บทคัดย่อ

ชื่อโครงงานวิจัย การแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว

Isolation and Screening of Waste Lubricating Oil-Degrading Microorganisms

ชื่อผู้วิจัย วิชุดา กล้าเวช

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยสลายสารไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม โดยทำการเก็บตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนสารไฮโดรคาร์บอน จำพวกน้ำมันดิบ (Crude oil) และน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว (Waste lubricating oil, WLO) ในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง ได้แก่จังหวัดนครศรีธรรมราช พัทลุง และสงขลา พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 56 ไอโซเลทที่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหาร MSM ที่เติมน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วร้อยละ 1 เป็นแหล่งคาร์บอนได้ โดยเป็นเชื้อแบคทีเรีย 38 ไอโซเลท และเป็นเชื้อยีสต์ 18 ไอโซเลท นอกจากนี้ยังพบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ 6 ไอโซเลทซึ่งสามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วได้มากกว่าร้อยละ 50 โดยแบคทีเรียไอโซเลทที่มีความสามารถในการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ได้ 5 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท WK1 WK2 WK3 WK4 และWK5 และเชื้อยีสต์ 1 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท WK6 แล้วนำจุลินทรีย์ทั้ง 6 ไอโซเลทไปจำแนกโดยการหาลำดับดีเอนเอ ผลของลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็งพบว่า เชื้อที่แยกได้มีลักษณะโคโลนีรูปร่างค่อนข้างกลม สีขาวขุ่น เป็นมันวาว มีทั้งขอบโคโลนีแบบเรียบ หยัก และแบบกระสวย เมื่อนำมาย้อมสีแกรมแล้วดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ทั้ง 4 ไอโซเลท ได้แก่ WK1 เป็นแบคทีเรียท่อนยาว ติดสีแกรมบวก WK2 เป็นแบคทีเรียท่อนยาว ติดสีแกรมบวก WK3 เป็นแบคทีเรียท่อนสั้น ติดสีแกรมบวก สร้างสปอร์ และ WK4 เป็นแบคทีเรียท่อนสั้น ติดสีแกรมบวก สร้างสปอร์ และอีก 1 ไอโซเลท คือ WK5 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ นอกจากนั้นลักษณะโคโลนีของเชื้อยีสต์ WK6 บนอาหารแข็ง YM เป็นยีสต์รูปร่างไข่ มีการแบ่งเซลล์แบบแตกหน่อ ซึ่งจากการพิสูจน์เอกลักษณ์ยืนยันทางอณูโมเลกุล ด้วย 16S rDNA พบว่า WK1 คือ *Bacillus cereus* WK2 คือ *Bacillus altitudinis* WK3 คือ *Bacillus amyloliquefaciens*,WK4 คือ *Bacillus subtilis* WK5 คือ *Serratia* sp. และการพิสูจน์เอกลักษณ์ยืนยันทางอณูโมเลกุล ด้วย 26S rDNA WK6 คือ *Issatchenkia orientalis* นอกจากนั้นยังได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วโดยเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่แยกได้จากตัวอย่างดินที่มีการปนเปื้อนของ

น้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี weight loss ผลการทดลองพบว่าในอาหาร BSM ที่เติม WLO ร้อยละ 10 เป็นแหล่งคาร์บอน และแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน ปรับพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และความเร็วรอบในการเขย่าเท่ากับ 150 รอบต่อนาที จากนั้นวัดค่าการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่คัดเลือกได้ พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ผสมเจริญได้ดีที่สุดในช่วงเวลา 48 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังส่งผลต่อประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว กล่าวคือ เชื้อจุลินทรีย์ผสมสามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วมีประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงสุดที่เวลา 48 ชั่วโมง โดยมีค่า weight loss เท่ากับร้อยละ 52.60 อีกทั้งเมื่อนำส่วนใสที่ได้จากปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนของเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่คัดเลือกได้ซึ่งเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสม มาทดสอบคุณสมบัติของการเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant) โดยทดสอบสมบัติของการเป็นสารลดแรงผิวด้วยวิธี Oil Displacement Area test (ODA) พบว่า ที่เวลา 48 ชั่วโมง เชื้อจุลินทรีย์ผสมมีการผลิตสารลดแรงผิวชีวภาพ เพราะสามารถทำให้น้ำมันดิบชนิด Weathered crude oil เกิดการกระจายน้ำมันมีพื้นที่ 11 ตารางเซนติเมตร ในขณะที่ผลการทดสอบคุณสมบัติการเป็นสารอิมัลซิไฟด์เออร์ชีวภาพ (Bioemulsifier) ต่อน้ำมัน 4 ชนิด ได้แก่ น้ำมันก๊าด (kerosene) น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม และน้ำมันรำข้าว พบว่า ที่เวลา 48 ชั่วโมง เชื้อจุลินทรีย์ผสมมีความสามารถในการสร้างสารอิมัลซิไฟเออร์ชีวภาพกับน้ำมันรำข้าวได้ดีที่สุด กล่าวได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ผสมนี้ไม่เพียงแต่จะสามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว แต่ยังผลิตสารลดแรงตึงชีวภาพได้อีกด้วย เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่คัดเลือกได้มาประยุกต์ใช้ในชุดการทดลองที่ 1 คือดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเติมน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วร้อยละ 10 จากนั้นเติมกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วได้มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นจากวันเริ่มต้น ในขณะที่ชุดการทดลองที่ 2 คือดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเติมน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วร้อยละ 10 แต่ไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่คัดเลือกได้ เกิดการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วน้อยมาก ส่วนชุดการทดลองที่ 3 และ 4 ใช้ดินที่ไม่มีการฆ่าเชื้อ จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วลดลงอย่างมาก นอกจากนี้ผลการประยุกต์ใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสมที่คัดเลือกได้ในการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วในดินทั้ง 4 ชุดการทดลอง ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี weight loss ผลการทดลองพบว่า ชุดการทดลองที่ 1 ให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงที่สุด คือร้อยละ 48.67 รองลงมาได้แก่ชุดทดลองที่ 4 ซึ่งใช้ดินไม่ฆ่าเชื้อแล้วเติม เชื้อจุลินทรีย์ผสมที่คัดเลือกได้ ให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงที่สุดร้อยละ 41.33 ในขณะที่ชุดควบคุม คือชุดการทดลองที่ 2 สามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วได้เท่ากับร้อยละ 16.50 จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าสามารถนำเชื้อจุลินทรีย์ผสมที่คัดแยกได้จากบริเวณที่มีการปนเปื้อนสารไฮโดรคาร์บอนมาประยุกต์ใช้ในการจัดการสารปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้อย่างมีประสิทธิภาพและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม