

เก็บตัวอย่างดินที่ปนเปื้อนน้ำมันจากบริเวณอู่ซ่อมรถและปั้มน้ำมันในจังหวัดนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานีและสงขลา ทำการแยกกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่น เครื่องยนต์ที่ใช้แล้ว (ULO) ด้วยวิธี enrichment culture โดยนำตัวอย่างดิน 1 กรัม เติมนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ mineral salt medium ที่มีน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วร้อยละ 1 เป็นแหล่งคาร์บอนและตรวจสอบ กิจกรรมการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วโดยวิธี weight loss พบว่ากลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ที่มี ประสิทธิภาพการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วสูงสุดคือ กลุ่มเชื้อ SC-9 มีประสิทธิภาพการ ย่อยสลายร้อยละ 40.46 ภายในเวลา 5 วันของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ ใช้แล้วเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 1 เป็นร้อยละ 10 พบว่าประสิทธิภาพการย่อยสลายลดลงจากร้อยละ 40.46 เป็น ร้อยละ 15.05 เมื่อนำกลุ่มเชื้อ SC-9 มาแยกเชื้อให้เป็นเชื้อเดี่ยว พบว่าสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ 4 ไอโซ เลต เป็นแกรมบวก มีรูปร่างแบบแท่ง 2 ไอโซเลต และอีก 2 ไอโซเลต เป็นแกรมลบ มีรูปร่างกลมและ รูปร่างแบบแท่ง เมื่อศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมโดยการวิเคราะห์ลำดับเบสในบริเวณ 16S rDNA สามารถ จำแนกเป็นเชื้อ *Chryseobacterium* sp. (A), *Sphingobacterium multivorum* (B), *Bacillus cereus* (C) และ *Agrobacterium tumefaciens* (D) ผลของการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วในอาหาร Mineral Salt Medium (MSM) จุลินทรีย์ผสมระหว่าง 2, 3 และ 4 สายพันธุ์ และกลุ่มเชื้อ SC9 เปรียบเทียบกับชุด ควบคุมที่ไม่มีการเติมเชื้อ หลังจากทำการทดลอง 7 วัน พบว่า กลุ่มเชื้อ SC9 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย น้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วสูงกว่าเชื้อเดี่ยว และเชื้อผสม ซึ่งสามารถย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่น เครื่องยนต์ที่ใช้แล้วได้ 44.5% และเมื่อศึกษาปัจจัยของปริมาณดิน ปริมาณเชื้อเริ่มต้น ค่าพีเอชเริ่มต้นของดิน ใน soil slurry และแหล่งสารอาหารที่มีผลต่อการย่อยสลายน้ำมันหล่อลื่นเครื่องยนต์ที่ใช้แล้วโดยกลุ่มเชื้อ SC9 ใน soil slurry หลังจากทำการทดลอง 7 วัน พบว่า ชุดการทดลองที่มีการเติมกลุ่มเชื้อ SC9 ในอาหาร MSM มีค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 8.0 ที่เติมดิน 10% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เชื้อเริ่มต้น 15% (ปริมาตรต่อ ปริมาตร) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 4 กรัมต่อลิตร K_2HPO_4 1.8 กรัมต่อลิตร และ KH_2PO_4 0.6 กรัมต่อลิตร สามารถย่อย สลาย ULO ได้ 61.2%

Consortium of used lubricating oil (ULO) degrading microorganisms were isolated from oil contaminated soil collected from garages and petrol stations in Nakhonsithammarat, Songkhla and Suratthani Provinces. An enrichment culture technique was used for the isolation of microorganisms responsible for the biodegradation of used lubricating oil. One gram of soil sample was added into mineral salt medium containing 1% used lubricating oil as sole carbon source. Used lubricating oil degradation activity was measured by weight loss method. The most active consortium in the assimilation of used lubricating oil was SC-9. The SC-9 consortium showed 40.46% oil degrading activity within 5 days. The oil concentration had affected the degradation of the SC-9 consortium. The degrading activity was decreased from 40.46% to 15.05% when used lubricating oil was increased from 1% to 10%. The SC-9 consortium contained four bacterial isolates, two isolates were Gram-positive, rod shape and the other was Gram-negative, cocci and rod shape. Determination of the nucleotide sequence of the gene encoding 16S rDNA of the four bacterial strains was identified as *Chryseobacterium* sp., *Bacillus cereus*, *Sphingobacterium multivorum* and *Agrobacterium tumefaciens*. This study was conducted to evaluate the biodegradability of ULO in Mineral Salt Medium (MSM) using a pure and mixed bacterial culture and SC9 consortium of bacterial culture isolated from oil contaminated soil. Four bacterial strains including *Chryseobacterium* sp., *Sphingobacterium multivorum*, *Bacillus cereus* and *Agrobacterium tumefaciens* were used as inoculum for ULO degradation in MSM medium in comparison with their mixtures and SC9 consortium. After 7 days of incubation, SC9 consortium was the most effective starter as evidenced by 44.5% degradation of ULO. Factors affecting ULO degradation by SC9 consortium in soil slurry including soil concentration, inoculum size, initial pH of soil slurry and nutrients source as well as with and without sterilization were studied. Maximal degradation rate of ULO (61.2%) was obtained when SC9 consortium was incubated in MSM medium at initial pH 8.0 supplemented with 10% (w/v) soil concentration, 15% (v/v) inoculum size, 40 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1.8 g/L K_2HPO_4 and 0.6 g/L KH_2PO_4 for 7 days.