

ศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 2 ชนิด ( แรมโนลิพิด ผลิตจาก *Pseudomonas aeruginosa* สายพันธุ์ A41 และเซอร์แฟคติน ผลิตจาก *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ BBK1) และสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ 2 ชนิด (ไตรตอนเอ็กซ์-100 และสารเคมีขจัดคราบน้ำมันเคมเทค 307) ต่อการย่อยสลายน้ำมันดิบเมอร์บานชนิดเบา โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากทรายทะเลที่ปนเปื้อนคราบน้ำมันบริเวณชายหาดหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และชายหาดพัทยา จังหวัดชลบุรี พบไฮโซเลต HU2 จากชายหาดหัวหิน มีความสามารถสูงสุดในการย่อยสลายน้ำมันดิบ จำแนกชนิดทางอนุกรมวิธานด้วยการวิเคราะห์ 16S rDNA ของไฮโซเลต HU2 เป็นแบคทีเรียสกุล *Brevundimonas* ด้วยความคล้ายคลึง 99.3% และให้ชื่อว่า *Brevundimonas* sp. สายพันธุ์ HU2 มีลักษณะรูปร่างท่อนสั้นโค้ง ติดสีแกรมลบ ไม่เคลื่อนที่ ทนเค็มได้ 10% ไม่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวได้ การทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอนสามารถย่อยสลายอัลเคนที่เป็นโซ่ตรงสายยาว และน้ำมันหลายชนิดได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายพอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนและสารลดแรงตึงผิวได้ ศึกษาการย่อยสลายน้ำมันดิบโดยแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ ในอาหารเหลว BH ที่มีน้ำทะเลและทรายทะเลปลอดเชื้อ ที่มีน้ำมันดิบความเข้มข้น 1 % ที่ความเป็นกรด-ด่าง 7.5 เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30°C. นับจำนวนเชื้อที่เพิ่มขึ้น และวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันดิบที่เหลืออยู่โดยใช้ FTIR และ GC-FID พบว่า ภายในเวลา 8 วัน ปริมาณน้ำมันดิบถูกย่อยสลายเหลือ 10.41 % เปรียบเทียบกับปริมาณน้ำมันดิบที่ย่อยสลายทางกายภาพเหลืออยู่ 77.83 % ผลของการเติมสารลดแรงตึงผิว 4 ชนิดลงไปในการเลี้ยงเชื้อพบว่า ที่ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่มีค่าการกระจายตัวของน้ำมันที่เท่ากัน (78.6 ตร.มม.) ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่า CMC แรมโนลิพิด เซอร์แฟคติน และเคมเทค 307 สามารถเพิ่มการเจริญและการย่อยสลายน้ำมันดิบของเชื้อได้เร็วขึ้นกว่าไม่มีการเติม โดยไม่พบปริมาณน้ำมันดิบในวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อ ส่วนไตรตอนเอ็กซ์-100 และการเติมแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิว *P.aeruginosa* สายพันธุ์ A41 และ *B.subtilis* สายพันธุ์ BBK1 ไม่พบปริมาณน้ำมันดิบในวันที่ 3 ของการเลี้ยงเชื้อ เปรียบเทียบกับการย่อยสลายทางกายภาพเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวในวันที่ 4 ถูกย่อยสลายไปเหลือ 53.39-61.09 % เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวที่ความเข้มข้นเท่ากับหรือน้อยกว่าค่า CMC (และที่ความเข้มข้นเท่ากัน 0.01 %) การเจริญและการย่อยสลายน้ำมันดิบจะเกิดขึ้นได้ แต่ช้ากว่าที่ความเข้มข้นสูงกว่าค่า CMC นอกจากนี้ยังพบว่า ธาตุอาหารในน้ำทะเลและอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลต่อการเจริญและการย่อยสลายน้ำมันดิบของแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ด้วย

## 4572331123 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORDS : BIOSURFACTANTS / CRUDE-OIL / *Brevundimonas* sp. / BIODEGRADATION / CMC

NOPBHADOL SAWARNGNAVIN, LT: EFECTS OF SURFACTANTS ON CRUDE-OIL DEGRADATION BY MICROORGANISMS ISOLATED FROM PETROLEUM-CONTAMINATED MARINE SAND. THESIS ADVISOR: ASST.PROF. JIRAPORN THANIVAVARN., THESIS COADVISOR : ASST.PROF.SUTHEP THANIVAVARN, Ph.D. 167 pp. ISBN 974-53-2108-7

A study was conducted to persue the effects of two biosurfactants (rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* strain A41, and surfactin produced by *Bacillus subtilis* strain BBK1) and two synthetic surfactants (triton X-100, and oil-spill dispersant Chemtec 307) on Murban light crude-oil biodegradation by microorganisms isolated from petroleum-contaminated sand from Hua-Hin beach, Prachuabkhirikhan province and Pattaya beach, Chonburi province, Gulf of Thailand. It was found that bacterial isolate HU2 from Hua-Hin beach sand had the highest activity of crude-oil degradation. On the taxonomic indentification by 16S rDNA sequncce analysis, isolate HU2 has 99.3% homology with the bacterium in the genus *Brevundimonas* and was therefore designated as *Brevundimonas* sp. strain HU2. Morphological and biochemical studies revealed a thin- bended and short rod-shaped organism, Gram negative, non-motility, 10% halotolerance, and non-biosurfactant - producer. This strain is able to utilize long straight chain *n*-alkane and various petroleum products, but failed to degrade polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and surfactants. Investigation of crude-oil biodegradation by the present strain was performed in BH broth supplemented with 1 % crude-oil and both sterile seawater and marine sand, pH 7.5 at 200 rpm agitation, 30°C, while bacterial growth was determined by viable plate count and residual oil were analysed by FTIR and GC-FID. After 8 days of biodegradation, the starting oil content was decreased down to 10.41 %, while that of abiotic degradation was found to be 77.83 %. Enhancement of biodegradation by the addition of 4 surfactants at a concentration equivalent to activity of oil displacement 78.6 cm<sup>2</sup> and above their respective CMCs, rhamnolipid, surfactin, and Chemtec 307 enhanced the bacterial populations and completely oil degraded within 2 days, triton X -100 on the other hand achieved in 3 days. Augmentation of biosurfactant-producers (*P.aeruginosa* strain A41 and *B.subtilis* strain BBK1) also took 3 days to achieved the same result. As of abiotic control with surfactants addition after 4 days a 53.39-61.39 % of oil still. In addition, if surfactants were added at a concentration equal to or below the CMC (and at 0.01% concentration), an even slower rate of degradation was observed. It is also observed the present of nutrients in seawater and cultivation medium gave positive effects toward crude-oil biodegradation.

A, B, C, D