2.39 ± 0.40	48
30	2.71	2.07	2.25	2.34 ± 0.33	47
37	2.61	2.21	2.35	2.39 ± 0.20	48
45	2.79	2.04	2.23	2.35 ± 0.39	47
60	2.79	2.14	2.33	2.42 ± 0.33	49

ตารางผนวกที่ ข30 ปริมาณ OC ชุดที่มีการเติมกากชีวภาพ 10%ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 3%

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.63	3.03	3.23	3.30 ± 0.31	
หลัง	5.62	4.91	4.71	5.08 ± 0.48	100
1	5.22	4.75	4.49	4.82 ± 0.37	95
3	4.38	4.05	3.46	3.96 ± 0.47	78
5	3.42	3.06	2.65	3.04 ± 0.39	60
7	3.04	2.76	2.26	2.69 ± 0.40	53
10	2.76	2.14	1.79	2.23 ± 0.49	44
15	2.32	1.72	1.76	1.93 ± 0.34	38
20	2.08	1.53	1.71	1.77 ± 0.28	35
25	1.95	1.51	1.69	1.72 ± 0.22	34
30	2.06	1.78	1.62	1.82 ± 0.22	36
37	1.96	1.57	1.62	1.72 ± 0.21	34
45	2.06	1.73	1.67	1.82 ± 0.21	36
60	2.03	1.55	1.73	1.77 ± 0.22	35

ตารางผนวกที่ ข31 ปริมาณ OC ชุดที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 6%

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.53	3.21	3.23	3.32 ± 0.18	
หลัง	5.42	5.23	4.81	5.15 ± 0.31	100
1	5.15	4.62	4.13	4.63 ± 0.51	90
3	4.15	3.46	3.18	3.60 ± 0.50	70
5	2.92	2.35	2.44	2.57 ± 0.31	50
7	2.56	2.06	2.17	2.26 ± 0.26	44
10	1.91	1.99	1.36	1.75 ± 0.38	34
15	2.02	1.26	1.33	1.54 ± 0.42	30
20	1.37	1.13	1.49	1.33 ± 0.18	26
25	1.55	1.33	1.29	1.39 ± 0.14	27
30	1.78	1.18	1.06	1.34 ± 0.39	26
37	1.54	1.24	1.12	1.30 ± 0.22	25
45	1.67	1.14	1.19	1.33 ± 0.28	26
60	1.71	1.21	1.23	1.38 ± 0.36	27

ตารางผนวกที่ ข32 ปริมาณ OC ชุดที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8%

วันที่	ปริมาณ OC (%)			ค่าเฉลี่ย (%)	OC ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	3.42	3.65	3.01	3.36 ± 0.32	
หลัง	5.12	4.92	5.55	5.20 ± 0.32	100
1	4.43	4.11	4.71	4.42 ± 0.30	85
3	2.95	2.35	3.29	2.86 ± 0.48	55
5	2.11	1.74	2.06	1.97 ± 0.20	38
7	1.71	1.51	1.91	1.71 ± 0.20	33
10	1.39	1.39	1.56	1.45 ± 0.10	28
15	1.33	1.19	1.51	1.34 ± 0.16	26
20	1.31	1.21	1.39	1.30 ± 0.19	25
25	1.16	1.21	1.35	1.24 ± 0.10	24
30	1.02	1.16	1.38	1.19 ± 0.18	23
37	1.12	1.31	1.49	1.31 ± 0.19	25
45	1.03	1.18	1.32	1.18 ± 0.15	23
60	1.22	1.14	1.53	1.30 ± 0.21	25

4.2 ข้อมูลปริมาณสารประกอบปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (TPH)

ตารางผนวกที่ ข33 ปริมาณ TPH ในชุดควบคุมที่ไม่เติมกากชีวภาพ

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
0	1,080	918	1,178	1058 ± 131	100
1	1,074	909	1,159	1047 ± 127	99
3	1,057	884	1,105	1015 ± 116	96
5	1,044	877	1,095	1005 ± 114	95
7	1,011	844	1,065	973 ± 115	92
10	1,000	822	1,034	952 ± 113	90
15	955	800	1,005	920 ± 106	87
20	898	798	940	878 ± 72	83
25	888	778	935	867 ± 80	82
30	858	762	920	846 ± 79	80
37	864	784	921	856 ± 68	81
45	858	764	923	846 ± 79	80
60	845	756	920	840 ± 82	80

ตารางผนวกที่ ข34 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองการเติมน้ำกลั่น

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	1,120	978	1,068	1,055 ± 71	
หลัง	1,096	984	1,085	1,055 ± 61	100
1	1,059	981	1,061	1,033 ± 45	98
3	1,040	961	973	991 ± 42	94
5	987	931	929	949 ± 32	90
7	956	880	915	917 ± 38	87
10	956	811	921	915 ± 75	87
15	945	798	917	886 ± 78	84
20	910	784	840	844 ± 63	80
25	902	744	820	822 ± 79	78
30	907	732	818	819 ± 87	78
37	890	704	808	801 ± 93	76
45	899	700	841	813 ± 102	77
60	840	686	870	798 ± 98	76

ตารางผนวกที่ ข35 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 10%

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	1,110	1,088	984	$1,060 \pm 67$	
หลัง	1,045	982	830	952 ± 110	100
1	1,026	972	824	940 ± 104	100
3	1,002	952	816	923 ± 96	98
5	974	910	800	894 ± 88	95
7	945	857	770	857 ± 87	91
10	800	769	690	753 ± 56	80
15	730	672	520	640 ± 108	68
20	602	560	446	536 ± 80	57
25	558	415	385	452 ± 92	48
30	450	445	291	395 ± 90	42
37	418	400	285	367 ± 72	39
45	394	345	306	348 ± 44	37
60	390	363	282	345 ± 56	37

ตารางผนวกที่ ข36 ปริมาณ TPH ที่เหลืออยู่หลังการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำกลั่น

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	950	1ม158	1,134	1,080 ± 113	
หลัง	950	930	1025	968 ± 50	100
1	943	925	1006	958 ± 42	99
3	795	838	982	871 ± 97	90
5	740	768	903	803 ± 87	83
7	700	780	856	778 ± 78	75
10	505	662	690	619 ± 99	64
15	432	528	581	513 ± 75	53
20	405	452	507	454 ± 51	47
25	239	452	471	387 ± 128	40
30	256	400	419	358 ± 89	37
37	298	351	367	338 ± 36	35
45	274	394	397	355 ± 70	37
60	250	402	384	345 ± 83	36

ตารางผนวกที่ ข37 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 3%

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	1,125	985	1,024	1,044 ± 72	
หลัง	1,000	945	915	953 ± 43	100
1	972	842	871	895 ± 68	94
3	900	742	788	810 ± 81	85
5	821	675	704	733 ± 77	77
7	688	483	544	571 ± 105	60
10	516	417	410	447 ± 59	47
15	471	359	315	381 ± 80	40
20	407	300	293	333 ± 63	35
25	349	245	204	266 ± 74	28
30	337	185	194	238 ± 60	25
37	291	212	174	225 ± 59	24
45	291	210	154	218 ± 68	23
60	257	214	186	219 ± 35	23

ตารางผนวกที่ ข38 ปริมาณ TPH ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 6%

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	1,046	1,181	954	1,060 ± 114	
หลัง	941	1,088	899	976 ± 99	100
1	894	1,008	879	927 ± 70	95
3	812	781	748	780 ± 32	80
5	625	688	591	634 ± 49	65
7	361	560	455	458 ± 99	47
10	321	405	384	370 ± 43	38
15	256	305	259	273 ± 27	28
20	141	170	185	165 ± 22	17
25	120	178	141	146 ± 29	15
30	125	210	130	155 ± 47	16
37	112	184	144	146 ± 36	15
45	112	208	149	156 ± 48	16
60	145	170	114	145 ± 28	15

ตารางผนวกที่ ข39 ปริมาณ TPH ที่เหลือหลังการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8%

วันที่	ปริมาณ TPH (mg/kg)			ค่าเฉลี่ย (mg/kg)	TPH ที่เหลืออยู่ (%)
ก่อน	986	1,231	1,034	1,083 ± 129	
หลัง	1,068	990	920	992 ± 74	100
1	977	925	895	932 ± 41	94
3	894	650	742	762 ± 123	77
5	356	270	356	327 ± 49	33
7	278	159	249	228 ± 62	23
10	200	150	214	188 ± 33	19
15	100	146	200	148 ± 50	15
20	54	140	105	99 ± 43	10
25	49	114	75	79 ± 32	8
30	63	100	62	75 ± 21	8
37	61	105	41	69 ± 32	7
45	65	130	41	78 ± 46	8
60	50	90	62	67 ± 20	7

4.3 ข้อมูลปริมาณกิจกรรมเอนไซม์ Dehydrogenases (DHA)

ตารางผนวกที่ ข40 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสาร

วันที่	ปริมาณเอนไซม์ Dehydrogenases ($\mu\text{g TPF/g}$)				ค่าเฉลี่ย
ก่อน	48.37	39.05	25.02		37.48 ± 11.75
หลัง	33.45	49.51	26.51		36.49 ± 11.79
1	25.15	45.05	30.45		33.55 ± 10.35
3	29.95	49.51	38.52		38.95 ± 9.84
5	36.25	60.19	55.19		50.54 ± 12.62
7	37.56	64.65	50.41		50.87 ± 13.55
10	59.63	40.12	33.12		44.29 ± 13.78
15	52.32	30.12	50.17		44.20 ± 12.24
20	32.45	59.55	25.26		39.08 ± 18.08
25	30.45	40.12	54.21		41.59 ± 11.97
30	34.58	40.58	55.12		43.42 ± 10.56
37	39.14	59.84	34.12		44.36 ± 13.87
45	52.36	41.25	30.54		41.38 ± 10.91
60	37.21	34.54	58.49		43.41 ± 13.24

ตารางผนวกที่ ข41 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดควบคุมเติมน้ำกลั่น

วันที่	ปริมาณเอนไซม์ Dehydrogenases ($\mu\text{g TPF/g}$)			ค่าเฉลี่ย
ก่อน	21.37	42.05	39.91	34.44 ± 11.37
หลัง	30.45	41.51	30.59	34.18 ± 8.34
1	28.15	41.05	30.41	33.20 ± 6.88
3	27.95	45.51	38.56	37.34 ± 8.84
5	79.25	47.19	47.45	57.96 ± 18.43
7	70.56	84.65	55.45	70.22 ± 14.60
10	80.63	70.12	60.99	70.58 ± 9.82
15	52.32	84.12	68.96	68.46 ± 15.90
20	52.45	69.55	89.74	70.58 ± 18.66
25	50.45	70.12	85.65	68.74 ± 17.64
30	49.58	80.58	51.25	60.47 ± 17.43
37	39.14	69.84	67.54	58.84 ± 17.09
45	62.36	61.25	40.15	54.58 ± 12.51
60	41.21	64.54	67.55	57.76 ± 14.41

ตารางผนวกที่ ข42 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10%

วันที่	ปริมาณเอนไซม์ Dehydrogenases ($\mu\text{g TPF/g}$)			ค่าเฉลี่ย
ก่อน	25.37	33.45	38.91	32.57 ± 6.81
หลัง	60.45	40.05	50.59	50.36 ± 10.20
1	68.15	68.23	38.41	58.26 ± 17.19
3	84.95	88.65	58.97	77.52 ± 16.17
5	69.25	80.63	100.50	83.46 ± 15.81
7	150.6	91.47	85.45	109.17 ± 36.00
10	110.6	204.3	90.99	135.29 ± 60.55
15	199.3	111.5	149.00	153.26 ± 44.05
20	152.5	197.7	239.70	196.63 ± 43.60
25	220.5	135.6	255.70	203.93 ± 61.74
30	279.6	182.8	141.30	201.23 ± 70.96
37	189.1	223.2	120.00	177.43 ± 52.57
45	184.4	200.5	135.20	173.36 ± 34.01
60	217.2	194.3	110.60	174.03 ± 56.11

ตารางผนวกที่ ข43 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำ
กลั่น

วันที่	ปริมาณเอนไซม์ Dehydrogenases ($\mu\text{g TPF/g}$)			ค่าเฉลี่ย
ก่อน	35.65	27.45	42.91	35.33 $\pm$ 7.73
หลัง	72.82	57.05	74.59	68.15 $\pm$ 9.65
1	68.5	58.23	78.41	68.38 $\pm$ 10.09
3	88.45	78.65	98.97	88.69 $\pm$ 10.16
5	188.85	126.63	90.45	135.31 $\pm$ 49.77
7	108.63	151.47	221.45	160.51 $\pm$ 56.95
10	144.74	244.26	197.99	195.66 $\pm$ 49.80
15	234.65	131.52	238.96	201.71 $\pm$ 60.82
20	245.65	147.65	279.74	224.34 $\pm$ 68.57
25	229.54	150.62	308.65	229.60 $\pm$ 79.01
30	131.41	262.84	261.25	218.50 $\pm$ 75.42
37	127.15	199.21	240.01	188.79 $\pm$ 57.14
45	228.63	200.51	125.15	184.76 $\pm$ 53.50
60	99.65	219.32	240.55	186.50 $\pm$ 75.96

ตารางผนวกที่ ข44 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับ
น้ำยาซักผ้า 3%

วันที่	ปริมาณเอนไซม์ Dehydrogenases ($\mu\text{g TPF/g}$)			ค่าเฉลี่ย
ก่อน	30.65	44.75	28.91	34.77 ± 8.69
หลัง	80.82	61.35	50.59	64.25 ± 15.32
1	75.5	87.45	109.51	90.82 ± 17.25
3	141.45	201.56	108.97	150.66 ± 46.97
5	258.85	337.15	200.45	265.43 ± 68.59
7	341.63	259.69	331.45	310.92 ± 44.66
10	384.74	338.85	297.99	340.52 ± 43.39
15	414.65	297.44	358.96	357.01 ± 58.62
20	265.65	437.65	409.74	371.01 ± 92.30
25	309.54	378.54	478.65	388.91 ± 85.03
30	491.41	341.15	331.25	354.93 ± 89.74
37	431.15	440.96	290.01	387.37 ± 84.46
45	218.63	333.65	375.15	309.14 ± 81.08
60	224.65	343.21	380.55	316.13 ± 81.39

ตารางผนวกที่ ข45 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับ
น้ำยาซักผ้า 6%

วันที่	ปริมาณเอนไซม์ Dehydrogenases ($\mu\text{g TPF/g}$)			ค่าเฉลี่ย
ก่อน	33.71	30.75	41.91	35.45 $\pm$ 5.78
หลัง	51.54	51.35	80.59	61.16 $\pm$ 16.82
1	105.65	89.45	120.51	105.20 $\pm$ 15.53
3	232.55	301.56	178.97	237.69 $\pm$ 61.45
5	359.45	407.15	230.45	332.35 $\pm$ 91.41
7	435.35	319.69	411.45	388.83 $\pm$ 61.05
10	452.14	338.85	467.99	419.66 $\pm$ 70.43
15	365.65	477.44	468.96	437.35 $\pm$ 62.23
20	395.45	487.65	549.74	477.61 $\pm$ 77.63
25	448.63	598.54	448.65	498.60 $\pm$ 86.54
30	501.54	391.15	494.25	462.31 $\pm$ 94.73
37	461.15	419.96	520.01	467.04 $\pm$ 50.28
45	447.62	493.65	435.15	458.80 $\pm$ 30/81
60	370.65	503.21	450.55	441.47 $\pm$ 66.74

ตารางผนวกที่ ข46 ปริมาณ TPF ที่พบในชุดการทดลองที่มีการเติมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับ
น้ำยาซักผ้า 8%

วันที่	ปริมาณเอนไซม์ Dehydrogenases ($\mu\text{g TPF/g}$)			ค่าเฉลี่ย
ก่อน	39.71	27.75	28.15	31.87 ± 6.79
หลัง	55.54	71.35	63.52	63.47 ± 7.90
1	105.65	159.45	134.35	133.15 ± 26.92
3	312.55	451.56	383.32	382.47 ± 69.50
5	359.45	417.15	557.35	444.65 ± 101.77
7	585.35	419.69	579.44	528.16 ± 93.98
10	482.14	670.85	521.21	558.06 ± 99.60
15	585.65	477.44	686.45	583.18 ± 104.52
20	515.45	599.65	685.55	600.21 ± 85.05
25	618.63	498.54	674.75	597.30 ± 90.01
30	491.54	491.15	653.68	545.45 ± 93.72
37	561.15	649.96	400.85	537.32 ± 126.25
45	617.62	423.65	541.54	527.60 ± 97.73
60	300.65	603.21	651.74	518.53 ± 190.24

4.4 ข้อมูลปริมาณจุลินทรีย์

ตารางผนวกที่ ข47 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ในชุดควบคุมไม่มีการเติมสาร

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
	(1: 0.1: 0.01)			
ก่อน	0	2	1	5.50 x10 ⁶
หลัง	0	2	1	5.50 x10 ⁶
1	1	1	1	6.10 x10 ⁶
3	2	2	2	1.40 x10 ⁷
5	4	2	0	2.20 x10 ⁷
7	2	2	0	9.20 x10 ⁷
10	2	0	0	4.50 x10 ⁸
15	3	3	1	2.10 x10 ⁸
20	4	4	2	4.70 x10 ⁷
25	1	1	2	8.10 x10 ⁷
30	3	0	0	7.80 x10 ⁷
37	5	0	3	5.80 x10 ⁶
45	2	0	0	4.50 x10 ⁵
60	0	0	1	1.80 x10 ⁵

ตารางผนวกที่ ข48 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ในชุดควบคุมเติมน้ำกลั่น

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
	(1: 0.1: 0.01)			
ก่อน	0	0	1	1.80 x10 ⁶
หลัง	3	4	1	2.40 x10 ⁶
1	2	0	0	4.50 x10 ⁶
3	5	0	3	5.80 x10 ⁷
5	2	1	1	9.20 x10 ⁷
7	2	0	0	2.20 x10 ⁸
10	1	1	1	4.50 x10 ⁸
15	1	1	1	6.10 x10 ⁸
20	5	2	1	6.30 x10 ⁸
25	0	3	0	5.60 x10 ⁸
30	3	5	0	2.50 x10 ⁸
37	2	0	0	4.50 x10 ⁷
45	1	1	2	8.10 x10 ⁶
60	2	2	2	1.40 x10 ⁶

ตารางผนวกที่ ข49 ปริมาณจุลินทรีย์ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 10%

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
	(1: 0.1: 0.01)			
ก่อน	2	0	0	4.50 x10 ⁶
หลัง	0	0	1	1.80 x10 ⁸
1	0	2	1	5.50 x10 ⁸
3	2	0	2	9.10 x10 ⁸
5	0	2	0	3.70 x10 ⁹
7	2	0	1	6.80 x10 ⁹
10	2	3	1	1.40 x10 ¹⁰
15	5	0	3	5.80 x10 ¹⁰
20	4	4	2	4.70 x10 ¹⁰
25	5	3	0	7.90 x10 ⁹
30	4	2	3	3.80 x10 ⁸
37	2	2	0	9.20 x10 ⁷
45	2	0	0	4.50 x10 ⁷
60	0	1	1	3.60 x10 ⁶

ตารางผนวกที่ ข50 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำ
กลั่น

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
	(1: 0.1: 0.01)			
ก่อน	2	0	0	4.50 x10 ⁶
หลัง	2	0	0	4.50 x10 ⁸
1	2	2	1	9.20 x10 ⁸
3	1	2	0	6.10 x10 ⁹
5	3	1	0	1.10 x10 ¹⁰
7	1	2	1	8.20 x10 ¹⁰
10	2	1	2	9.20 x10 ¹⁰
15	1	2	0	6.10 x10 ¹⁰
20	0	2	0	3.70 x10 ¹⁰
25	3	3	1	2.20 x10 ¹⁰
30	5	2	1	7.40 x10 ⁹
37	4	4	2	4.70 x10 ⁸
45	2	1	0	6.80 x10 ⁷
60	0	3	0	5.60 x10 ⁶

ตารางผนวกที่ ข51 ปริมาณจุลินทรีย์ที่ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 3%

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
	(1: 0.1: 0.01)			
ก่อน	0	2	1	5.50 x10 ⁶
หลัง	1	1	1	6.10 x10 ⁷
1	1	3	0	8.30 x10 ⁷
3	0	1	0	1.80 x10 ⁹
5	0	3	0	5.60 x10 ¹⁰
7	1	3	0	8.30 x10 ¹¹
10	1	2	1	8.20 x10 ¹¹
15	2	2	0	9.20 x10 ¹²
20	0	3	0	5.60 x10 ¹¹
25	4	4	2	4.70 x10 ¹¹
30	4	1	1	2.10 x10 ¹¹
37	1	2	0	6.10 x10 ⁹
45	2	2	2	1.40 x10 ⁹
60	0	1	1	3.60 x10 ⁷

ตารางผนวกที่ ข52 ปริมาณจุลินทรีย์ที่ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 6%

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
	(1: 0.1: 0.01)			
ก่อน	0	2	1	5.50 x10 ⁶
หลัง	2	0	0	4.50 x10 ⁷
1	2	2	1	7.80 x10 ⁷
3	2	0	0	4.50 x10 ¹⁰
5	1	2	0	6.10 x10 ¹¹
7	3	3	2	2.40 x10 ¹²
10	2	0	0	4.50 x10 ¹³
15	1	1	2	8.10 x10 ¹²
20	2	0	2	9.10 x10 ¹²
25	0	2	0	3.70 x10 ¹¹
30	1	0	2	6.00 x10 ¹¹
37	3	0	0	7.80 x10 ⁹
45	1	0	2	6.00 x10 ⁸
60	2	0	0	4.50 x10 ⁸

ตารางผนวกที่ ข53 ปริมาณจุลินทรีย์ที่ในชุดการทดลองเดิมกากชีวภาพ 10% ร่วมกับน้ำยาซักผ้า 8%

วันที่	จำนวนหลอดที่ใส			ปริมาณจุลินทรีย์ (MPN/g)
	(1: 0.1: 0.01)			
ก่อน	1	1	1	6.10 x10 ⁶
หลัง	0	2	0	3.70 x10 ⁷
1	0	3	0	5.60 x10 ⁷
3	1	0	2	6.00 x10 ¹¹
5	1	4	0	1.10 x10 ¹³
7	3	0	0	7.80 x10 ¹³
10	2	0	2	9.10 x10 ¹⁴
15	2	0	0	4.50 x10 ¹³
20	4	2	0	2.20 x10 ¹²
25	5	1	2	6.30 x10 ¹¹
30	1	4	0	1.10 x10 ⁹
37	2	0	0	4.50 x10 ⁷
45	3	0	0	7.80 x10 ⁷
60	0	3	0	5.60 x10 ⁷



1. การวิเคราะห์

1.1 การวิเคราะห์ปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนทั้งหมด (Mehrasbi, 2003)

1.1.1 ชั่งตัวอย่างดิน 5 กรัมจากการทดลองใส่ในพลาสติกรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร

1.1.2 เติมสารละลาย toluene 10 มิลลิลิตร แก้วพลาสติกเบาๆ เพื่อให้สารละลายกับดิน ผสมกันประมาณ 20-40 นาที

1.1.3 นำตัวอย่างที่ได้ไปตรวจวัดปริมาณปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนด้วยเครื่อง Uv-spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร โดยใช้ toluene ที่ไม่มีการเติมตัวอย่างดินเป็น แบลงค์

1.2 การวัดค่าพีเอช (กองวิเคราะห์ดิน, 2540)

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำ DI 10 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน 20 นาที เมื่อครบกำหนดนำมาวัดด้วยเครื่อง pH meter ก่อนวัดต้องเปิดเครื่องทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นปรับเครื่อง ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่พีเอช 4, 7 และ 10 ตามลำดับ แล้วนำไปวัดพีเอชของตัวอย่างดินที่เตรียมไว้

1.3. การวิเคราะห์หาสารอินทรีย์ในดินด้วยวิธี Walkley Black modified acid-dichromate digestion, FeSO_4 titration method (กองวิเคราะห์ดิน, 2540)

1.3.1 ชั่งตัวอย่างดิน 0.5 กรัม ใส่ในพลาสติกรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

1.3.2 เติมสารละลายโปแทสเซียมไดโครเมท 1.0 นอร์มอล 10 มิลลิลิตร ด้วย volumetric pipet และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นด้วยกระบอกตวงลงไป 20 มิลลิลิตร แก้วพลาสติกเบาๆ เพื่อให้สารละลายกับตะกอนดินผสมกันประมาณ 1-2 นาที แล้วทิ้งไว้ประมาณ 20-30 นาที (ขั้นตอนนี้ทำในตู้ควัน)

1.3.3 เติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 100 มิลลิลิตร และหยดเฟอโรอิน อินดิเคเตอร์ลงไป 4-5 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 นอร์มอล จนกระทั่งสีของสารแขวนลอยเปลี่ยนจากเขียวเป็นน้ำตาลแดง บันทึกปริมาตรของสารละลายสารละลายเฟอร์รัส

แอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไปถ้าไตเตรทด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเกินจุดยุติ ให้เติมสารละลายโปแทสเซียมไดโครเมท ลงไปอีก 0.5-1 มิลลิลิตร แล้วไตเตรทด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตอีกครั้งหนึ่ง จุดยุติคือ จุดที่อินดิเคเตอร์ เริ่มเปลี่ยนจากเขียวเป็นน้ำตาลแดง

1.3.4 วิเคราะห์หาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ (วิเคราะห์แบลงค์) โดยทำเฉพาะข้อ 2 และข้อ 3 บันทึกปริมาตรของสารละลายสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้

1.3.5 กำหนดปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (OC) เป็นร้อยละ โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ OC} = \frac{(B-S) \times N \times 0.336}{W}$$

เปอร์เซ็นต์อินทรีย์วัตถุ = เปอร์เซ็นต์อินทรีย์คาร์บอน x 1.72

เมื่อ B = ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทแบลงค์ (มิลลิลิตร)

S = ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

1.4 การหา Enzyme Activity (Dehydrogenase activity) (ดัดแปลงจาก Okuda *et al.*, 2014)

1.4.1 ชั่งตัวอย่างดิน 5 กรัม ใส่ในพลาสติกสุญญากาศ 250 มิลลิลิตร

1.4.2 เติมน้ำ 0.1% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) 5 มิลลิลิตร และ 0.2 mol L⁻¹ Tris/HCl buffer (pH 7.6) เขย่าให้สารเป็นเนื้อเดียวกัน 2 นาที

1.4.3 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (สำหรับชุดควบคุมไม่ต้องเติมดิน)

1.4.4 เติมน้ำ 1 M H₂SO₄ และ toluene 5 มิลลิลิตร เพื่อหยุดการทำปฏิกิริยา

1.4.5 นำตัวอย่างบ่มต่อด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที

1.4.6 นำไปทำการตรวจวัด Dehydrogenase activity ด้วยเครื่อง Uv-spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 484 นาโนเมตร โดยจะแสดงออกเป็นปริมาณของ triphenyl formazan (TPF) โดยการลดลงของ TTC

1.5. การหาจำนวนเชื้อ ด้วยวิธี MPN

1.5.1 ตักตัวอย่างดินที่ทำการทดลองปริมาตร 2 กรัม เติมลงในสารละลาย 0.85% Normal saline ปริมาตร 18 มิลลิลิตร

1.5.2 ทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 1:10, 1:100 และ 1:1000 ตามลำดับ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) ความเข้มข้นละ 5 หลอด

1.5.3 คูณ suspension จากข้อ 1.5.2 ทำการเจือจางแบบ Ten-fold dilution ที่ระดับความเจือจางตามต้องการ

1.5.4 นำหลอดอาหาร ไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

1.5.5 นำหลอดทดลองที่ไม่พบการเจริญของเชื้อเทียบในตาราง MPN แบบ 5 หลอด

1.6 แคลเซียม และ แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable Na^+ , K^+ , Ca^{++} และ Mg^{++}) (กองวิเคราะห์ดิน, 2540)

1.6.1 ชั่งตัวอย่างที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 mm 5 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 ml

1.6.2 เติม 1 M NH_4OAc pH 7.0 ปริมาณ 50 ml เขย่าให้เข้ากันดี ตั้งทิ้ง 1 คืน

1.6.3 กรองดินตัวอย่างโดยใช้ Buchner funnel ค่อยๆ ล้างตัวอย่างดินบนกรวย อีก 3-4 ครั้ง ด้วยสารละลาย NH_4OAc ครั้งละประมาณ 10 ml

1.6.4 นำสารละลายที่กรองได้ ปรับปริมาตรเป็น 100 ml เก็บไว้สำหรับวิเคราะห์ ปริมาณ exchangeable Ca^{++} , Mg^{++} , Na^+ และ K^+ ต่อไป

1.6.5 เจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยสารละลายสตรอนเทียมคลอไรด์ ($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 1,500 mg/L

1.6.6 วัดค่าความเข้มข้นของแคลเซียม และแมกนีเซียมของสารละลายตัวอย่าง ด้วย เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer โดยกำหนดความยาวคลื่นในการวัดแคลเซียม และแมกนีเซียม เป็น 422.6 และ 285.2 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน มาตรฐาน แคลเซียม และแมกนีเซียม

1.6.7 คำนวณหาปริมาณ exchangeable Ca^{++} และ Mg^{++}

วิธีคำนวณ

$$\text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Ca}^{++} \text{ หรือ } \text{Mg}^{++}, \text{ cmol/kg} = \frac{\text{ค่าที่อ่านได้ (mg/L)} \times 2 \times \text{df}}{\text{น้ำหนักสมมูลของ } \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Ca}^{++} \text{ หรือ } \text{Mg}^{++}}$$

$$\text{df} = \text{dilution factor}$$

1.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดิน (Cation Exchange Capacity, C.E.C.) (กองวิเคราะห์ดิน, 2540)

1.7.1 ชั่งดิน 5 กรัม ใส่ใน ขวดชมพู ขนาด 125 มล. เติม 1 M pH 7.0 NH_4OAc 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 1 คืน

1.7.2 นำมากรองโดยใช้กรวยบุชเนอร์ (Buchner funnel) ต่อเข้ากับขวดกรอง ใช้ กระดาษกรอง Whatman No.5 จำนวน 1 แผ่น (หรือใช้ No. 42 จำนวน 1 แผ่น หรือ No. 1 จำนวน 2 แผ่นแทน กันได้) ล้างตัวอย่างดินด้วย 1 M NH_4OAc pH 7.0 ทีละน้อย หลาย ๆ ครั้ง จนได้ปริมาตร เกือบ 100 มิลลิลิตร นำสารละลายที่กรองได้นี้ถ่ายใส่ Volumetric flask แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ไว้สำหรับวิเคราะห์ ปริมาณ exchangeable cations Ca^{++} , Mg^{++} , Na^+ และ K^+ ต่อไป

1.7.3 ล้างตัวอย่างดินในกรวยบุษเนอร์ ในข้อ 1.7.2 ด้วย 1 M NH_4OAc pH 7.0 อีก 5 ครั้งๆ ละ ประมาณ 20 มิลลิลิตร

1.7.4 ล้างตัวอย่างดินด้วย 1 M NH_4Cl pH 7.0 5 ครั้ง ๆ ละ ประมาณ 20 มิลลิลิตร

1.7.5 ล้างตัวอย่างดินด้วย 0.25 M NH_4Cl pH 7.0 ประมาณ 20 มิลลิลิตร 1 ครั้ง

1.7.6 ล้างด้วย ethyl alcohol 95 % อีก 5 - 6 ครั้ง ๆ ละ ประมาณ 20 มิลลิลิตร ทุกครั้งที่ล้างใช้กระบอกฉีด ล้างตัวอย่างดินที่อาจติดค้างอยู่ที่ปาก buchner funnel ให้ลงไปรวมอยู่ในกรวยให้หมด สารละลายที่ได้จากข้อ 1.7.3 - ข้อ 1.7.6 เททิ้งไป (การล้างด้วย alcohol เพื่อล้างแอมโมเนียมส่วนเกินที่ดินไม่ได้ แลกเปลี่ยนออกให้หมด ซึ่งทดสอบได้จากปริมาณคลอไรด์ไม่มีหลงเหลืออยู่ในดินโดยหยด สารละลาย AgNO_3 0.1 M 1 - 2 หยด ลงในสารละลายที่รองรับมาจาก buchner funnel โดยตรงยังไม่ได้หยดลงสู่ขวดกรอง ถ้ามีตะกอนสีขาวเกิดขึ้นแสดงว่ายังล้างแอมโมเนียมไม่หมด ต้องล้าง ตัวอย่างดินด้วย ethyl alcohol 95 % ต่อไปอีก แล้วทดสอบคลอไรด์ใหม่ดังที่กล่าวมาแล้ว จนไม่มีตะกอนสีขาวนั้นแสดงว่าล้างแอมโมเนียมหมดแล้ว)

1.7.7 เปลี่ยนขวดกรองใหม่ สำหรับรองรับสารละลายใหม่ ล้างตัวอย่างดินที่ยังอยู่ในกรวยบุษเนอร์ใน ข้อ 1.7.6 ด้วย acidified NaCl 10 % แต่แต่ละครั้งที่ล้างให้ใส่สารละลาย NaCl ให้ท่วมตัวอย่างดิน จนกระทั่งได้สารละลายที่กรองได้ (leachate) ประมาณ 300-350 มิลลิลิตร

1.7.8 ถ่ายได้สารละลายที่กรองได้ใส่ในขวดกลั่น ล้างขวดกรองด้วยน้ำกลั่นและเทน้ำที่ล้างรวมลงไปขวดกลั่น

1.7.9 นำขวดกลั่นไปกลั่น โดยเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40% ลงไปในขวดกลั่นให้มากเกินพอ (ประมาณ 30 มิลลิลิตร) โดยมีสารละลายกรดบอริก (H_3BO_3) 3% ประมาณ 30 มิลลิลิตร ใส่ในขวดชมพูขนาด 500 มิลลิลิตร คอยรองรับสารละลายที่กลั่นออกมาได้ และในสารละลายกรดบอริกนี้ใส่อินดิเคเตอร์ผสมประมาณ 5 หยด ใช้เวลากลั่น ประมาณ 40 - 45 นาที หรือจนกลั่นได้สารละลายประมาณ 250-275 มิลลิลิตร

1.7.10 นำสารละลายที่กลั่นได้ในขวดชมพูที่รองรับไปไตเตรทกับสารละลายกรดเกลือ 0.1 N จุดยุติ คือ สีของอินดิเคเตอร์ในสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีแดง บันทึกปริมาตรของกรดเกลือที่ใช้ไตเตรท แล้วนำมาคำนวณค่า CEC

1.7.11 นำสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 10% ที่ใช้ล้างดินมากลั่นเป็น Blank โดยทำเช่นเดียวกับตัวอย่างดิน

วิธีคำนวณ

$$\text{CEC (cmol/kg)} = \frac{(T - B) \times N \times 100 \times \text{AD} / \text{OD}}{\text{Sample wt. (gm.)}}$$

T = ปริมาตรกรดเกลือที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่างดิน

B = ปริมาตรกรดเกลือที่ใช้ไตเตรทกับ Blank

N = ความเข้มข้นของกรดเกลือมีหน่วยเป็นนอร์มัลลิตี (normality)

AD / OD = อัตราส่วนน้ำหนักดินกับดินอบแห้ง (airdried / oven - dried ratio)

การแปลผล

ตารางผนวกที่ ค1 ระดับปริมาณความสามารถในการแลกเปลี่ยนแคตไอออนของดิน

CEC, cmol/kg	ระดับ
< 5	ต่ำมาก
5 – 15	ต่ำ
15 – 25	ปานกลาง
25 – 40	สูง
> 40	สูงมาก

1.8 การวัดค่าการนำไฟฟ้าของดิน Electrical Conductivity (EC) (กองวิเคราะห์ดิน, 2540)

1.8.1 การสกัดดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำ

ใส่ดินในบีกเกอร์ประมาณ 400 – 500 กรัม ค่อยๆ เทน้ำกลั่นลงไปดิน และกวนจนดินอิ่มตัวด้วยน้ำ ดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำจะมีผิวมัน สะท้อนแสง และเมื่อใช้ spatula ตักขึ้นมาแล้วเทกลับ ดินจะค่อยๆ ไหลลง โดยไม่เหลือติด spatula (ในดินเหนียว) เมื่อทำการกวนจนดีแล้ว ทิ้งไว้ค้างคืน ตรวจสอบอีกครั้งหนึ่งก่อนนำไปอัดน้ำออกจากดิน ถ้าดินแห้งแข็งให้เติมน้ำลงไปอีกแล้วกวน ให้เข้ากันอีกครั้งหนึ่ง ถ้ามีน้ำอยู่บนผิวดิน ให้เติมดินเพิ่ม กวนจนแน่ใจว่าดินอิ่มตัวด้วยน้ำพอดี นำไปสกัดด้วยเครื่องอัดน้ำออกจากดิน แล้วจึงนำสารละลายที่ได้มาวัดค่า EC ด้วยเครื่อง Electrical Conductivity meter โดยใช้สารละลายมาตรฐาน KCl 0.01 M หรือ 0.1 M ปรับค่าคงที่ (cell constant) ของเครื่อง Electrical Conductivity meter ที่ $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ จะมีค่า = 1.412 dS m หรือ 12.88 dS m

1.8.2 การสกัดในอัตราส่วน ดิน: น้ำ = 1 : 5

ชั่งดิน 4 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 40 มิลลิลิตร ใส่ น้ำ 20 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วเป็นระยะๆ นานครึ่งชั่วโมง หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ครึ่งชั่วโมง แล้วจึงนำไปอ่านค่า EC โดยเครื่อง Electrical Conductivity meter โดยใช้สารละลายมาตรฐาน KCl 0.01 M หรือ 0.1 M ปรับค่าคงที่ (cell constant) ของเครื่อง Electrical Conductivity meter ที่ $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ จะมีค่าเท่ากับ 1.412 dS m หรือ 12.88 dS m

1.8.3 การคำนวณ

ค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายสูงขึ้นประมาณ 2% เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ เครื่องมือวัดที่ไม่สามารถคำนวณแปลงค่าที่วัดได้เป็นค่าที่อุณหภูมิ ควรวัดอุณหภูมิสารละลายแล้วคำนวณเป็นค่า การนำไฟฟ้าที่อุณหภูมิ $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ตามสมการ

$$EC_{25} = EC_t / [1 + 0.02(t - 25)]$$

เมื่อ EC_{25} = ค่าการนำไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 25 C°
 EC_t = ค่าการนำไฟฟ้าที่วัดได้ที่อุณหภูมิ t
 t = อุณหภูมิ (C°)

1.8.4 การแปลผล

ตารางผนวกที่ ค2 การแปลผลค่า EC ดินอิมด้วยน้ำที่ 25 C°

ระดับความเค็ม	ค่าการนำไฟฟ้า (mS/cm) ที่เนื้อดินต่าง				
	ทราย/ร่วนปน ทราย	ร่วน	ร่วนปน เหนียว	ค่อนข้าง เหนียว	เหนียวจัด
ไม่เค็ม	<0.15	<0.17	<0.25	<0.30	<0.40
เค็มน้อยมาก	0.16 – 0.30	0.18 – 0.35	0.26 – 0.45	0.31 – 0.60	0.41 – 0.80
เค็มปานกลาง	0.31 – 0.60	0.36 – 0.75	0.46 – 0.75	0.61 – 1.15	0.81 – 1.60
เค็มจัด	0.61 – 1.20	0.76 – 1.50	0.91 – 1.75	1.16 – 2.30	1.61 – 3.20
เค็มจัดมาก	>1.20	>1.50	>1.75	>2.30	>3.20

2. การเตรียมสารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 การเตรียมสารเคมี

2.1.1 สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 1.0 N

ละลาย $K_2Cr_2O_7$ (A.R grade อบที่ 105 C° 24 ชั่วโมง) 49.04 กรัมในน้ำกลั่น แล้วทำสารละลายให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.1.2 สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (FAS) 0.5 N

ละลาย $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 196.1 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ที่มีกรด H_2SO_4 เข้มข้น อยู่ 20 มิลลิลิตร แล้วทำให้เป็นสารละลาย 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล

2.1.3 สารละลายออร์โทไฟฟเฟนโทรีน อินดิเคเตอร์

ละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.7 กรัม และออร์โทไฟฟเฟนโทรีน 1.48 กรัม ในน้ำกลั่น และทำให้มีปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.1.4 Normal saline 0.85%

NaCl	8.5	กรัม
น้ำกลั่น	1.000	มิลลิลิตร

ละลาย NaCl 8.5 กรัมในน้ำกลั่น

2.1.5 0.2 M Tris-HCl pH 7.6

Tris-HCl	6.055	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลาย Tris-HCl กรัมในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้ได้ 7.6

2.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2.1 Nutrient Agar (NA) (1ลิตร) ประกอบด้วย

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Agar	15	กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดผสมในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร หลอมให้ละลาย นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2.2.2 Nutrient Broth (NB) (1 ลิตร) ประกอบด้วย

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดผสมในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร หลอมให้ละลาย นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2.2.3 Mineral salt agar (ดัดแปลงจาก วิภา, 2546)

K ₂ HPO ₄	1.8	กรัม
KH ₂ PO ₄	1.2	กรัม
NH ₄ Cl	4.0	กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	กรัม
NaCl	0.1	กรัม
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01	กรัม
Agar	15	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่นปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่า pH เป็น 7.0 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ร่อนอาหารเลี้ยงเชื้ออุ่นประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมน้ำมันลงไปเป็นแหล่งคาร์บอน 0.2 %

2.2.4 Mineral salt Broth (ดัดแปลงจาก วิภา, 2546)

K ₂ HPO ₄	1.8	กรัม
KH ₂ PO ₄	1.2	กรัม
NH ₄ Cl	4.0	กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	กรัม
NaCl	0.1	กรัม
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดมาละลายในน้ำกลั่นปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่า pH เป็น 7.0 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ร่อนอาหารเลี้ยงเชื้ออุ่นประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมน้ำมันลงไปเป็น แหล่งคาร์บอน 0.2 %



ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นายกิตติศักดิ์ จินาคม
เกิดวันที่	26 มิถุนายน 2530
สถานที่เกิด	จังหวัดสมุทรปราการ
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (วิทยาศาสตร์) สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาบงเขน
ตำแหน่งปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ได้รับทุนสนับสนุนการจัดทำเล่มวิทยานิพนธ์จากบัณฑิต วิทยาลัยของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปี 2555